

Rozprawa doktorska

***Analiza przydatności oznaczania kalprotektyny
w stolcu w ocenie aktywności choroby
Leśniowskiego-Crohna w zależności od
lokalizacji zmian chorobowych***

Lek. Kamila Stawczyk-Eder

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Linke

Katedra i Klinika Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu



Poznań, 2013

PODZIĘKOWANIA

Panu Prof. dr hab. n. med. Krzysztofowi Linke

Promotorowi, Kierownikowi Katedry i Kliniki Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu za pomoc merytoryczną, wsparcie i życzliwość.

Spis treści

Wykaz użytych skrótów.....	4
1. Wstęp.....	6
1.1. Charakterystyka kliniczna choroby Leśniowskiego-Crohna (ChLC).....	6
1.2. Diagnostyka i ocena aktywności ChLC.....	11
1.3. Kopromarkery.....	16
2. Założenia i cele pracy.....	21
3. Materiał i metody.....	23
4. Wyniki.....	34
I. Charakterystyka całej grupy badanej.....	34
II. Charakterystyka chorych z ChLC z izolowaną lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim.....	41
III. Charakterystyka chorych z ChLC z izolowaną lokalizacją zmian zapalnych w jelicie grubym.....	46
IV. Charakterystyka chorych z ChLC z lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim i grubym.....	50
V. Porównanie wybranych parametrów oceniających aktywność ChLC w zależności od lokalizacji zmian chorobowych.....	56
VI. Porównanie stężeń kalprotektyny w stolcu w poszczególnych podgrupach chorych w zależności od aktywności klinicznej ChLC.....	57
5. Dyskusja.....	59
6. Wnioski.....	79
7. Streszczenie.....	81
8. Summary.....	84

Wykaz użytych skrótów

- CDAI – ang. *Crohn's Disease Activity Index*, indeks aktywności klinicznej choroby Leśniowskiego-Crohna
- CDEIS – ang. *Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity*, endoskopowy indeks oceny nasilenia aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna
- ChLC - Choroba Leśniowskiego-Crohna
- CI – ang. *confidence interval*, przedział ufności
- CT – ang. *Computed Tomography*, tomografia komputerowa
- CRP - ang. *C-reactive protein*, białko C-reaktywne
- EAEC – enteroadherentne szczepy *Escherichia coli*
- ECCO – ang. *European Crohn's and Colitis Organisation*, europejska organizacja choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego
- ECT – enterografia CT
- EMR – enterografia rezonansu magnetycznego
- FLASH – ang. *Fast Low Angle Shot*
- GCDA – ang. *Global Crohn's Disease Activity*, całkowita aktywność choroby Leśniowskiego-Crohna
- HASTE – ang. *single shot turbo spin echo*
- IBS – ang. *Irritable Bowel Syndrome*, zespół jelita nadwrażliwego
- IBD – ang. *Inflammatory Bowel Diseases*, nieswoiste choroby zapalne jelit

- IL – Interleukina
- MR – ang. *Magnetic Resonance*, rezonans magnetyczny
- NChZJ – Nieswoiste Choroby Zapalne Jelit
- OB – Odczyn Biernackiego
- SD – ang. *standard deviation*, odchylenie standardowe
- SEAS-CD – ang. *Simple Enterographic Activity Score for Crohn's Disease*, prosty indeks oceniający aktywność choroby Leśniowskiego-Crohna w enterografii MR
- SES-CD – ang. *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease*, prosty indeks oceny aktywności endoskopowej choroby Leśniowskiego-Crohna
- TNF- α – ang. *Tumor Necrosis Factor Alpha*, czynnik martwicy nowotworów alfa
- TrueFISP – ang. *True Fast Imaging with Steady-state free Precession*
- VIBE – ang. *Volumetric Interpolated Breath Hold Examination*
- WZJG - Wrzodziejące Zapalenie Jelita Grubego

1. Wstęp

1.1. Charakterystyka kliniczna choroby Leśniowskiego-Crohna

Choroba Leśniowskiego-Crohna (ChLC), zaliczana obok wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG) oraz nieokreślonego zapalenia okrężnicy do grupy nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ), należy do jednostek chorobowych o dość krótkiej historii w medycynie. Większym zainteresowaniem środowiska lekarskiego cieszy się to schorzenie od czasów publikacji w 1932 roku pracy Burrilla Bernarda Crohna, Leona Ginzburga oraz Gordona Oppenheimera pod tytułem: „*Regional ileitis: a pathologic and chronic entity*”. Pamiętać należy o wkładzie polskiej nauki w odkrycie tej choroby, a mianowicie o przedstawieniu w 1904 roku na posiedzeniu Warszawskiego Towarzystwa Lekarskiego przypadku pacjentki z zapaleniem końcowego odcinka jelita cienkiego z wytworzeniem guza zapalnego i przetoką do wstępnicy przez chirurga Antoniego Leśniowskiego. Dlatego też w polskiej nomenklaturze medycznej, w odróżnieniu do światowej, używamy nazwy choroba Leśniowskiego-Crohna [1].

Dla przebiegu choroby charakterystyczne jest występowanie okresów zaostrzeń i remisji, czas ich trwania oraz nasilenie dolegliwości są bardzo indywidualne. Najczęściej chorują osoby między 16 a 40 rokiem życia. Częstość występowania ChLC w Europie szacuje się na około 8 – 214/100000, natomiast w Ameryce Północnej - 44 – 201/100000 ludności [2-4]. Jeśli chodzi o polską populację, aktualnie w Krajowym Rejestrze Choroby Leśniowskiego-Crohna zarejestrowanych jest około 5500 chorych, natomiast szacunki epidemiologiczne przewidują, iż w Polsce jest ponad 15000 osób z ChLC [5]. Schorzenie to występuje głównie w regionach zurbanizowanych i dotyczy przede wszystkim osób ze średnim lub

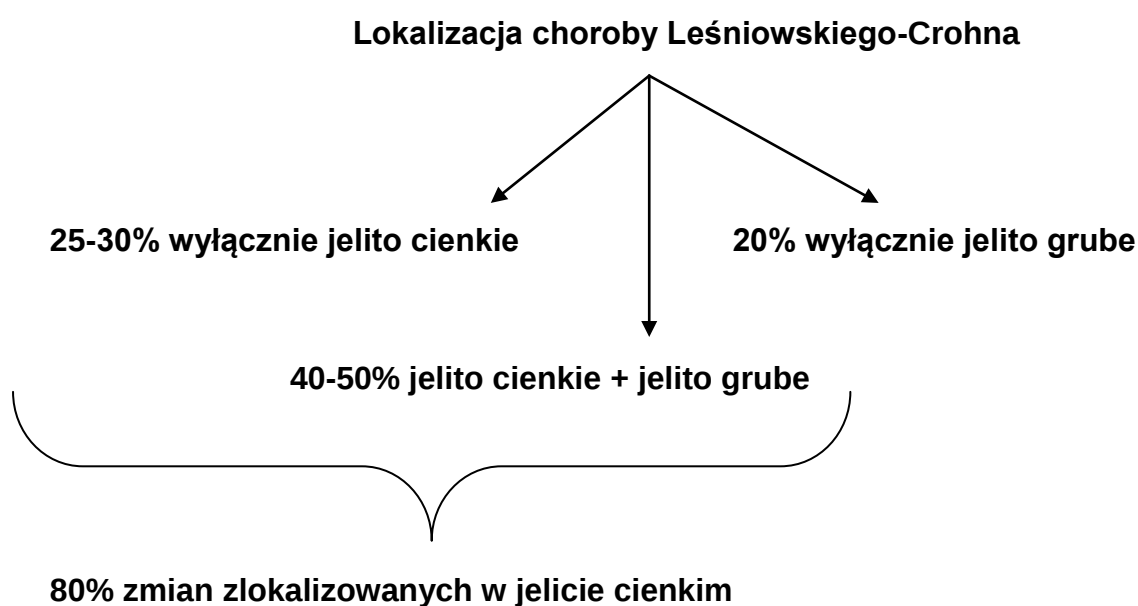
wyższym wykształceniem. Częstość występowania ChLC jest zbliżona u kobiet i mężczyzn. Większość danych literaturowych wskazuje także, że częstość ta rośnie na przestrzeni ostatnich dekad [6,7].

Etiologia ChLC jest nieznana. Uważa się aktualnie, że u podstaw przewlekłego procesu zapalnego w ścianie przewodu pokarmowego leży nadmierna odpowiedź układu immunologicznego na dany bodziec antygenowy u osób predysponowanych genetycznie. Przyjmuje się, że bodźcem tym mogą być komórki bakteryjne bytujące w świetle przewodu pokarmowego takie, jak na przykład enteroadherentne szczepy *Escherichia coli* (EAEC). Spośród zaburzeń immunologicznych wskazuje się natomiast, między innymi, na patogenną rolę limfocytów CD4 Th1 i Th17, a także na zaburzenia eliminacji komórek nacieku zapalnego na drodze apoptozy oraz nieprawidłowości w procesach autofagii komórek nieswoistej odpowiedzi zapalnej. Należy jednak podkreślić, że szczegóły tych zjawisk są nadal w fazie badań.

ChLC może obejmować cały przewód pokarmowy począwszy od jamy ustnej do odbytu oraz prezentować wiele manifestacji pozajelitowych. Jest to choroba przewlekła, aktualnie nieuleczalna. Istotą choroby jest proces zapalny obejmujący wszystkie warstwy ściany przewodu pokarmowego z obecnością ziarniniaków nieserowaciejących, który może występować odcinkowo we wszystkich jego fragmentach (Ryc. 1). W większości przypadków (~ 80%) zajęte jest jelito cienkie - najczęściej dystalny odcinek jelita krętego, gdzie zmiany stwierdza się u około 40-50% chorych. Zmiany ograniczone tylko do jelita cienkiego dotyczą 25-30% pacjentów. Obecność zmian zarówno w jelicie cienkim, jak i grubym wykazuje 40-50% chorych. U co piątego (20%) pacjenta zmiany chorobowe dotyczą wyłącznie jelita grubego. Zajęcie przełyku, żołądka, dwunastnicy lub jelita czczego jest rzadkie

i dotyczy 0,5-13% chorych. Powszechnym następstwem toczących się procesów zapalenia oraz włóknienia są charakterystyczne powikłania pojawiające się u części pacjentów w postaci przetok, ropni i zwężeń. U 35-45% pacjentów obserwujemy występowanie zmian w okolicy odbytu o charakterze szczelin, przetok i ropni [7].

Ryc.1. Najczęstsze lokalizacje zmian chorobowych w ChLC.



W obrazie klinicznym choroby najczęściej wymienia się: bóle brzucha typowo lokalizujące się w prawym dole biodrowym oraz biegunki o charakterze wodnistym, rzadko z obecnością krwi świeżej. Niestety początek choroby zwykle bywa podstępny z mało specyficznymi objawami, co często powoduje opóźnienie w postawieniu właściwej diagnozy. U części chorych pierwszy epizod choroby przebiega pod maską zapalenia wyrostka robaczkowego. Pacjenci prezentują całe spektrum objawów mało specyficznych takich, jak: osłabienie, spadek masy ciała, stany podgorączkowe. Na charakter prezentowanych przez pacjentów objawów istotny wpływ ma lokalizacja i

rozległość zmian zapalnych oraz postać kliniczna choroby [7]. Kolejnym ważnym aspektem symptomatologii ChLC są tak zwane manifestacje pozajelitowe. Mogą one wyprzedzać wystąpienie typowych objawów jelitowych lub towarzyszyć zarówno okresom remisji, jak i zaostrzeń. Do najczęściej obserwowanych należą objawy stawowe, zmiany skórne oraz oczne [10].

W związku z tak zróżnicowanym obrazem ChLC istniała potrzeba stworzenia systemu definiującego postać choroby, co zaowocowało, po kilku próbach (klasyfikacja z Rzymu z 1991, klasyfikacja wiedeńska z 1998), powstaniem w 2005 roku klasyfikacji montrealskiej. Uwzględnia ona takie czynniki, jak: wiek w momencie postawienia diagnozy, lokalizację choroby oraz przebieg kliniczny (Tabela 1) [11,12].

Tabela 1. Klasyfikacja montrealaska ChLC

Czynnik	Klasyfikacja montrealaska
Wiek w momencie postawienia diagnozy	A1≤16 roku życia A2 17-40 rok życia A3> 40 roku życia
Lokalizacja	L1- końcowy odcinek jelita krętego L2-okrężnica L3- końcowy odcinek jelita krętego i okrężnica L4- górny odcinek przewodu pokarmowego
Przebieg kliniczny	B1- postać zapalna B2-postać zwężająca B3-postać drążąca p-zmiany okołodbytowe

ChLC jest chorobą przewlekłą o nieprzewidywalnym przebiegu i często poważnym rokowaniu. Nie dysponujemy aktualnie leczeniem przyczynowym, a stosowane terapie mają na celu uzyskanie jak najdłuższego okresu remisji. Ponad 50% chorych w pierwszych 10 latach od rozpoznania wymaga interwencji chirurgicznej, a wyniki leczenia operacyjnego nie są w pełni zadowalające [7]. Wraz z dostępem do nowoczesnych terapii biologicznych jakość leczenia poprawia się, a podstawowym celem terapeutycznym w świetle aktualnej wiedzy stała się remisja kliniczna potwierdzona endoskopowo (osiągnięcie gojenia śluzówkowego, ang. mucosal healing) [13].

Do podstawowych preparatów farmakologicznych, stosowanych w leczeniu ChLC należą związki kwasu 5-aminosalicylowego, jednak ich skuteczność oraz siła działania są aktualnie podważane, zwłaszcza u chorych z lokalizacją zmian w jelicie cienkim. W okresie zaostrzeń dobre efekty terapeutyczne uzyskuje się po zastosowaniu glikokortykosteroidów, jednakże dłużej stosowane niosą ze sobą ryzyko licznych działań ubocznych. W okresie wysokiej aktywności choroby, szczególnie powikłanej przetokami i zmianami okołodbytowymi, wykorzystuje się antybiotykoterapię zazwyczaj z użyciem ciprofloksacyny oraz metronidazolu [14]. W przypadku nieskuteczności standardowej terapii coraz częściej i odważniej wprowadza się do leczenia leki immunomodulujące, do których należą: azatiopryna oraz jej metabolit 6-merkaptopuryna, metotreksat, mykofenolan mofetylu [15]. Przełomem w leczeniu NChZJ było wprowadzenie w 1998 leków biologicznych. Pierwszym zastosowanym preparatem był infliksymab – chimeryczne monoklonalne przeciwciało przeciwko czynnikowi martwicy nowotworów alfa (ang. tumor necrosis factor alpha - TNF- α). Aktualnie na świecie stosuje się, poza infliksymabem,

adalimumab oraz certolizumab. Podstawowym wskazaniem do stosowania tej grupy leków w ChLC jest brak skuteczności standardowego leczenia, w tym terapii immunosupresyjnej [16,17].

W niektórych przypadkach konieczne jest podjęcie leczenia operacyjnego. Dotyczy ono głównie chorych niereagujących na leczenie farmakologiczne lub chorych, u których kontynuacja farmakoterapii jest niemożliwa z uwagi na jej działania niepożądane. Wskazaniami do leczenia chirurgicznego są także ropnie, zwężenia powodujące niedrożność przewodu pokarmowego. W przeciwieństwie do WZJG, w ChLC preferowane są operacje jak najbardziej oszczędzające (głównie odcinkowe resekcje zmienionych chorobowo pętli jelit) [18].

1.2. Diagnostyka i ocena aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna

Aktualnie nie dysponujemy jednym prostym badaniem diagnostycznym, które umożliwiłoby rozpoznanie, ocenę aktywności i zasięg zmian chorobowych oraz odpowiedź na leczenie ChLC. Diagnoza najczęściej stawiana jest na podstawie kompilacji objawów klinicznych, parametrów biochemicznych, badań obrazowych oraz endoskopowych. Potwierdzenie histopatologiczne choroby często możliwe jest dopiero po uzyskaniu materiału operacyjnego, w którym mamy możliwość oceny wszystkich warstw ściany przewodu pokarmowego. Okres od pojawienia się pierwszych symptomów ChLC do momentu postawienia rozpoznania bywa nawet kilkuletni[19].

Skale klinicznej aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna

Najczęściej używanym narzędziem do oceny aktywności ChLC, uznawanym za „złoty standard”, jest stworzony w latach 70-tych przez Besta i współpracowników wskaźnik aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna (ang. Crohn's Disease Activity Index - CDAI). Obejmuje on 8 zmiennych - zarówno obiektywnych i subiektywnych takich, jak: liczba luźnych stolców, bóle brzucha, samopoczucie pacjenta, objawy pozajelitowe i powikłania, stosowanie leków przeciwbiegunkowych, obecność badalnego guza w prawym dole biodrowym, hematokryt, masa ciała. Część parametrów jest oceniana na podstawie 7-dniowej obserwacji pacjenta. Zakres punktacji mieści się między 0-600 punktów i, w zależności od uzyskanego wyniku, aktywność możemy określić jako: stan remisji, małą, średnią lub dużą aktywność [7,20]. Wadami tej metody są różnice w ocenie w zależności od osoby oceniającej, ponieważ, jak wspomniano powyżej, część parametrów ma charakter wysoce subiektywny (np. samopoczucie chorego). Nie jest to także dobra metoda do oceny aktywności ChLC u pacjentów z zaawansowanymi przetokami oraz u chorych z ileo- lub kolostomią [21]. Inną, dobrze korelującą z CDAI skalą, jest skala Harveya i Bradshawa, będąca jej uproszczoną wersją. Uwzględnia ona 5 parametrów z dnia poprzedzającego wizytę u lekarza: ogólne samopoczucie, bóle brzucha, luźne stolce, guz zapalny w badaniu jamy brzusznej i powikłania pozajelitowe [22]. Używana jest jednak mniej powszechnie niż CDAI.

Badania laboratoryjne

Badania laboratoryjne są często i chętnie wykorzystywane w diagnostyce ChLC, jednak ich dużym mankamentem jest to, że nie ma badania specyficznego dla tego schorzenia. Jako że istotą choroby jest proces zapalny, najczęściej wykorzystuje się

tzw. wskaźniki stanu zapalnego, do których należą przede wszystkim białko C-reaktywne (ang. C-reactive protein - CRP) i odczyn Biernackiego (OB). Oba te parametry dobrze korelują z aktywnością choroby, wykazują jednak niską specyficzność diagnostyczną. Na wartości tych parametrów mogą wpływać różne inne procesy zapalne, toczące się niezależnie od choroby podstawowej, co może dawać wyniki fałszywie dodatnie. Innymi często obserwowanymi nieprawidłowościami w badaniach biochemicznych są zmiany w morfologii krwi obwodowej (różnego stopnia niedokrwistość, wzrost leukocytozy i nadpłytkowość) oraz zmiany w stężeniach białek ostrej fazy innych, niż CRP (np. wzrost stężenia fibrynogenu, spadek stężenia albuminy itp.) [23,24].

Ważną rolę w patogenezie NChZJ odgrywają cytokiny, pełniące rolę koordynatorów stanu zapalnego. Prowadzone są liczne badania nad wykorzystaniem ich oznaczeń w diagnostyce i monitorowaniu chorych z ChLC. Szczególne znaczenie mogą mieć zarówno cytokiny prozapalne, jak interleukina-1-beta (IL-1-beta), IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , jak i przeciwzapalne cytokiny - IL-4 czy IL-10 [24,25]. Jednak na dotychczasowym etapie wiedzy są one wykorzystywane głównie w ramach badań naukowych.

Endoskopia

Pomimo braku tzw. „złotego standardu” w diagnostyce ChLC, badania endoskopowe są aktualnie metodą pierwszego wyboru w rozpoznawaniu tej choroby. Mają one charakter inwazyjny i umożliwiają nie tylko ocenę jelita grubego oraz końcowego odcinka jelita krętego, ale także pobranie materiału do badania histopatologicznego. Dają możliwość wykonania procedur terapeutycznych, jak na przykład poszerzanie zwężeń. Najbardziej typowe nieprawidłowości, jakie możemy zaobserwować w

obrazie endoskopowym w przebiegu ChLC to owrzodzenia o różnej wielkości z tendencją do ich podłużnego układania się (linijne owrzodzenia), brukowanie błony śluzowej, zmiany aftowate. Zmiany mogą występować w sposób nieciągły, bezpośrednio sąsiadując z prawidłowo wyglądającą błoną śluzową [23,26]. Niezwykle ważnym aspektem jest kwestia kwantyfikacji obrazu endoskopowego. Pozwala ona na obiektywizację oceny aktywności endoskopowej ChLC oraz na dynamiczną ocenę wpływu poszczególnych terapii na wygląd błony śluzowej. Z doświadczeń ze stosowaniem leków biologicznych wynika obserwacja, że to właśnie wykazanie endoskopowego gojenia się błony śluzowej jest najważniejszym czynnikiem rokowniczym w obserwacji długoterminowej i wiąże się z dłuższym czasem trwania remisji klinicznych, mniejszym odsetkiem hospitalizacji oraz rzadszą koniecznością podejmowania leczenia chirurgicznego [27].

Spośród skonstruowanych skal służących ocenie endoskopowej aktywności ChLC, powszechnie uznaną za najlepszą jest stworzona w 1989 roku skala CDEIS (ang. Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity) [28]. W skali tej podzielono jelito na 5 segmentów: odbytnicę, esicę i zstępicę, poprzecznicę, wstępicę i kątnicę, jelito kręte. Punkty są przyznawane dla każdego odcinka osobno w zależności od obecności głębokich i powierzchownych owrzodzeń i powierzchni zajętej chorobowo. Dodatkowe punkty przyznawane są za obecność zwężeń. Rozpiętość punktacji wynosi od 0 do 44 punktów [11]. Ze względu na bardzo czasochłonne obliczenia, jakich wymaga skala CDEIS, stworzono w 2002 roku uproszczoną skalę endoskopowej oceny w ChLC - SES-CD (ang. Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease) [29]. W tej metodzie jelito również podzielono na 5 segmentów, oceniane są podobne parametry, jednak obliczenia są łatwiejsze i szybsze, niż w przypadku

CDEIS. Skala SES-CD charakteryzuje się silną korelacją ze skalą CDEIS, dlatego też uważa się, że jej przydatność diagnostyczna jest do niej przybliżona.

Badania obrazowe

Przez długi czas metody radiologiczne w zakresie diagnostyki ChLC pełniły rolę drugoplanową. Wraz z rozwojem nowoczesnych technik takich, jak tomografia komputerowa (ang. computer tomography - CT) oraz rezonans magnetyczny (ang. magnetic resonance - MR), ich znaczenie znacznie wzrosło [30,31]. Do klasyki radiologicznej, aktualnie rzadko stosowanej, należy pasaż przewodu pokarmowego. Badanie to cechuje się niską czułością w zakresie detekcji zmian zapalnych w jelicie cienkim u chorych na wczesnym etapie ChLC. Przeglądowe zdjęcie jamy brzusznej ma zastosowanie głównie w przypadkach pacjentów z podejrzeniem perforacji przewodu pokarmowego lub niedrożności, a także przy podejrzeniu toksycznego rozdęcia okrężnicy. Całkiem nowe możliwości obrazowania przewodu pokarmowego oraz zmian w tkankach sąsiadujących dało wykorzystanie CT i MR z zastosowaniem tzw. opcji jelitowych. Rozróżniamy dwa rodzaje badań, zależnie od sposobu podania kontrastu oraz środka umożliwiającego rozdęcie pętli jelitowych – enterografię i enteroklyzę. W przypadku enterografii wymienione wyżej preparaty podawane są doustnie, u chorych poddawanych enteroklyzie zakładany jest w tym celu zgłębnik do jelita czczego. Całkowicie nieinwazyjny charakter badania powoduje, że enterografia jest metodą preferowaną. Jeśli natomiast chodzi o samą technikę obrazowania, MR wydaje się być lepszą metodą w przypadku pacjentów z ChLC ze względu na brak narażenia na promieniowanie jonizujące. Ma to znaczenie szczególnie dla młodych chorych z perspektywą wielokrotnej potrzeby oceny zmian zapalnych w przebiegu choroby. Do innych zalet tego badania należy lepsza rozdzielczość tkankowa w

porównaniu do CT. Niezależnie od rodzaju badania, zarówno enterografia i enteroklyza CT (ECT) lub MR (EMR) umożliwiają ocenę dotychczas mało dostępnego innymi metodami nieinwazyjnymi obszaru jelita cienkiego oraz tkanek okolicznych - szczególnie krezki jelita i węzłów chłonnych jamy brzusznej. Możemy również oceniać powikłania ChLC w postaci zwężeń, przetok zarówno międzypętlowych, jak i skórnych oraz ropni [31,32].

1.3. Kopromarkery

Nowym kierunkiem w poszukiwaniu metod diagnostycznych ChLC są oznaczenia specyficznych białek występujących w stolcu. Istotną zaletą jest łatwość pozyskania materiału do badań. Istnieją trzy grupy markerów oznaczanych w kale celem oceny nasilenia stanu zapalnego jelit: endogenne białka osocza znakowane radioizotopami, białka pochodzenia osoczkowego oraz białka wydzielane przez granulocyty. „Złotym standardem” są metody radioizotopowe, jednak są to procedury bardzo pracochłonne i kosztowne. Wymagają co najmniej 4-dniowej zbiórki stolca oraz narażają pacjenta na promieniowanie jonizujące. Przez to nie nadają się do powszechnego użytku w praktyce klinicznej. Białka pochodzenia osoczkowego oznaczane w stolcu to najczęściej α -1-antytrypsyna i α -2-makroglobulina, które nie ulegają wewnątrzjelitowemu trawieniu. Ich oznaczenie jest znacznie mniej kosztowne, jednak określają one głównie ilość białka osocza przenikającego do światła jelita w wyniku zapalenia. Grupą białek, z którymi wiąże się duże nadzieje co do ułatwienia diagnostyki i oceny aktywności choroby, są białka wydzielane przez neutrofile.[25]

Patomechanizm zapalenia jest ściśle związany ze wzmożonym naciekiem aktywowanych granulocytów w jelicie. Potwierdzają to badania z wykorzystaniem granulocytów znakowanych ^{111}In dem oraz ocena histologiczna [33]. Aktualnie

prorowadzone są badania nad białkami zarówno obecnymi w cytozolu granulocytów oraz w ich ziarnistościach pierwotnych (azurofilnych) i wtórnych (specyficznych). W centrum zainteresowania są takie białka, jak laktoferyna oraz mieloperoksydaza, jednak największe nadzieje wiąże się z kalprotektyną [34,35,36].

Kalprotektyna

Kalprotektyna jest białkiem z rodziny S100 należącym do kalgranulin. Opisana została po raz pierwszy w 1980 roku, początkowo otrzymując nazwę białka leukocytarnego L1 [37]. Stanowi heterodimeryczny kompleks składający się z podjednostki S100A8 (MRP8) o masie 8 kDa oraz większej - S100A9 (MRP14) o masie cząsteczkowej 14 kDa [38]. Kerkhoff i współpracownicy wykazali, że istotną cechą kalprotektyny jest jej zdolność do wiązania zarówno jonów wapnia, jak i jonów cynku, co determinuje jej właściwości fizykochemiczne i funkcje [39]. Kalprotektyna występuje głównie w cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych, stanowiąc ok. 30-60% ich białek cytoplazmatycznych. Jej obecność w mniejszych ilościach jest również stwierdzana w monocytach i makrofagach. Do wydzielania kalprotektyny do przestrzeni zewnątrzkomórkowej dochodzi w wyniku stymulacji neutrofili lub monocytów przez cytokiny prozapalne. Jedną z najważniejszych funkcji kalprotektyny, którą zawdzięcza zdolności wiązania jonów cynku, jest działanie bakteriostatyczne. Poza tym ma także działanie przeciwgrzybicze. Udział w procesie zapalnym wiąże się także z właściwościami chemotaktycznymi wobec neutrofili, poprzez wspomaganie procesu ich adhezji do śródbłonka naczyń. Wykazuje również zdolność do indukowania apoptozy oraz może wpływać na wytwarzanie przeciwciał przez plazmocyty. Możliwość odwracalnego wiązania nienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie kwasu arachidonowego, prawdopodobnie umożliwia ich

transport z pobudzonych leukocytów do środowiska jako substratu do produkcji leukotrienów i innych mediatorów reakcji zapalnej. Wyżej wymienione właściwości wskazują na istotną rolę tego białka w kaskadzie procesów zapalnych. Jest to substancja występująca fizjologicznie w surowicy, ślinie, płynie owodniowym, a także innych płynach i wydzielinach ustrojowych w określonych stężeniach [38,40]. Monitorowanie zmian stężenia tego białka może pomóc w różnicowaniu stanów fizjologicznych i patologicznych [41]. Z perspektywy NChZJ istotne okazało się stwierdzenie podwyższonych wartości kalprotektyny w kale w przypadku procesów przebiegających z aktywacją układu odpornościowego w obrębie przewodu pokarmowego. Pierwsze badania na ten temat pochodzą z początku lat 90-tych XX wieku, jednakże badania, które stworzyły podstawy do szerszego zastosowania kalprotektyny w diagnostyce chorób zapalnych przewodu pokarmowego przeprowadzono dopiero kilka lat później [42]. W 2000 roku Tibble i współpracownicy wykazali, że ocena stężenia kalprotektyny w pojedynczej próbce stolca koreluje z wydalaniem granulocytów znakowanych ¹¹¹Indem w 4-dniowej zbiorce stolca u chorych z ChLC. Stężenie kalprotektyny w kale równe 30 mg/l charakteryzuje się 100% czułością i 97% specyficznością w różnicowaniu ChLC z zespołem jelita nadwrażliwego (ang. irritable bowel syndrome – IBS) [43]. Kolejne lata przyniosły dalsze dowody na przydatność diagnostyczną oceny obecności tego białka w stolcu u chorych z NChZJ. Sipponen i współpracownicy wykazali między innymi, że stężenie kalprotektyny w kale lepiej koreluje z aktywnością endoskopową ocenianą z wykorzystaniem CDEIS, niż CRP czy CDAI [44]. Ten sam zespół uzyskał podobne wyniki posługując się skalą SES-CD do oceny aktywności endoskopowej ChLC [45]. Z kolei Gisbert i współpracownicy wykazali, że podwyższone stężenie kalprotektyny w stolcu ma wartość prognostyczną i z dużą czułością przewiduje pojawienie się

zaostrzenia w obserwacji 3-miesięcznej u chorych z ChLC i WZJG będących w klinicznej remisji [46]. Zespół włoski pod kierownictwem Ambrogio Orlando przedstawił dane pokazujące, że ocena obecności kalprotektyny w kale może być przydatna w wykrywaniu nawrotu endoskopowego ChLC u bezobjawowych chorych w okresie po leczeniu operacyjnym [47]. Także w Polsce prowadzone są badania nad przydatnością kopromarkerów w diagnostyce NChZJ. Pierwszymi ośrodkami zajmującym się tym zagadnieniem były ośrodek poznański oraz wrocławski [40,48,49].

Ocena stężenia kalprotektyny ma także swoje ograniczenia. Jest to bowiem marker nieswoisty, wzrost jego poziomu obserwujemy poza NChZJ, również w przypadku obecności zmian nowotworowych jelita grubego, infekcjach bakteryjnych przewodu pokarmowego, a także u pacjentów stosujących przewlekle niesteroidowe leki przeciwzapalne [50,51]. W chwili obecnej wydaje się, że kopromarkery powinny znaleźć zastosowanie głównie na wczesnym etapie diagnostyki osób z objawami ze strony przewodu pokarmowego, u których należy podjąć decyzję o wykonaniu badań endoskopowych. Stwierdzenie podwyższonych stężeń kalprotektyny powinno skłaniać do wdrożenia diagnostyki inwazyjnej [52]. Drugim zasadniczym obszarem, w którym kopromarkery mogą być stosowane, jest ocena aktywności choroby u osób z już rozpoznany schorzeniem z kręgu NChZJ. W tym aspekcie pozostaje jednak pytanie, czy kopromarkery są równie przydatne u wszystkich chorych z ChLC. W dotychczasowych pracach grupy chorych z ChLC oceniane były zazwyczaj zbiorczo bez szczegółowego uwzględnienia różnych lokalizacji zmian chorobowych lub koncentrowano się na grupach pacjentów ze zmianami dostępnymi do oceny w badaniu ileokolonoskopowym [44,52,53]. Szczególnie mało wiadomo w odniesieniu

do chorych z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie cienkim. Sugeruje się obecnie, na podstawie kilku doniesień, że stężenie kalprotektyny odzwierciedla aktywność ChLC zwłaszcza u chorych ze zmianami zapalnymi w jelicie grubym [54]. Istnieją jednak także dane przeczące tym obserwacjom [55]. Konieczne są więc dalsze badania, które wskazałyby na korzyści ze stosowania kopromarkerów u pacjentów z ChLC z uwzględnieniem różnorodności postaci tej choroby. Umożliwi to optymalizację i wiarygodniejsze zastosowanie tej metody diagnostycznej w codziennej praktyce klinicznej.

2. Założenia i cele pracy

Ocena aktywności ChLC jest trudna. Stosowane indeksy oceniające aktywność choroby oraz badania biochemiczne mają wiele mankamentów. Aktualnie uważa się, że w diagnostyce ChLC tak zwany „złoty standard” powinny stanowić metody endoskopowe oraz, w przypadku zmian chorobowych zlokalizowanych w jelicie cienkim, metody obrazowe, w tym głównie enterografia MR. Badania te są jednak inwazyjne i/lub kosztochłonne, ponadto ze względów technicznych nie zawsze możliwe do wykonania i/lub trudno dostępne. Powtarzanie tych procedur diagnostycznych w krótkim czasie nie znajduje powszechnej akceptacji wśród pacjentów, a także nie jest zasadne ekonomicznie. Stąd też ocena stężenia kalprotektyny w stolcu u chorych z ChLC daje zupełnie nowe możliwości obiektywnego monitorowania aktywności tego przewlekłego schorzenia. Należy jednak podkreślić, że w obliczu tak zróżnicowanego klinicznie fenotypu ChLC, nadal istnieje wiele wątpliwości czy badanie to jest tak samo przydatne u każdego chorego. Czynnikiem, który w istotnym stopniu może wpływać na różną przydatność tej metody diagnostycznej, jest różna lokalizacja zmian chorobowych w obrębie przewodu pokarmowego.

W oparciu o powyższe ustalono następujące cele pracy:

- a) analiza przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu w ocenie aktywności choroby u pacjentów z ChLC z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie grubym w korelacji z obrazem kolonoskopowym

- b) analiza przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu w ocenie aktywności choroby u pacjentów z ChLC z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie cienkim poprzez korelację z obrazami w enterografii MR
- c) analiza przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu w ocenie aktywności choroby u pacjentów z ChLC z lokalizacją zmian chorobowych zarówno w jelicie cienkim, jak i grubym, poprzez korelację z aktywnością endoskopową (kolonoskopia) i obrazami w enterografii MR
- d) ocena zależności między stężeniem kalprotektyny w stolcu u chorych z ChLC, a aktywnością kliniczną choroby oraz wynikami badań biochemicznych we wskazanych powyżej podgrupach pacjentów z różną lokalizacją zmian chorobowych.

3. Materiał i metody

3.1 Grupa badana

Do badania kwalifikowano chorych z rozpoznaną ChLC na podstawie obrazu klinicznego, endoskopowego, wyników badań obrazowych i/lub badania histopatologicznego. Chorzy ci byli hospitalizowani w Katedrze i Klinice Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w okresie od września 2009 do grudnia 2012r. Charakterystykę kliniczną grupy badanej przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Charakterystyka kliniczna grupy badanej.

Cecha	n=120
Płeć – kobieta/mężczyzna n (%)	57/63 (48%/52%)
Fenotyp ChLC – n (%)	
Zapalny	117 (97%)
Penetrujący (przetoki)	40 (33%)
Zwężający	11 (9%)
Lokalizacja zmian chorobowych – n (%)	
Jelito kręte	34 (28,3%)
Jelito czcze i kręte	9 (7,5%)
Jelito czcze	1 (0,8%)
Jelito kręte i grube	49 (41%)
Jelito czcze, kręte i grube	3 (2,5%)
Jelito czcze i grube	2 (1,6%)
Jelito grube	22 (18,3%)
Leczenie operacyjne w wywiadzie – n (%)	43 (36%)
Aktywność kliniczna wg CDAI – n (%)	
Remisja <150 pkt.	37 (31%)
Mała aktywność 150-219 pkt.	36 (30%)
Średnia aktywność 220-450 pkt.	46 (38,2%)
Duża aktywność >450 pkt.	1 (0,8%)

Pobierane leki – n (%)	
5-ASA	111 (92%)
AZA	72 (60%)
Steroidy	54 (45%)
Antybiotyki	42 (35%)
Probiotyki	49 (41%)
Anty-TNF	0 (0%)

3.2 Metody

Aktywność kliniczna ChLC

U każdego chorego dokonano oceny aktywności klinicznej ChLC wyliczając indeks CDAI (Tabela 3), gdzie wartość < 150 pkt. oznaczała remisję kliniczną, 150-219 pkt. – łagodny rzut choroby, 220-450 pkt. – średnio nasilony rzut choroby, > 450 pkt. – ciężki rzut ChLC [20].

Tabela 3. Indeks aktywności klinicznej ChLC – Crohn's Disease Activity Index (CDAI).

Oceniany parametr	Punktacja	Mnożnik
Liczba luźnych wypróżnień (suma z 7 dni)	Ilość luźnych stolców	X 2
Ból brzucha (w ciągu 7dni)	0: brak 1: lekki 2: umiarkowany 3: ciężki	X 5
Ogólne samopoczucie (ocena z 7 dni)	0: dobre 1: nieco obniżone 2: obniżone 3: znacznie obniżone 4: złe	X 7
Powikłanie spoza przewodu pokarmowego (1 punkt za każde powikłanie)	Zapalenie/ból stawów Zapalenie błony naczyniowej oka Rumień guzowaty Zgorzelińowe zapalenie skóry Aftowe zapalenie jamy ustnej Szczelina, przetoka, ropień okołoodbytowy Inna przetoka Temperatura ciała > 37,8°C	X 20
Konieczność stosowania leków zapierających	0: nie 1: tak	X 30
Wyczuwalny guz w jamie brzusznej	0: nie 2: wątpliwe 5: pewne	X 10
Hematokryt (HCT) – różnica między HCT badanym, a HCT należnym	Kobiety: 42 - badany HCT Mężczyźni: 47 – badany HCT	X 6
Masa ciała badana w odniesieniu do masy należnej dla wieku i płci	$[1 - (\text{aktualna/należna masa ciała})] \times 100$	X 1

Aktywność choroby w ocenie endoskopowej ChLC

Ileokolonoskopię wykonywano u każdego chorego, u którego ze względów medycznych było to możliwe. Badanie wykonywał doświadczony endoskopista, pracownik Kliniki, będący specjalistą gastroenterologiem. Badanie było wykonywane w znieczuleniu ogólnym pod nadzorem anestezjologa. Każdy chory był przygotowywany do badania kolonoskopowego w standardowy sposób, umożliwiający jak najlepszą ocenę błony śluzowej przewodu pokarmowego. Każdorazowo dokonywano oceny aktywności endoskopowej ChLC, posługując się skalą Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD), którą przedstawia tabela 4. Skala ta uwzględnia ocenę nasilenia czterech zmiennych endoskopowych – obecności i rozmiaru owrzodzeń, rozległości owrzodzonej powierzchni przewodu pokarmowego, rozległości zmian zapalnych oraz obecności zwężeń. Zmienne te analizowane są osobno w następujących segmentach przewodu pokarmowego – jelito kręte (SES-CD dotyczący jelita krętego) oraz kątnica i wstępnica, poprzecznica, zstępnica i esica i odbytnica (SES-CD w obrębie jelita grubego)[29].

Tabela 4. Skala Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease do oceny aktywności endoskopowej ChLC.

Obecność owrzodzeń i ich rozmiary	Rozległość owrzodzeń w danym fragmencie jelita	Zasięg i rozległość zmian chorobowych	Obecność zwężeń
Brak 0 pkt.	Brak 0 pkt.	Brak 0 pkt.	Brak 0 pkt.
Owrzodzenie o max średnicy 0,1 – 0,5cm 1 pkt.	<10% danego odcinka jelita 1 pkt.	<50% danego odcinka jelita 1 pkt.	Pojedyncze zwężenie nieutrudniające dalszej penetracji jelita 1 pkt.
Owrzodzenie o max średnicy 0,5 – 2,0 cm 2 pkt.	10-30% danego odcinka jelita 2 pkt.	50-75% danego odcinka jelita 2 pkt.	Mnogie zwężenia jelita nieutrudniające dalszej penetracji jelita 2 pkt.
Owrzodzenie o max średnicy > 2 cm 3 pkt.	>30% danego odcinka jelita 3 pkt.	>75% danego odcinka jelita 3 pkt.	Każde zwężenie uniemożliwiające dalsze badanie 3 pkt.

Aktywność biochemiczna

U każdego chorego pobierano krew do badań biochemicznych, oceniających nasilenie stanu zapalnego. Oznaczano następujące parametry: CRP, OB, morfologia krwi obwodowej, fibrynogen.

Enterografia MR

Oceny aktywności choroby w zakresie jelita cienkiego dokonywano przy pomocy badania EMR. Badania te wykonywano we współpracy z Katedrą Radiologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Oceny dokonywał lekarz specjalista radiolog, mający ponad 10-letnie doświadczenie w omawianej technice obrazowania.

U każdego chorego badanie przeprowadzano według tego samego protokołu. Przez 6 godzin przed badaniem chory nie przyjmował posiłków i płynów. Pół godziny przed EMR pacjent wypijał 1500 ml doustnego środka kontrastowego (polietylenoglikol). 15 minut przed badaniem chory otrzymywał 4 mg buskolizyny dożylnie, aby zmniejszyć ruchy perystaltyczne jelit. Skany MR wykonywane były w pozycji leżącej w sekwencjach na zatrzymanym oddechu. Standardowy protokół obejmował następujące sekwencje:

- *True Fast Imaging with Steady-state free Precession* (TrueFISP) – do oceny morfologii narządów jamy brzusznej oraz rozdęcia pętli jelitowych i pogrubienia ścian przewodu pokarmowego

- *single shot turbo spin echo* (HASTE) – do oceny obrzęku okołojelitowej

tkanki tłuszczowej i proliferacji naczyń krwionośnych

- *CINE* – do oceny perystaltyki jelitowej i obecności zwężeń

- *Volumetric Interpolated Breath Hold Examination* (VIBE) w sekwencjach T1-zależnych oraz *Fast Low Angle Shot* (FLASH) przed i po podaniu gadolinowego środka kontrastowego (dawka 0,1 mmol/kg, po której aplikowano dożylnie 20 ml soli fizjologicznej) do oceny wzmocnienia pokontrastowego.

W celu obiektywizacji oceny aktywności zmian chorobowych w jelicie cienkim posłużono się autorską skalą Simple Enterographic Activity Score for Crohn's Disease (SEAS-CD), która uwzględnia i kwantyfikuje najważniejsze obrazowe wykładniki, świadczące o nasileniu procesu zapalnego w obrębie pętli jelita cienkiego w przebiegu ChLC [31,56]. Skala została zaprojektowana w Katedrze i Klinice Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych we współpracy z Katedrą Radiologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Dokonano uprzedniej walidacji i pozytywnej oceny przydatności skali na niezależnej grupie chorych z ChLC, w której „złotym standardem”, do którego odnoszono skalę SEAS-CD, była ocena endoskopowa [57]. Aktywności ChLC oceniana jest we wskazanej skali osobno dla jelita czczego (ang. jejunal SEAS-CD) oraz jelita krętego (ang. ileal SEAS-CD). Całkowita aktywność ChLC w jelicie cienkim obliczana jest poprzez zsumowanie wyniku jejunal SEAS-CD i ileal SEAS-CD. Skalę SEAS-CD przedstawia tabela 5.

Tabela 5. Indeks służący ocenie aktywności ChLC w enterografii MR.

Oceniana cecha w EMR	Nasilenie ocenianej cechy		
Pogrubienie ściany jelita	< 3 mm: 0 pkt.	3 – 7 mm: 1 pkt.	> 7 mm: 2 pkt
Wzmocnienie pokontrastowe	Brak: 0 pkt	Jednorodny charakter wzmocnienia: 1 pkt	Wzmocnienie warstwowe ściany jelita: 2 pkt
Obrzęk okołojelitowej tkanki tłuszczowej	Brak: 0 pkt	Obecne: 1 pkt	
Prolifercja naczyń krwionośnych w strukturach okołojelitowych	Brak: 0 pkt	< 5 naczyń/3 cm ² tkanki tłuszczowej okołojelitowej: 1 pkt	≥ 5 naczyń/3 cm ² tkanki tłuszczowej okołojelitowej: 2 pkt
Powiększenie węzłów chłonnych krezkowych	Brak: 0 pkt	< 10 powiększonych węzłów chłonnych: 1 pkt	≥ 10 powiększonych węzłów chłonnych : 2 pkt
Obecność owrzodzeń	Brak: 0 pkt	Co najmniej 1 nieprzekraczające ½ grubości ściany jelita: 1 pkt	Co najmniej 1 przekraczające ½ grubości jelita: 2 pkt
Obecność zwężeń	Brak: 0 pkt	Zwężenie bez prestenotycznego poszerzenia jelita: 1 pkt	Co najmniej 1 zwężenie z prestenotycznym poszerzeniem jelita: 2 pkt
Wewnątrzbrzuszne przetoki	Brak: 0 pkt	Co najmniej 1 przetoka obecna: 5 pkt	
Rozległość zmian zapalnych (sumaryczna długość)	< 30 mm: 1 pkt	30 – 1500 mm: 2 pkt	> 1500 mm: 3 pkt

Całkowita aktywność ChLC – ang. *Global Crohn's Disease Activity (GCDA)*

W celu oceny całkowitej aktywności ChLC w przypadku chorych z mieszaną lokalizacją choroby w jelicie cienkim i grubym, stworzono parametr *Global Crohn's Disease Activity (GCDA)*. GCDA uwzględnia zarówno zakres zmian chorobowych w jelicie cienkim oraz ich nasilenie oceniane w enterografii MR (SEAS-CD), jak i zakres i nasilenie zmian zapalnych w jelicie grubym oceniane endoskopowo (SES-CD w zakresie jelita grubego). Tak więc wartość GCDA jest sumą SEAS-CD oraz SES-CD w zakresie jelita grubego. W przypadku chorych z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie cienkim wartość GCDA jest równa wartości SEAS-CD, a w przypadku chorych ze zmianami w jelicie grubym wartość GCDA jest równa wynikowi SES-CD w obrębie jelita grubego.

Kalprotektyna

W celu wykonania badania od każdego pacjenta pobierano próbę kału w ilości minimum 5 g i mrożono w temperaturze -20°C aż do momentu wykonania badania, nie dłużej jednak niż przez 12 miesięcy. Przed wykonaniem analizy próby rozmrażano w temperaturze pokojowej [58].

Do oznaczenia stężenia kalprotektyny w kale zastosowano test PhiCal Calprotectin Elisa Kit firmy Immundiagnostik. Do 100 mg kału dodawano 5 ml buforu ekstrakcyjnego i poddawano homogenizacji przez około 30 sekund (w zależności od konsystencji), a następnie wirowano przez 5 minut, przy prędkości 13000g. Otrzymany supernatant rozcieńczano w proporcji 1:50, a następnie 100 µl

standardów, kontroli oraz rozcieńczonego supernatantu (podwójnie) przenoszono do studzienek reakcyjnych. Studzienki opłaskane były przeciwciałami króliczymi przeciwko kalprotektynie. Szczelnie przykrytą płytkę inkubowano godzinę w temperaturze 37°C. Po inkubacji każdą studzienkę reakcyjną przepłukiwano 5 – krotnie buforem płuczającym, a następnie dodawano koniugatu zawierającego przeciwciała królicze klasy IgG znaczone alkaliczną fosfatazą przeciwko kalprotektynie. Kolejna inkubacja trwała 10 – 20 minut i prowadzona była w temperaturze pokojowej (18 – 26 °C) w zaciemnieniu. Po wyznaczonym czasie reakcja była zatrzymywana przez dodanie buforu STOP. Gęstość optyczną odczytywano przy użyciu spektrofotometru Sunrise firmy Tecan Austria i na podstawie dokonanego odczytu wyznaczano stężenia kalprotektyny w oparciu o krzywą wzorcową. Oznaczenia te wykonywano we współpracy z Instytutem Mikroekologii w Poznaniu.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy programu GraphPadPrism Version 4.0. Dla wszystkich badanych parametrów, w ramach statystyki opisowej, obliczono wartości średnie wraz z odchyleniem standardowym (SD) oraz mediany z zakresem przedziału ufności (95%CI). Podano także maksima i minima.

W przypadku zmiennych mierzonych na skali interwałowej oceniano normalność rozkładu badanej zmiennej posługując się testem Kołmogorowa-Smirnowa. Jeśli rozkład zmiennych był rozkładem normalnym, różnice statystyczne między zmiennymi badano przy pomocy testu t-Studenta dla zmiennych powiązanych. Jeśli zmienne nie były powiązane, oceniano w dalszym etapie równość wariancji zmiennych testem Fishera-Snedecora. Jeśli wariancje zmiennych były równe,

posługiwano się do oceny różnic między danymi parametrami testem Welcha, jeśli nie były równe – testem t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych. Jeśli natomiast badane zmienne na skali interwałowej nie wykazywały rozkładu normalnego oraz w przypadku zmiennych mierzonych na skali porządkowej, posługiwano się testem Wilcoxon dla zmiennych powiązanych lub testem Manna-Whitney’a dla zmiennych niepowiązanych.

W analizie korelacji dla zmiennych mierzonych na skali interwałowej posługiwano się testem r Pearsona, jeśli rozkład zmiennych był rozkładem normalnym. W przypadku braku normalności rozkładu zmiennych używano testu r_s Spearmana.

Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartość współczynnika $p < 0,05$.

Analizę statystyczną przeprowadzono dla całej grupy badanej oraz dla chorych z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie cienkim, dla chorych z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie grubym oraz dla chorych ze zmianami w zarówno jelicie cienkim i grubym.

Zagadnienia etyczne

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (nr zgody 141/11).

4. Wyniki

I Charakterystyka całej grupy badanej

1. Statystyka opisowa

Do badania zakwalifikowano 120 chorych (63 mężczyzn i 57 kobiet) hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych UMP. Charakterystykę kliniczną oraz wyniki badań laboratoryjnych, endoskopowych (SES-CD) i obrazowych (SEAS-CD) oraz całkowitą aktywność ChLC (GCDA) grupy badanej przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Charakterystyka kliniczna oraz wyniki badań dodatkowych w całej grupie badanej.

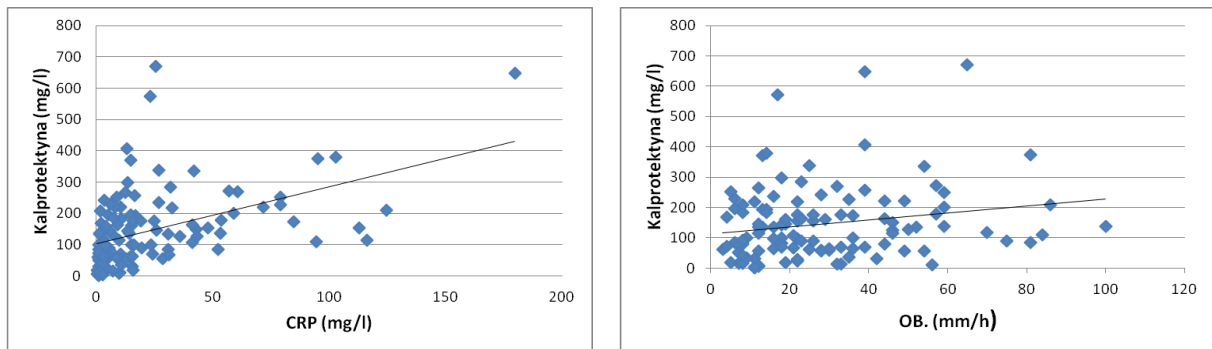
Cecha (jednostka pomiarowa)	Średnia	Odchylenie standardowe (SD)	Mediana (95% CI)	Minimum	Maksimum
Wiek (lata)	33	12	30 (30 – 35)	17	69
Kalprotektyna (mg/l)	147,6	121,6	121,5 (125,1 – 170,2)	4,1	670,2
Czas od pojawienia się objawów ChLC (lata)	8	6	6 (6 - 9)	0,5	29
Czas od postawienia diagnozy ChLC (lata)	5	5	4 (4 - 6)	0	29
Białko C-reaktywne (mg/l)	23,6	30,9	12,8 (17,9 – 29,2)	0,3	179,7
Odczyn Biernackiego (mm/h)	28	21	22 (24 – 32)	3	100
Erytrocyty (mln/mm ³)	4,5	0,6	4,5 (4,4 – 4,7)	3	6
Hemoglobina (g/dl)	12,6	1,8	12,8 (12,3 – 12,9)	8	16,3
Hematokryt (%)	38	5	38 (37 – 39)	26	50
Leukocyty (tys/mm ³)	7,8	3,4	7,1 (7,1 – 8,4)	3,1	19,7

Płytki krwi (tys/mm³)	359	130	320 (335 – 382)	149	947
Fibrynogen (mg/dl)	454	130	446 (427 – 482)	221	758
CDAI (pkt.)	209	107	200 (188 – 229)	12	572
SES-CD w obrębie jelita krętego (pkt.)	4	3	3 (3 – 5)	0	12
SES-CD w obrębie jelita grubego (pkt.)	6	6	3 (4 – 7)	0	25
SES-CD całkowity (pkt.)	10	8	8 (8 – 12)	0	33
SEAS-CD – jelito czcze i kręte (pkt.)	9	6	10 (8 – 11)	0	24
SEAS-CD w obrębie jelita krętego (pkt.)	9	6	9 (8 – 10)	0	20
GCDA (pkt.)	15	8	14 (13 – 16)	2	36

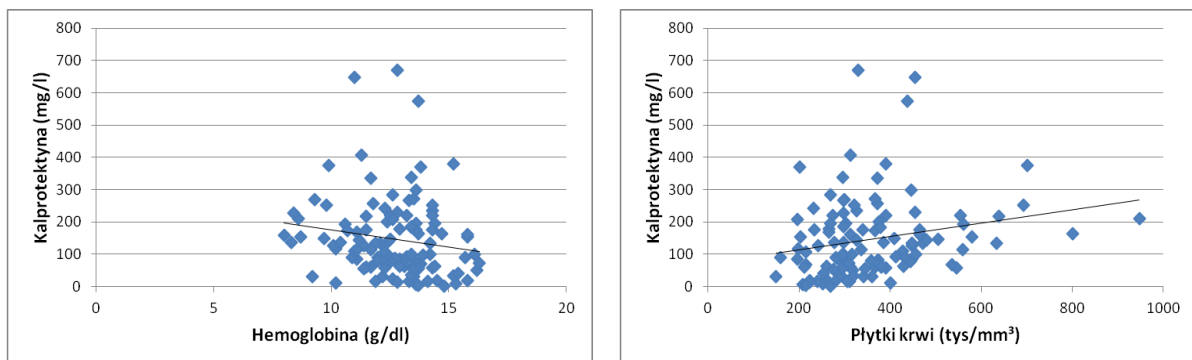
Zaprezentowane wyniki badań odnoszą się do grupy 120 chorych z ChLC. W przypadku oceny aktywności endoskopowej ChLC – wyniki SES-CD odnoszą się do grupy 108 chorych, u których przeprowadzono badanie kolonoskopowe. U 10 chorych wykonanie kolonoskopii było niemożliwe ze względów technicznych (niskie zwężenia) lub z uwagi na brak zgody pacjenta na wykonanie badania, w 2 przypadkach odstąpiono od kolonoskopii w znieczuleniu ogólnym ze względów anestezjologicznych (dyskwalifikacja ze znieczulenia). Spośród 108 chorych, u których wykonano kolonoskopię, u 98 osiągnięto kątnicę (pełna ocena jelita grubego). W 10 przypadkach odnotowywano przewężenia w obrębie okrężnicy w przebiegu ChLC uniemożliwiające dalszą penetrację. Spośród 98 chorych, u których osiągnięto kątnicę – u 63 udało się zaintubować jelito kręte (64% badań).

2. Analiza korelacji

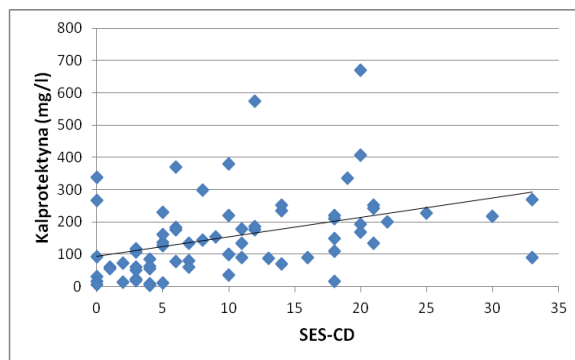
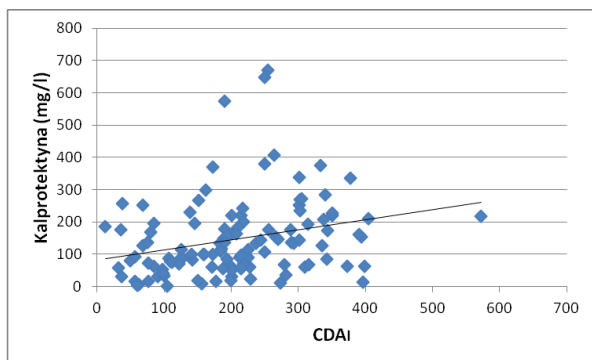
Wybrane zależności dotyczące stężenia kalprotektyny w kale i innych parametrów przedstawiają ryciny 2-5.



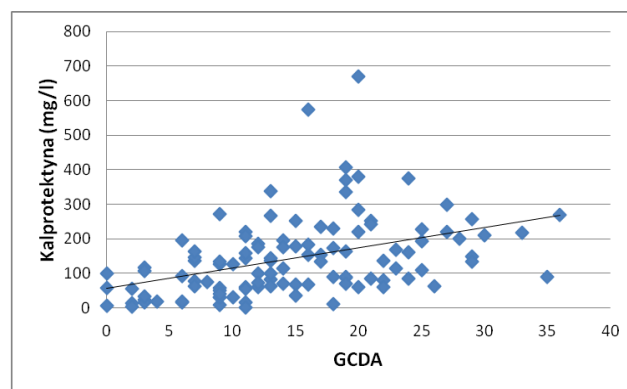
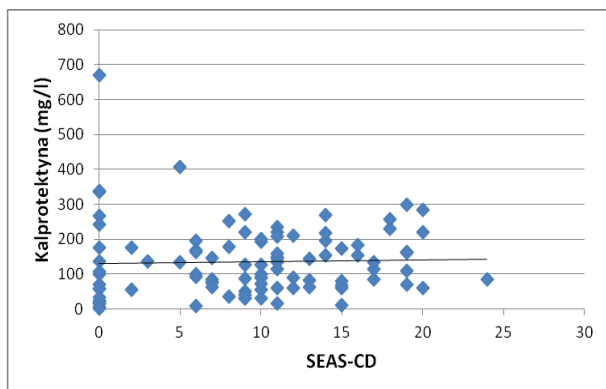
Ryc. 2 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w stolcu a CRP ($p < 0,0001$; $r = 0,54$) oraz OB. ($p = 0,03$; $r = 0,19$).



Ryc. 3 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w stolcu a stężeniem hemoglobiny ($p = 0,04$; $r = -0,18$) oraz płytek krwi ($p = 0,002$; $r = 0,27$).



Ryc. 4 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w stolcu a CDAI ($p=0,002$; $r=0,28$) oraz SES-CD ($p<0,0001$; $r=0,51$).



Ryc. 5 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w stolcu a SEAS-CD ($p=0,03$; $r=0,24$) oraz GCDA ($p<0,0001$; $r=0,52$).

Analizę korelacji pomiędzy wszystkimi parametrami biochemicznymi, klinicznymi, endoskopowymi oraz obrazowymi przedstawia natomiast tabela 7.

Tabela 7. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami biochemiczno-klinicznymi w całej grupie chorych (część 1).

X	Kalprotektyna (mg/l)	Białko C-reaktywne (mg/l)	OB. (mm/h)	Erytrocyty (mln/mm ³)	Hemoglobina (g/dl)	Hematokryt (%)	Leukocyty (tys/mm ³)	Płytki krwi (tys/mm ³)	Fibrynogen (mg/dl)	CDAI	SES-CD w obrębie jelita krętego	SES-CD w obrębie jelita grubego	SES-CD całkowity	SEAS-CD	SEAS-CD w obrębie jelita krętego	GCDA
Kalprotektyna (mg/l)	X	p<0,0001 r=0,54	p=0,03 r=0,19	p=0,22 r=-0,11	p=0,04 r=-0,18	p=0,15 r=0,13	p=0,09 r=0,15	p=0,002 r=0,27	p=0,1 r=0,17	p=0,002 r=0,28	p=0,02 r=0,3	p<0,0001 r=0,41	p<0,0001 r=0,51	p=0,03 r=0,2	p=0,01 r=0,24	p<0,0001 r=0,52
Białko C-reaktywne (mg/l)	p<0,0001 r=0,54	X	p<0,0001 r=0,58	p=0,69 r=-0,03	p=0,008 r=-0,24	p=0,01 r=-0,22	p=0,002 r=0,27	p<0,0001 r=0,43	p<0,0001 r=0,57	p<0,0001 r=0,36	p=0,1 r=0,21	p=0,01 r=0,21	p=0,0003 r=0,41	p=0,006 r=0,25	p=0,008 r=0,24	p<0,0001 r=0,47
OB. (mm/h)	p=0,03 r=0,19	p<0,0001 r=0,58	X	p<0,0001 r=-0,36	p<0,0001 r=-0,47	p<0,0001 r=-0,44	p=0,7 r=0,03	p=0,0002 r=0,33	p<0,0001 r=0,63	p<0,001 r=0,38	p=0,79 r=-0,03	p=0,001 r=0,35	p=0,0003 r=0,41	p=0,54 r=0,05	p=0,98 r=0,001	p=0,0008 r=0,31
Erytrocyty (mln/mm ³)	p=0,22 r=-0,11	p=0,69 r=-0,03	p<0,0001 r=-0,36	X	p<0,0001 r=0,65	p<0,0001 r=0,75	p=0,01 r=0,22	p=0,21 r=0,11	p=0,48 r=0,07	p=0,004 r=-0,27	p=0,08 r=0,34	p=0,49 r=-0,06	p=0,83 r=0,02	p=0,47 r=0,068	p=0,37 r=0,08	p=0,76 r=-0,02
Hemoglobina (g/dl)	p=0,04 r=-0,18	p=0,008 r=-0,24	p<0,0001 r=-0,47	p<0,0001 r=0,65	X	p<0,0001 r=0,95	p=0,59 r=0,04	p=0,003 r=-0,26	p=0,42 r=-0,32	p=0,0006 r=-0,32	p=0,66 r=0,05	p=0,001 r=-0,29	p=0,005 r=-0,32	p=0,23 r=-0,11	p=0,16 r=-0,13	p=0,0001 r=-0,35
Hematokryt (%)	p=0,15 r=-0,13	p=0,01 r=-0,22	p<0,0001 r=-0,44	p<0,0001 r=0,75	p<0,0001 r=0,95	X	p=0,26 r=0,1	p=0,06 r=-0,17	p=0,65 r=-0,04	p=0,0006 r=-0,33	p=0,53 r=0,08	p=0,006 r=-0,25	p=0,01 r=-0,27	p=0,37 r=-0,08	p=0,19 r=-0,12	p=0,002 r=-0,28

Tabela 7. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami biochemiczno-klinicznymi w całej grupie chorych (część 2).

X	Kalprotektyna (mg/l)	Białko C-reaktywne (mg/l)	OB. (mm/h)	Erytrocyty (mln/mm ³)	Hemoglobina (g/dl)	Hematokryt (%)	Leukocyty (tys/mm ³)	Płytki krwi (tys/mm ³)	Fibrynogen (mg/dl)	CDAI	SES-CD w obrębie jelita krętego	SES-CD w obrębie jelita grubego	SES-CD całkowity	SEAS-CD	SEAS-CD w obrębie jelita krętego	GCDA
Leukocyty (tys/mm ³)	p=0,09 r=0,15	p=0,002 r=0,27	p=0,7 r=0,03	p=0,01 r=0,22	p=0,59 r=0,04	p=0,26 r=0,1	X	p<0,0001 r=0,39	p=0,09 r=0,18	p=0,36 r=0,08	p=0,48 r=0,09	p=0,14 r=0,14	p=0,49 r=0,08	p=0,6 r=-0,04	p=0,9 r=-0,009	p=0,58 r=0,05
Płytki krwi (tys/mm ³)	p=0,002 r=0,27	p<0,0001 r=0,43	p=0,0002 r=0,33	p=0,21 r=0,11	p=0,003 r=-0,26	p=0,06 r=-0,17	p<0,0001 r=0,39	X	p<0,0001 r=0,47	p=0,01 r=0,23	p=0,03 r=0,27	p=0,31 r=0,09	p=0,006 r=0,31	p=0,009 r=0,24	p=0,03 r=0,19	p=0,001 r=0,3
Fibrynogen (mg/dl)	p=0,1 r=0,17	p<0,0001 r=0,57	p<0,0001 r=0,63	p=0,48 r=0,07	p=0,42 r=-0,32	p=0,65 r=-0,04	p=0,09 r=0,18	p<0,0001 r=0,47	X	p=0,008 r=0,28	p=0,4 r=0,12	p=0,12 r=0,17	p=0,1 r=0,22	p=0,16 r=0,15	p=0,3 r=0,11	p=0,02 r=0,25
CDAI	p=0,002 r=0,28	p<0,0001 r=0,36	p<0,001 r=0,38	p=0,004 r=-0,27	p=0,0006 r=-0,32	p=0,0006 r=-0,33	p=0,36 r=0,08	p=0,01 r=0,23	p=0,008 r=0,28	X	p=0,57 r=0,07	p=0,01 r=0,24	p=0,001 r=0,36	p=0,03 r=0,2	p=0,05 r=0,18	p=0,0004 r=0,33
SES-CD w obrębie jelita krętego	p=0,02 r=0,3	p=0,1 r=0,21	p=0,79 r=-0,03	p=0,08 r=0,34	p=0,66 r=0,05	p=0,53 r=0,08	p=0,48 r=0,09	p=0,03 r=0,27	p=0,4 r=0,12	p=0,57 r=0,07	X	p=0,8 r=-0,02	p=0,0007 r=0,43	p<0,0001 r=0,55	p<0,0001 r=0,59	p=0,01 r=0,31
SES-CD w obrębie jelita grubego	p<0,0001 r=0,41	p=0,01 r=0,21	p=0,001 r=0,35	p=0,49 r=-0,06	p=0,001 r=-0,29	p=0,006 r=-0,25	p=0,14 r=0,14	p=0,31 r=0,09	p=0,12 r=0,17	p=0,01 r=0,24	p=0,8 r=-0,02	X	p<0,0001 r=0,77	p=0,001 r=-0,31	p=0,009 r=-0,25	p<0,0001 r=0,51
SES-CD całkowity	p<0,0001 r=0,51	p=0,0003 r=0,41	p=0,0003 r=0,41	p=0,83 r=0,02	p=0,005 r=-0,32	p=0,01 r=-0,27	p=0,49 r=0,08	p=0,006 r=0,31	p=0,1 r=0,22	p=0,001 r=0,36	p=0,0007 r=0,43	p<0,0001 r=0,77	X	p=0,9 r=0,01	p=0,6 r=0,05	p<0,0001 r=0,7
SEAS-CD	p=0,03 r=0,2	p=0,006 r=0,25	p=0,54 r=0,05	p=0,47 r=0,068	p=0,23 r=-0,11	p=0,37 r=-0,08	p=0,6 r=-0,04	p=0,009 r=0,24	p=0,16 r=0,15	p=0,03 r=0,2	p<0,0001 r=0,55	p=0,001 r=-0,31	p=0,9 r=0,01	X	p<0,0001 r=0,9	p<0,0001 r=0,61
SEAS-CD w obrębie jelita krętego	p=0,01 r=0,24	p=0,008 r=0,24	p=0,98 r=0,001	p=0,37 r=0,08	p=0,16 r=-0,13	p=0,19 r=-0,12	p=0,9 r=-0,009	p=0,03 r=0,19	p=0,3 r=0,11	p=0,05 r=0,18	p<0,0001 r=0,59	p=0,009 r=-0,25	p=0,6 r=0,05	p<0,0001 r=0,9	X	p<0,0001 r=0,56
GCDA	p<0,0001 r=0,52	p<0,0001 r=0,47	p=0,0008 r=0,31	p=0,76 r=-0,02	p=0,0001 r=-0,35	p=0,002 r=-0,28	p=0,58 r=0,05	p=0,001 r=0,3	p=0,02 r=0,25	p=0,0004 r=0,33	p=0,01 r=0,31	p<0,0001 r=0,51	p<0,0001 r=0,7	p<0,0001 r=0,61	p<0,0001 r=0,56	X

Dodatkowo, w celu wykazania przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu w wykrywaniu aktywnych zmian zapalnych ocenianych endoskopowo, dokonano porównania stężenia tego białka u chorych z nieaktywną (SES-CD $\leq$ 3 pkt.) i aktywną ChLC (SES-CD $>$ 3 pkt.). Średnie stężenie kalprotektyny w kale u osób z SES-CD $\leq$ 3 punktów wynosiło $85,9 \pm 58,8$ mg/l, a w grupie z aktywną endoskopowo ChLC – $179,1 \pm 127,6$ mg/l. Różnica była istotna statystycznie ($p < 0,0001$).

II Charakterystyka chorych z ChLC z izolowaną lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim

1. Statystyka opisowa

Charakterystykę kliniczno-epidemiologiczną, wyniki badań laboratoryjnych, endoskopowych (SES-CD) i obrazowych (SEAS-CD) wśród chorych z izolowaną lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim przedstawiają tabele 8 i 9.

Tabela 8. Charakterystyka chorych z ChLC z lokalizacją zmian w jelicie cienkim.

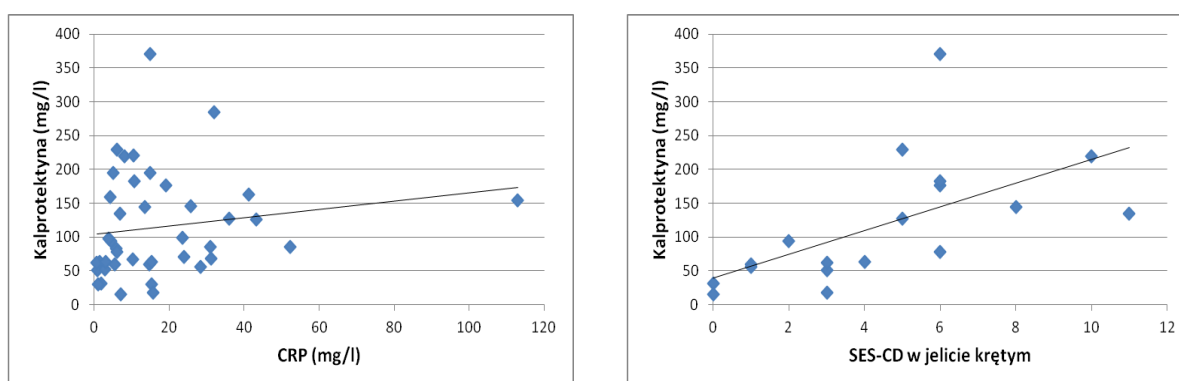
Cecha	n=44
Płeć – kobieta/mężczyzna n (%)	17/27 (39%/61%)
Fenotyp ChLC – n (%)	
Zapalny	43 (98%)
Penetrujący (przetoki)	12 (27%)
Zwężający	1 (2%)
Lokalizacja zmian chorobowych – n (%)	
Jelito kręte	34 (77%)
Jelito czcze	1 (3%)
Jelito czcze i kręte	9 (20%)
Leczenie operacyjne w wywiadzie – n (%)	18 (41%)
Aktywność kliniczna wg CDAI – n (%)	
Remisja <150 pkt.	18 (41%)
Mała aktywność 150-219 pkt.	13 (29,5%)
Średnia aktywność 220-450 pkt.	13 (29,5%)
Duża aktywność >450 pkt.	0 (0%)
Pobierane leki – n (%)	
5-ASA	40 (91%)
AZA	24 (55%)
Steroidy	16 (36%)
Antybiotyki	13 (30%)
Probiotyki	16 (41%)
Anty-TNF	0 (0%)

Tabela 9. Charakterystyka kliniczna oraz wyniki badań dodatkowych w grupie chorych z lokalizacją zmian w jelicie cienkim.

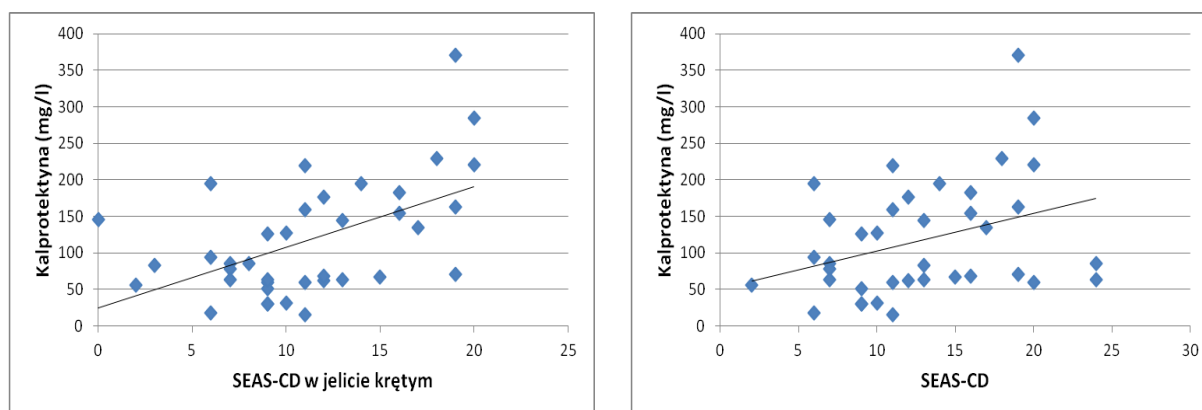
Cecha (jednostka pomiarowa)	Średnia	Odchylenie standardowe (SD)	Mediana (95% CI)	Minimum	Maksimum
Wiek (lata)	33	11	31 (30 – 37)	19	63
Kalprotektyna (mg/l)	114,9	77,4	85,5 (90,4 – 139,3)	14,9	370,8
Czas od pojawienia się objawów ChLC (lata)	7	5	6 (5 -9)	0,5	20
Czas od postawienia diagnozy ChLC (lata)	5	5	3 (3 - 6)	0	20
Białko C-reaktywne (mg/l)	17,1	19,6	12,1 (11,1 – 23,1)	0,7	113
Odczyn Biernackiego (mm/h)	23	15	19 (18 – 27)	3	81
Erytrocyty (mln/mm ³)	4,52	0,6	4,5 (4,3 – 4,7)	3	5,9
Hemoglobina (g/dl)	12,9	1,6	13,2 (12,4 – 13,4)	8	16,2
Hematokryt (%)	39	4	39 (37 – 40)	26	46
Leukocyty (tys/mm ³)	7,1	2,9	6,4 (6,2 – 8,1)	3,3	15,1
Płytki krwi (tys/mm ³)	356	120	322 (319 – 392)	149	801
Fibrynogen (mg/dl)	435	113	437 (395 – 476)	227	621
CDAI (pkt.)	190	98	184 (159 – 221)	36	399
SES-CD w obrębie jelita krętego (pkt.)	4	3	3 (2 – 5)	0	11
SEAS-CD – jelito czcze i kręte (pkt.)	13	5	12 (11 – 15)	2	24
SEAS-CD w obrębie jelita krętego (pkt.)	11	5	11 (10 – 13)	2	20

2. Analiza korelacji.

Wyniki istotnych korelacji pomiędzy stężeniem kalprotektyny w stolcu a parametrami biochemicznymi, obrazem endoskopowym, wynikiem enterografii MR przedstawiają ryciny 6 i 7. Nie prezentowano analizy zależności między kalprotektyną a GCDA z uwagi na fakt, że wartość GCDA w omawianej grupie jest tożsama z wartością całkowitego indeksu SEAS-CD.



Ryc. 6 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w kale a CRP ($p=0,03$; $r=0,32$) oraz SES-CD w jelicie krętym ($p<0,0001$; $r=0,78$).



Ryc. 7 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w kale a SEAS-CD w jelicie krętym ($p=0,003$; $r=0,46$) oraz SEAS-CD całkowitym ($p=0,03$; $r=0,35$).

Tabela 10 prezentuje natomiast wyniki korelacji między wszystkimi badanymi parametrami klinicznymi, biochemicznymi, endoskopowymi i obrazowymi.

Tabela 10. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami biochemiczno-klinicznymi w grupie chorych z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie cienkim

(część 1).

X	Kalprotektyna (mg/l)	Białko C- reaktywne (mg/l)	OB. (mm/h)	Erytrocyty (mln/mm ³)	Hemoglobina (g/dl)	Hematokryt (%)	Leukocyty (tys/mm ³)	Płytki krwi (tys/mm ³)	Fibrynogen (mg/dl)	CDAI	SES-CD w obróbie jelita krętego	SEAS- CD	SEAS-CD w obróbie jelita krętego
Kalprotektyna (mg/l)	X	p=0,03 r=0,32	p=0,87 r=-0,02	p=0,36 r=0,14	p=0,98 r=-0,003	p=0,66 r=0,07	p=0,5 r=0,1	p=0,22 r=0,19	p=0,22 r=0,22	p=0,16 r=0,22	p<0,0001 r=0,78	p=0,03 r=0,35	p=0,003 r=0,46
Białko C- reaktywne (mg/l)	p=0,03 r=0,32	X	p=0,0005 r=0,5	p=0,95 r=0,008	p=0,62 r=-0,07	p=0,99 r=0,001	p=0,04 r=0,3	p=0,13 r=0,23	p=0,01 r=0,42	p=0,3 r=0,16	p=0,38 r=0,2	p=0,28 r=0,17	p=0,43 r=0,12
OB. (mm/h)	p=0,87 r=-0,02	p=0,0005 r=0,5	X	p=0,03 r=-0,32	p=0,02 r=-0,34	p=0,09 r=-0,25	p=0,49 r=-0,1	p=0,06 r=0,27	p=0,0003 r=0,59	p=0,09 r=0,26	p=0,51 r=0,15	p=0,36 r=0,14	p=0,68 r=-0,06
Erytrocyty (mln/mm ³)	p=0,36 r=0,14	p=0,95 r=0,008	p=0,03 r=-0,32	X	p<0,0001 r=0,74	p<0,0001 r=0,86	p=0,01 r=0,38	p=0,42 r=0,12	p=0,7 r=0,06	p=0,25 r=-0,17	p=0,06 r=0,42	p=0,56 r=0,09	p=0,23 r=0,19
Hemoglobina (g/dl)	p=0,98 r=-0,003	p=0,62 r=-0,07	p=0,02 r=-0,34	p<0,0001 r=0,74	X	p<0,0001 r=0,9	p=0,42 r=0,12	p=0,19 r=-0,2	p=0,72 r=-0,06	p=0,12 r=-0,24	p=0,66 r=0,1	p=0,86 r=0,02	p=0,73 r=0,05
Hematokryt (%)	p=0,66 r=0,07	p=0,99 r=0,001	p=0,09 r=-0,25	p<0,0001 r=0,86	p<0,0001 r=0,9	X	p=0,11 r=0,24	p=0,9 r=-0,01	p=0,76 r=0,05	p=0,21 r=-0,19	p=0,45 r=0,18	p=0,52 r=0,1	p=0,78 r=0,04
Leukocyty (tys/mm ³)	p=0,5 r=0,1	p=0,04 r=0,3	p=0,49 r=-0,1	p=0,01 r=0,38	p=0,42 r=0,12	p=0,11 r=0,24	X	p=0,05 r=0,29	p=0,9 r=-0,02	p=0,82 r=-0,03	p=0,76 r=0,07	p=0,11 r=-0,25	p=0,16 r=-0,22
Płytki krwi (tys/mm ³)	p=0,22 r=0,19	p=0,13 r=0,23	p=0,06 r=0,27	p=0,42 r=0,12	p=0,19 r=-0,2	p=0,9 r=-0,01	p=0,05 r=0,29	X	p=0,003 r=0,49	p=0,14 r=0,23	p=0,33 r=0,22	p=0,38 r=0,14	p=0,82 r=-0,03
Fibrynogen (mg/dl)	p=0,22 r=0,22	p=0,01 r=0,42	p=0,0003 r=0,59	p=0,7 r=0,06	p=0,72 r=-0,06	p=0,76 r=0,05	p=0,9 r=-0,02	p=0,003 r=0,49	X	p=0,04 r=0,36	p=0,42 r=0,21	p=0,35 r=0,17	p=0,87 r=0,03

Tabela 10. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami biochemiczno-klinicznymi w grupie chorych z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie cienkim

(część 2).

X	Kalprotektyna (mg/l)	Białko C- reaktywne (mg/l)	OB. (mm/h)	Erytrocyty (mln/mm ³)	Hemoglobina (g/dl)	Hematokryt (%)	Leukocyty (tys/mm ³)	Płytki krwi (tys/mm ³)	Fibrynogen (mg/dl)	CDAI	SES-CD w obróbie jelita krętego	SEAS-CD	SEAS-CD w obróbie jelita krętego
CDAI	p=0,16 r=0,22	p=0,3 r=0,16	p=0,09 r=0,26	p=0,25 r=-0,17	p=0,12 r=-0,24	p=0,21 r=-0,19	p=0,82 r=-0,03	p=0,14 r=0,23	p=0,04 r=0,36	X	p=0,004 r=0,6	p=0,006 r=0,46	p=0,15 r=0,23
SES-CD w obróbie jelita krętego	p<0,0001 r=0,78	p=0,38 r=0,2	p=0,51 r=0,15	p=0,06 r=0,42	p=0,66 r=0,1	p=0,45 r=0,18	p=0,76 r=0,07	p=0,33 r=0,22	p=0,42 r=0,21	p=0,004 r=0,6	X	p=0,14 r=0,34	p=0,02 r=0,52
SEAS-CD	p=0,03 r=0,35	p=0,28 r=0,17	p=0,36 r=0,14	p=0,56 r=0,09	p=0,86 r=0,02	p=0,52 r=0,1	p=0,11 r=-0,25	p=0,38 r=0,14	p=0,35 r=0,17	p=0,006 r=0,46	p=0,14 r=0,34	X	p<0,0001 r=0,9
SEAS-CD w obróbie jelita krętego	p=0,003 r=0,46	p=0,43 r=0,12	p=0,68 r=-0,06	p=0,23 r=0,19	p=0,73 r=0,05	p=0,78 r=0,04	p=0,16 r=-0,22	p=0,82 r=-0,03	p=0,87 r=0,03	p=0,15 r=0,23	p=0,02 r=0,52	p<0,0001 r=0,9	X

III Charakterystyka chorych z ChLC z izolowaną lokalizacją zmian zapalnych w jelicie grubym

1. Statystyka opisowa

Charakterystykę kliniczno-epidemiologiczną, wyniki badań laboratoryjnych, endoskopowych (SES-CD) wśród chorych z izolowaną lokalizacją zmian zapalnych w jelicie grubym przedstawiono w tabelach 11 i 12.

Tabela 11 Charakterystyka chorych z ChLC z lokalizacją zmian w jelicie grubym.

Cecha	n=22
Płeć – kobieta/mężczyzna n (%)	15/7 (68%/32%)
Fenotyp ChLC – n (%)	
Zapalny	21 (95%)
Penetrujący (przetoki)	9 (41%)
Zwężający	3 (13%)
Lokalizacja zmian chorobowych – n (%)	
Jelito grube	22 (100%)
Leczenie chirurgiczne w wywiadzie – n (%)	9 (41%)
Aktywność kliniczna wg CDAI – n (%)	
Remisja <150 pkt.	6 (27%)
Mała aktywność 150-219 pkt.	6 (27%)
Średnia aktywność 220-450 pkt.	10 (46%)
Duża aktywność >450 pkt.	0 (0%)
Pobierane leki – n (%)	
5-ASA	22 (100%)
AZA	16 (72%)
Steroidy	12 (56%)
Antybiotyki	10 (45%)
Probiotyki	9 (41%)
Anty-TNF	0 (0%)

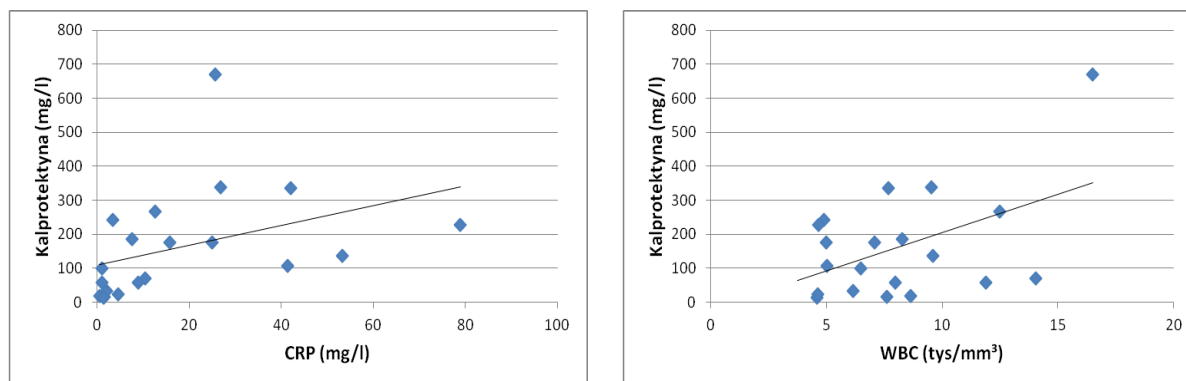
Tabela 12. Charakterystyka kliniczna oraz wyniki badań dodatkowych w grupie chorych z lokalizacją zmian w jelicie grubym.

Cecha (jednostka pomiarowa)	Średnia	Odchylenie standardowe (SD)	Mediana (95% CI)	Minimum	Maksimum
Wiek (lata)	34	10	34 (30 – 39)	17	54
Kalprotektyna (mg/l)	162,2	158,9	121,9 (87,8 – 236,6)	13,8	670,2
Czas od pojawienia się objawów ChLC (lata)	11	7	12 (8 - 15)	0,5	29
Czas od postawienia diagnozy ChLC (lata)	7	7	5 (4 - 11)	0	29
Białko C-reaktywne (mg/l)	17,5	20,6	9,7 (8,3 – 26,7)	0,5	78,9
Odczyn Biernackiego (mm/h)	31	22	26 (21 – 341)	5	100
Erytrocyty (mln/mm ³)	4,5	0,5	4,5 (4,2 – 4,7)	3,4	5,5
Hemoglobina (g/dl)	12,9	1,5	13,3 (12,2 – 13,6)	8,4	15,2
Hematokryt (%)	39	4	39 (37 – 40)	27	45
Leukocyty (tys/mm ³)	8,2	3,6	7,6 (6,6 – 9,8)	3,7	16,5
Płytki krwi (tys/mm ³)	323	88	304 (285 – 363)	214	545
Fibrynogen (mg/dl)	474	114	520 (402 – 547)	265	590
CDAI (pkt.)	204	112	217 (152 – 257)	12	396
SES-CD w obrębie jelita grubego (pkt.)	11	7	12 (8 – 15)	2	25

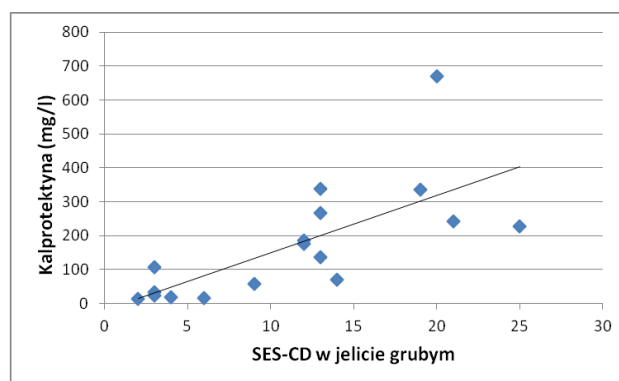
2. Analiza korelacji

Wyniki analizy istotnych korelacji między stężeniem kalprotektyny w kale a parametrami biochemicznymi, obrazem endoskopowym przedstawiono na rycinach 8 i 9. Nie prezentowano analizy zależności między kalprotektyną a GCDA z uwagi na

fakt, że wartość GCDA w omawianej grupie jest tożsama z wartością całkowitego indeksu SES-CD.



Ryc. 8 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w kale a CRP ($p=0,0009$; $r=0,68$) oraz ilością leukocytów – WBC ($p=0,03$; $r=0,48$).



Ryc. 9 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w stolcu a aktywnością endoskopową ChLC w jelicie grubym – SES-CD ($p=0,0002$; $r=0,78$).

Tabela 13 prezentuje natomiast wyniki korelacji między wszystkimi badanymi parametrami klinicznymi, biochemicznymi i endoskopowymi.

Tabela 13. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami biochemiczno-klinicznymi w grupie chorych z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie grubym

X	Kalprotektyna (mg/l)	Białko C-reaktywne (mg/l)	OB. (mm/h)	Erytrocyty (mln/mm ³)	Hemoglobina (g/dl)	Hematokryt (%)	Leukocyty (tys/mm ³)	Płytki krwi (tys/mm ³)	Fibrynogen (mg/dl)	CDAI	SES-CD w obrębie jelita grubego
Kalprotektyna (mg/l)	X	p=0,0009 r=0,68	p=0,2 r=0,29	p=0,96 r=-0,01	p=0,32 r=-0,23	p=0,44 r=-0,18	p=0,03 r=0,48	p=0,92 r=0,02	p=0,77 r=0,02	p=0,54 r=0,15	p=0,0002 r=0,78
Białko C-reaktywne (mg/l)	p=0,0009 r=0,68	X	p=0,001 r=0,64	p=0,16 r=-0,3	p=0,002 r=-0,61	p=0,006 r=-0,51	p=0,3 r=0,22	p=0,29 r=0,23	p=0,2 r=0,23	p=0,09 r=0,37	p=0,01 r=0,57
OB. (mm/h)	p=0,2 r=0,29	p=0,001 r=0,64	X	p=0,1 r=-0,35	p=0,0001 r=-0,72	p=0,001 r=-0,63	p=0,43 r=0,23	p=0,01 r=0,5	p=0,17 r=0,41	p=0,05 r=0,43	p=0,009 r=0,57
Erytrocyty (mln/mm ³)	p=0,96 r=-0,01	p=0,16 r=-0,3	p=0,1 r=-0,35	X	p=0,02 r=0,48	p=0,003 r=0,6	p=0,44 r=0,16	p=0,05 r=0,41	p=0,5 r=-0,19	p=0,001 r=-0,65	p=0,79 r=0,06
Hemoglobina (g/dl)	p=0,32 r=-0,23	p=0,002 r=-0,61	p=0,0001 r=-0,72	p=0,02 r=0,48	X	p<0,0001 r=0,96	p=0,97 r=0,006	p=0,36 r=-0,2	p=0,09 r=-0,5	p=0,05 r=-0,44	p=0,06 r=-0,43
Hematokryt (%)	p=0,44 r=-0,18	p=0,006 r=-0,51	p=0,001 r=-0,63	p=0,003 r=0,6	p<0,0001 r=0,96	X	p=0,67 r=0,09	p=0,88 r=-0,03	p=0,18 r=-0,4	p=0,03 r=-0,48	p=0,24 r=-0,28
Leukocyty (tys/mm ³)	p=0,03 r=0,48	p=0,3 r=0,22	p=0,43 r=0,23	p=0,44 r=0,16	p=0,97 r=0,006	p=0,67 r=0,09	X	p=0,07 r=0,38	p=0,23 r=0,37	p=0,65 r=-0,1	p=0,09 r=0,39
Płytki krwi (tys/mm ³)	p=0,92 r=0,02	p=0,29 r=0,23	p=0,01 r=0,5	p=0,05 r=0,41	p=0,36 r=-0,2	p=0,88 r=-0,03	p=0,07 r=0,38	X	p=0,04 r=0,57	p=0,24 r=-0,27	p=0,09 r=0,39
Fibrynogen (mg/dl)	p=0,77 r=0,02	p=0,2 r=0,23	p=0,17 r=0,41	p=0,5 r=-0,19	p=0,09 r=-0,5	p=0,18 r=-0,4	p=0,23 r=0,37	p=0,04 r=0,57	X	p=0,63 r=0,17	p=0,32 r=0,32
CDAI	p=0,54 r=0,15	p=0,09 r=0,37	p=0,05 r=0,43	p=0,001 r=-0,65	p=0,05 r=-0,44	p=0,03 r=-0,48	p=0,65 r=-0,1	p=0,24 r=-0,27	p=0,63 r=0,17	X	p=0,48 r=0,17
SES-CD w obrębie jelita grubego	p=0,0002 r=0,78	p=0,01 r=0,57	p=0,009 r=0,57	p=0,79 r=0,06	p=0,06 r=-0,43	p=0,24 r=-0,28	p=0,09 r=0,39	p=0,09 r=0,39	p=0,32 r=0,32	p=0,48 r=0,17	X

IV Charakterystyka chorych z ChLC z lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim i grubym

1. Statystyka opisowa

Charakterystykę kliniczno-epidemiologiczną, wyniki badań laboratoryjnych, endoskopowych (SES-CD), obrazowych (SEAS-CD) oraz całkowitą aktywność ChLC (GCDA) wśród chorych z lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim i grubym przedstawiono w tabelach 14 i 15.

Tabela 14. Charakterystyka chorych z ChLC z lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim i grubym.

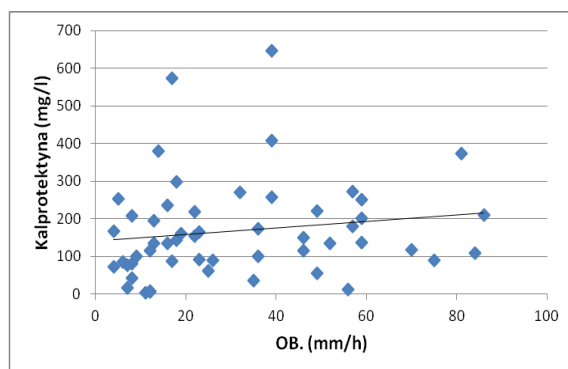
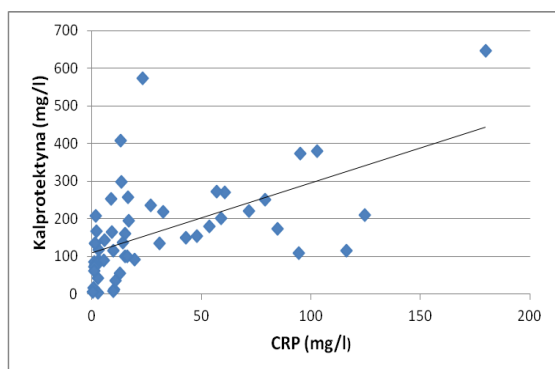
Cecha	n=54
Płeć – kobieta/mężczyzna n (%)	25/29 (46%/54%)
Fenotyp ChLC – n (%)	
Zapalny	53 (98%)
Penetrujący (przetoki)	19 (35%)
Zwężający	7 (12%)
Lokalizacja zmian chorobowych – n (%)	
Jelito kręte	49 (91%)
Jelito kręte i czcze	3 (5%)
Jelito czcze	2 (4%)
Jelito grube	54 (100%)
Leczenie operacyjne w wywiadzie – n (%)	16 (29%)
Aktywność kliniczna wg CDAI – n (%)	
Remisja <150 pkt.	14 (26%)
Mała aktywność 150-219 pkt.	15 (28%)
Średnia aktywność 220-450 pkt.	24 (44%)
Duża aktywność >450 pkt.	1 (2%)
Pobierane leki – n (%)	
5-ASA	49 (91%)
AZA	32 (59%)
Steroidy	26 (48%)
Antybiotyki	19 (35%)
Probiotyki	24 (44%)
Anty-TNF	0 (0%)

Tabela 15. Charakterystyka kliniczna oraz wyniki badań dodatkowych w grupie chorych ze zmianami w jelicie cienkim i grubym w przebiegu ChLC.

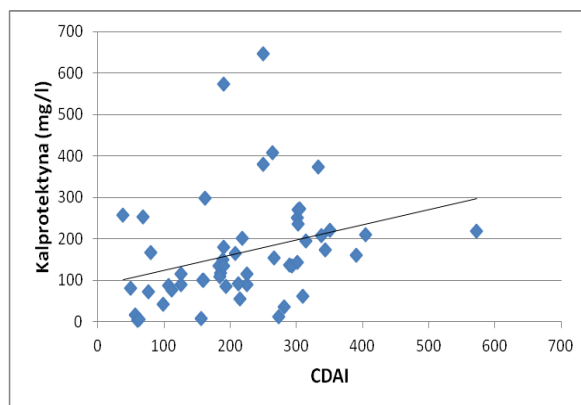
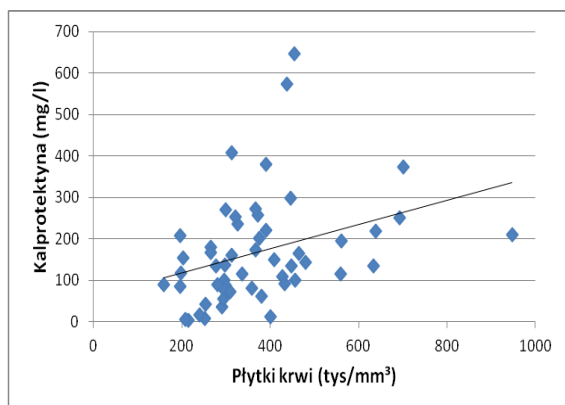
Cecha (jednostka pomiarowa)	Średnia	Odchylenie standardowe (SD)	Mediana (95% CI)	Minimum	Maksimum
Wiek (lata)	31	13	28 (27 – 34)	18	69
Kalprotektyna (mg/l)	167,4	130,2	137,6 (131,5 – 203,4)	4,0	647,6
Czas od pojawienia się objawów ChLC (lata)	7	5	6 (5 - 8)	0,5	23
Czas od postawienia diagnozy ChLC (lata)	5	4	3 (3 - 6)	0	20
Białko C-reaktywne (mg/l)	31,3	39,4	13,7 (20,5 – 42,1)	0,3	179,7
Odczyn Biernackiego (mm/h)	31	23	23 (24 – 37)	4	86
Erytrocyty (mln/mm ³)	4,6	0,7	4,6 (4,4 – 4,8)	3,1	6,0
Hemoglobina (g/dl)	12,3	2,1	12,1 (11,8 – 12,8)	8,3	16,3
Hematokryt (%)	37	6	37 (36 – 39)	26	50
Leukocyty (tys/mm ³)	8,2	3,6	7,4 (7,2 – 9,2)	3,2	19,8
Płytki krwi (tys/mm ³)	376	150	347 (335 – 417)	159	947
Fibrynogen (mg/dl)	463	146	426 (418 – 509)	221	758
CDAI (pkt.)	220	113	208 (188 – 252)	38	572
SES-CD w obrębie jelita krętego (pkt.)	5	3	4 (4 – 6)	0	12
SES-CD w obrębie jelita grubego (pkt.)	8	6	6 (6 – 10)	2	25
SES-CD całkowity (pkt.)	14	8	12 (11 – 18)	4	33
SEAS-CD – jelito czcze i kręte (pkt.)	11	5	11 (9 – 12)	2	19
SEAS-CD w obrębie jelita krętego (pkt.)	11	5	10 (9 – 12)	0	19
GCDA (pkt.)	17	9	18 (15 – 20)	2	36

2. Analiza korelacji

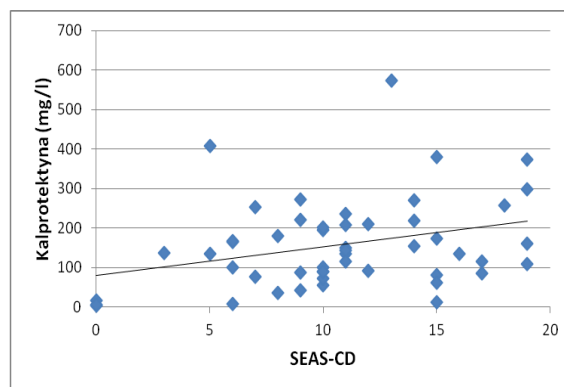
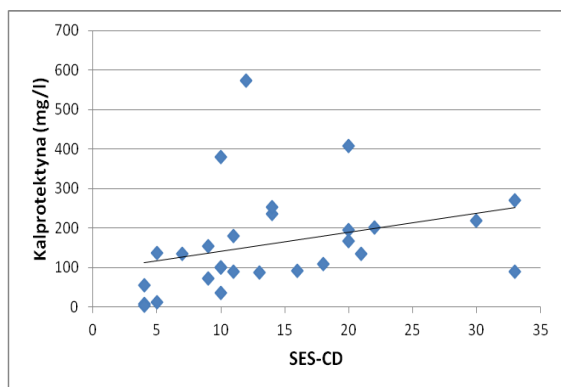
Wybrane zależności dotyczące stężenia kalprotektyny w kale i innych parametrów przedstawiono na rycinach 10-13.



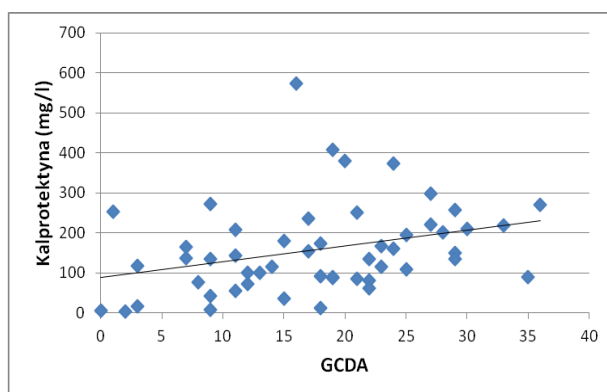
Ryc. 10 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w kale a CRP ($p < 0,0001$; $r = 0,62$) oraz OB ($p = 0,04$; $r = 0,28$).



Ryc. 11 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w kale a płytkami krwi ($p = 0,0006$; $r = 0,45$) oraz CDAI ($p = 0,0006$; $r = 0,46$).



Ryc. 12 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w kale a SES-CD ($p=0,006$; $r=0,51$) oraz SEAS-CD ($p=0,04$; $r=0,28$).



Ryc. 13 Korelacja między stężeniem kalprotektyny w kale a całkowitą aktywnością ChLC – GCDA ($p=0,003$; $r=0,39$).

Tabela 16 prezentuje wyniki korelacji między wszystkimi badanymi parametrami klinicznymi, biochemicznymi, endoskopowymi i obrazowymi w badanej podgrupie chorych.

Tabela 16. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami biochemiczno-klinicznymi w grupie chorych z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie cienkim i grubym (część 1).

X	Kalprotektyna (mg/l)	Białko C-reaktywne (mg/l)	OB. (mm/h)	Erytrocyty (mln/mm ³)	Hemoglobina (g/dl)	Hematokryt (%)	Leukocyty (tys/mm ³)	Płytki krwi (tys/mm ³)	Fibrynogen (mg/dl)	CDAI	SES-CD w obrębie jelita krętego	SES-CD w obrębie jelita grubego	SES-CD całkowity	SEAS-CD	SEAS-CD w obrębie jelita krętego	GCD
Kalprotektyna (mg/l)	X	p<0,0001 r=0,62	p=0,04 r=0,28	p=0,2 r=0,17	p=0,2 r=-0,17	p=0,3 r=-0,14	p=0,22 r=0,16	p=0,0006 r=0,45	p=0,22 r=0,19	p=0,0006 r=0,46	p=0,03 r=0,39	p=0,001 r=0,45	p=0,0062 r=0,51	p=0,04 r=0,28	p=0,07 r=0,25	p=0,003 r=0,39
Białko C-reaktywne (mg/l)	p<0,0001 r=0,62	X	p<0,0001 r=0,63	p=0,96 r=0,006	p=0,08 r=-0,23	p=0,08 r=-0,23	p=0,009 r=0,35	p<0,0001 r=0,58	p<0,0001 r=0,72	p<0,0001 r=0,52	p=0,03 r=0,39	p=0,005 r=0,39	p=0,1 r=0,31	p=0,005 r=0,39	p=0,005 r=0,38	p<0,0001 r=0,52
OB. (mm/h)	p=0,04 r=0,28	p<0,0001 r=0,63	X	p=0,005 r=-0,37	p=0,0009 r=-0,43	p=0,0004 r=-0,46	p=0,6 r=0,07	p=0,007 r=0,36	p<0,0001 r=0,71	p=0,001 r=0,44	p=0,92 r=-0,01	p=0,006 r=0,38	p=0,33 r=0,19	p=0,12 r=0,22	p=0,17 r=0,19	p=0,001 r=0,42
Erytrocyty (mln/mm ³)	p=0,2 r=0,17	p=0,96 r=0,006	p=0,005 r=-0,37	X	p<0,0001 r=0,67	p<0,0001 r=0,76	p=0,4 r=0,11	p=0,54 r=-0,08	p=0,53 r=0,09	p=0,24 r=-0,16	p=0,02 r=0,41	p=0,26 r=-0,16	p=0,99 r=0,0006	p=0,91 r=0,01	p=0,98 r=-0,002	p=0,33 r=-0,13
Hemoglobina (g/dl)	p=0,2 r=-0,17	p=0,08 r=-0,23	p=0,0009 r=-0,43	p<0,0001 r=0,67	X	p<0,0001 r=0,95	p=0,08 r=0,05	p=0,003 r=-0,39	p=0,84 r=-0,02	p=0,01 r=-0,33	p=0,49 r=0,13	p=0,002 r=-0,42	p=0,07 r=-0,35	p=0,02 r=-0,32	p=0,02 r=-0,32	p=0,0002 r=-0,49
Hematokryt (%)	p=0,3 r=-0,14	p=0,08 r=-0,23	p=0,0004 r=-0,46	p<0,0001 r=0,76	p<0,0001 r=0,95	X	p=0,77 r=0,03	p=0,003 r=-0,38	p=0,88 r=-0,02	p=0,006 r=-0,37	p=0,52 r=0,12	p=0,005 r=-0,39	p=0,06 r=-0,35	p=0,03 r=-0,3	p=0,02 r=-0,32	p=0,0007 r=-0,45
Leukocyty (tys/mm ³)	p=0,22 r=0,16	p=0,009 r=0,35	p=0,6 r=0,07	p=0,4 r=0,11	p=0,08 r=0,05	p=0,77 r=0,03	X	p=0,0003 r=0,47	p=0,14 r=0,22	p=0,02 r=0,3	p=0,28 r=0,21	p=0,98 r=0,003	p=0,1 r=0,3	p=0,15 r=0,2	p=0,08 r=0,24	p=0,34 r=-0,13
Płytki krwi (tys/mm ³)	p=0,0006 r=0,45	p<0,0001 r=0,58	p=0,007 r=0,36	p=0,54 r=-0,08	p=0,003 r=-0,39	p=0,003 r=-0,38	p=0,0003 r=0,47	X	p=0,005 r=0,42	p=0,0003 r=0,48	p=0,3 r=0,18	p=0,01 r=0,34	p=0,13 r=0,29	p=0,01 r=0,34	p=0,01 r=0,34	p=0,001 r=0,42
Fibrynogen (mg/dl)	p=0,22 r=0,19	p<0,0001 r=0,72	p<0,0001 r=0,71	p=0,53 r=0,09	p=0,84 r=-0,02	p=0,88 r=-0,02	p=0,14 r=0,22	p=0,005 r=0,42	X	p=0,09 r=0,26	p=0,57 r=0,12	p=0,57 r=0,12	p=0,77 r=0,06	p=0,02 r=0,37	p=0,02 r=0,38	p=0,01 r=0,38

Tabela 16. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami biochemiczno-klinicznymi w grupie chorych z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie cienkim i grubym (część 2).

X	Kalprotektyna (mg/l)	Białko C- reaktywne (mg/l)	OB. (mm/h)	Erytrocyty (mln/mm ³)	Hemoglobina (g/dl)	Hematokryt (%)	Leukocyty (tys/mm ³)	Płytki krwi (tys/mm ³)	Fibrynogen (mg/dl)	CDAI	SES-CD w obróbie jelita krętego	SES-CD w obróbie jelita grubego	SES-CD całkowity	SEAS-CD	SEAS-CD w obróbie jelita krętego	GCDA
CDAI	p=0,0006 r=0,46	p<0,0001 r=0,52	p=0,001 r=0,44	p=0,24 r=-0,16	p=0,01 r=-0,33	p=0,006 r=-0,37	p=0,02 r=0,3	p=0,0003 r=0,48	p=0,09 r=0,26	X	p=0,13 r=0,3	p=0,02 r=0,32	p=0,25 r=0,23	p=0,03 r=0,3	p=0,008 r=0,37	p=0,006 r=0,37
SES-CD w obróbie jelita krętego	p=0,03 r=0,39	p=0,03 r=0,39	p=0,92 r=-0,01	p=0,02 r=0,41	p=0,49 r=0,13	p=0,52 r=0,12	p=0,28 r=0,21	p=0,3 r=0,18	p=0,57 r=0,12	p=0,13 r=0,3	X	p=0,17 r=0,2	p=0,0004 r=0,63	p=0,001 r=0,57	p=0,005 r=0,58	p=0,02 r=0,44
SES-CD w obróbie jelita grubego	p=0,001 r=0,45	p=0,005 r=0,39	p=0,006 r=0,38	p=0,26 r=-0,16	p=0,002 r=-0,42	p=0,005 r=-0,39	p=0,98 r=0,003	p=0,01 r=0,34	p=0,57 r=0,12	p=0,02 r=0,32	p=0,17 r=0,2	X	p<0,0001 r=0,87	p=0,3 r=0,14	p=0,41 r=0,12	p<0,0001 r=0,79
SES-CD całkowity	p=0,0062 r=0,51	p=0,1 r=0,31	p=0,33 r=0,19	p=0,99 r=0,0006	p=0,07 r=-0,35	p=0,06 r=-0,35	p=0,1 r=0,3	p=0,13 r=0,29	p=0,77 r=0,06	p=0,25 r=0,23	p=0,0004 r=0,63	p<0,0001 r=0,87	X	p=0,11 r=0,3	p=0,11 r=0,31	p<0,0001 r=0,81
SEAS-CD	p=0,04 r=0,28	p=0,005 r=0,39	p=0,12 r=0,22	p=0,91 r=0,01	p=0,02 r=-0,32	p=0,03 r=-0,3	p=0,15 r=0,2	p=0,01 r=0,34	p=0,02 r=0,37	p=0,03 r=0,3	p=0,001 r=0,57	p=0,3 r=0,14	p=0,11 r=0,3	X	p<0,0001 r=0,97	p<0,0001 r=0,62
SEAS-CD w obróbie jelita krętego	p=0,07 r=0,25	p=0,005 r=0,38	p=0,17 r=0,19	p=0,98 r=-0,002	p=0,02 r=-0,32	p=0,02 r=-0,32	p=0,08 r=0,24	p=0,01 r=0,34	p=0,02 r=0,38	p=0,008 r=0,37	p=0,005 r=0,58	p=0,41 r=0,12	p=0,11 r=0,31	p<0,0001 r=0,97	X	p<0,0001 r=0,59
GCDA	p=0,003 r=0,39	p<0,0001 r=0,52	p=0,001 r=0,42	p=0,33 r=-0,13	p=0,0002 r=-0,49	p=0,0007 r=-0,45	p=0,34 r=-0,13	p=0,001 r=0,42	p=0,01 r=0,38	p=0,006 r=0,37	p=0,02 r=0,44	p<0,0001 r=0,79	p<0,0001 r=0,81	p<0,0001 r=0,62	p<0,0001 r=0,59	X

V Porównanie wybranych parametrów oceniających aktywność ChLC w zależności od lokalizacji zmian chorobowych

Dokonano analizy porównawczej stężeń kalprotektyny w stolcu, CRP w surowicy krwi (aktywność biochemiczna ChLC) oraz CDAI (aktywność kliniczna) i GCDA (całkowita aktywność ChLC oceniana metodami obrazowymi i endoskopowymi) w zależności od lokalizacji zmian chorobowych. Wyniki przedstawiono w tabeli 17.

Tabela 17. Porównanie stężeń kalprotektyny, CRP, CDAI oraz GCDA w zależności od lokalizacji zmian chorobowych.

Lokalizacja ChLC	Jelito cienkie (L1)	Jelito grube (L2)	ChLC jelita cienkiego i grubego (L3)	Współczynnik p (L1/L2; L1/L3; L2/L3)
Kalprotektyna (mg/l)	114,9±77,4	162,2±158,9	167,4±130,2	0,54; 0,02 ; 0,42
CRP (mg/l)	17,1±19,6	17,5±20,6	31,3±39,4	0,64; 0,44; 0,2
CDAI (pkt.)	190±98	204±112	220±113	0,8; 0,13; 0,85
GCDA	13±5	11±7	17±9	0,06 ; 0,004 ; 0,002

W przypadku izolowanej lokalizacji zmian w jelicie cienkim, wartość GCDA jest równoznaczna z wynikiem całkowitej aktywności ocenianej w enterografii MR – SEAS-CD. W przypadku izolowanej lokalizacji zmian chorobowych w jelicie grubym, wartość GCDA jest równoznaczna z wynikiem całkowitej aktywności ocenianej kolonoskopowo – SES-CD w zakresie jelita grubego.

VI Porównanie stężeń kalprotektyny w stolcu w poszczególnych podgrupach chorych w zależności od aktywności klinicznej ChLC

Dokonano analizy różnic w stężeniu kalprotektyny w kale w zależności od aktywności klinicznej ChLC ocenianej na podstawie CDAI. Z analizy wykluczono 1 chorego, u którego CDAI wynosiło powyżej 450 pkt. Wyniki przedstawiono w tabelach 18-21.

Tabela 18. Porównanie stężeń kalprotektyny w kale w zależności od aktywności klinicznej ChLC w całej grupie badanej.

CDAI	<150	151-219	≥220
Kalprotektyna (mg/l)	97,6 ± 71,4	141,2 ± 112,9	189,9 ± 144,5
• CDAI<150 vs CDAI 150-219 → p=0,09 • CDAI<150 vs CDAI ≥ 220 → <u>p=0,001</u> • CDAI 150-219 vs CDAI ≥ 220 → p=0,08			

Tabela 19. Porównanie stężeń kalprotektyny w kale w zależności od aktywności klinicznej ChLC u chorych z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie cienkim.

CDAI	<150	151-219	≥220
Kalprotektyna (mg/l)	91,5 ± 64,9	139,3 ± 100,2	121,2 ± 64,3
• CDAI<150 vs CDAI 150-219 → p=0,07 • CDAI<150 vs CDAI ≥ 220 → p=0,2 • CDAI 150-219 vs CDAI ≥ 220 → p=0,5			

Tabela 20. Porównanie stężeń kalprotektyny w kale w zależności od aktywności klinicznej ChLC u chorych z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie grubym.

CDAI	<150	151-219	≥220
Kalprotektyna (mg/l)	117,5 ± 69,1	118,4 ± 110,4	216,3 ± 209,8
• CDAI<150 vs CDAI 150-219 → p=0,8 • CDAI<150 vs CDAI ≥ 220 → p=0,2 • CDAI 150-219 vs CDAI ≥ 220 → p=0,1			

Tabela 21. Porównanie stężeń kalprotektyny w kale w zależności od aktywności klinicznej ChLC u chorych z lokalizacją zmian zapalnych w jelicie cienkim i jelicie grubym.

CDAI	<150	151-219	≥220
Kalprotektyna (mg/l)	97,6 ± 80,1	160,1 ± 132,4	212,5 ± 140,5
• CDAI<150 vs CDAI 150-219 → p=0,05 • CDAI<150 vs CDAI ≥ 220 → <u>p=0,003</u> • CDAI 150-219 vs CDAI ≥ 220 → p=0,09			

5. Dyskusja

Cała grupa badana – omówienie wyników

Diagnoza i leczenie pacjenta z ChLC jest dla lekarzy nadal bardzo trudnym wyzwaniem. Najbardziej obiektywnym świadectwem takiego stanu rzeczy jest okres od pojawienia się pierwszych symptomów choroby do postawienia rozpoznania. Odzwierciedla on to, z jak dużym opóźnieniem rozpoznaje się ChLC. Należy pamiętać, że ChLC ma swój naturalny przebieg. W początkowym etapie choroby dominują objawy wynikające z aktywności procesu zapalnego. Zastosowanie odpowiednio zindywidualizowanego leczenia, daje szansę na uzyskanie korzystniejszych odległych wyników terapeutycznych. Natomiast w kolejnych etapach, zwłaszcza przy opóźnionej diagnozie i zbyt późno zastosowanym leczeniu, często dochodzi do nieodwracalnych zmian w przewodzie pokarmowym, wśród których dominują przetoki czy zwężenia [59].

W grupie chorych różnica w okresie od wystąpienia pierwszych objawów, do momentu postawienia diagnozy ChLC, wyniosła około 3 lata. Tak długi okres był związany często z początkowo bardzo nieswoistymi symptomami. Choroba dotyczy w większości młodych ludzi w szczycie ich aktywności życiowej, co nie pozostaje bez znaczenia dla procesu diagnostyczno-terapeutycznego. W związku z bardzo dużym odsetkiem pacjentów cierpiących na zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego, duża część tych chorych jest początkowo podejrzewana o tego rodzaju schorzenia [60]. Wyniki podstawowych badań laboratoryjnych mogą być prawidłowe [23,61]. Rzadko więc w takich sytuacjach sięga się po

diagnostykę inwazyjną, jaką jest ocena endoskopowa przewodu pokarmowego. Ważne znaczenie odgrywa także problem kosztów badań dodatkowych i związana z tym kwestia racjonalizacji kosztów procesu diagnostycznego u młodych chorych z bólami brzucha czy zaburzeniami rytmu wypróżnień. W tym aspekcie przydatność oznaczania kalprotektyny nie budzi wątpliwości. W wielu pracach wykazano, że pomiar stężenia kalprotektyny w stolcu może służyć do różnicowania między czynnościowymi, a organicznymi zaburzeniami przewodu pokarmowego [62-66]. Szczególnie ważnym problemem jest kwestia przydatności tego badania w weryfikowaniu wskazań do dalszej inwazyjnej diagnostyki, głównie do badań endoskopowych. Wydaje się bowiem, że wdrożenie powszechniejszego, niż do tej pory, zastosowania badania kalprotektyny w stolcu pozwoli wyodrębnić chorych, u których wykonanie kolonoskopii jest bezwzględnie konieczne. Tylko taka strategia postępowania daje szanse na poprawę niekorzystnych statystyk dotyczących zbyt późnej wykrywalności ChLC. Istotnym jest pytanie, czy zastosowanie tego nieinwazyjnego badania jest uzasadnione z farmakoekonomicznego punktu widzenia. Odpowiedzi na to pytanie udziela największa z przeprowadzonych dotychczas meta analiz, dotycząca zastosowania oznaczania kalprotektyny w diagnostyce różnicowej czynnościowych i organicznych chorób przewodu pokarmowego autorstwa van Rheenena i wsp., pochodząca z 2010 roku. Wykazano w niej, że zastosowanie oceny stężenia kalprotektyny w kale u chorych z podejrzeniem NChZJ, jako badania wyjściowego, może zmniejszyć o prawie 70% odsetek pacjentów niepotrzebnie poddawanych kolonoskopii [52]. Pokazuje to więc, że badanie kalprotektyny w stolcu, oprócz najważniejszych korzyści czysto medycznych

(wcześniejsza diagnoza chorób z kręgu NChZJ, wcześniej rozpoczęta terapia), może być także opłacalne.

Kolejnym aspektem przemawiającym na korzyść szerszego zastosowania nowych, nieinwazyjnych metod w ocenie aktywności ChLC jest to, że badania endoskopowe (głównie ileokolonoskopia) uznawane aktualnie za tzw. „złoty standard” diagnostyczny, mają szereg mankamentów. Przede wszystkim wykonanie takiego badania zazwyczaj wiąże się z koniecznością hospitalizacji, co dla grupy chorych z NChZJ, będących zwykle ludźmi młodymi, aktywnymi zawodowo, jest często sporym utrudnieniem. Ponadto konieczne jest specjalne przygotowanie jelita poprzez zastosowanie środków przeczyszczających. Dla części chorych, szczególnie z ChLC, jest to trudne i mało komfortowe [67]. Może być to spowodowane nie tylko brakiem współpracy ze strony chorego, ale przede wszystkim samą chorobą przewodu pokarmowego, w przebiegu której nierzadko dochodzi do zmian strukturalnych (przetoki, zwężenia) istotnie utrudniających właściwe przygotowanie się do kolonoskopii. Następstwem tego może być brak możliwości pełnej oceny zmian śluzówkowych z powodu zanieczyszczenia jelita. Ponadto samo badanie, z uwagi na wskazane powyżej powikłania ChLC, jest często trudniejsze technicznie, niż w przypadku osób bez zmian w obrębie przewodu pokarmowego. Jak pokazują dane literaturowe, odsetek intubacji jelita krętego u chorych, u których planuje się wykonanie pełnej ileokolonoskopii, nie przekracza zwykle 90%, natomiast częstość osiągnięcia kątnicy oscyluje w granicach 95% przeprowadzanych endoskopii [68]. Obecność zwężeń przewodu pokarmowego w ChLC dodatkowo pogarsza te statystyki, tak więc przeprowadzenie badania endoskopowego z oceną zarówno jelita grubego, jak i

dystalnego odcinka jelita krętego, jest niekiedy zupełnie niemożliwe. Jest to istotnym ograniczeniem technik endoskopowych. A właśnie ocena jelita krętego jest często kluczowa dla właściwego rozpoznania i/lub monitorowania przebiegu ChLC.

W grupie badanej kolonoskopię udało się wykonać u 90% (108/120) chorych (u 12 chorych wykonanie badania było niemożliwe ze względów technicznych, anestezyjologicznych lub z powodu braku zgody chorych). Spośród 108 chorych poddanych kolonoskopii 10% miało ewidentne zwężenie, uniemożliwiające pełne badanie. Intubacja jelita cienkiego udała się u 65% pozostałych badanych. Analizując powyższe dane można założyć, że zawsze będzie istniało ryzyko nierozpoznania zmian w wyniku niepełnego badania endoskopowego, szczególnie u pacjentów z lokalizacją zmian w obrębie jelita krętego, a w ogóle niemożliwa jest ocena proksymalnych odcinków jelita cienkiego. Efektem tego może być brak pełnej informacji o rzeczywistej aktywności ChLC i jej rozległości u części chorych. Pamiętać należy również o tym, że kolonoskopia może być obarczona ryzykiem groźnych powikłań takich, jak np. perforacja jelita [69]. Stąd też powinno być to brane pod uwagę przy wyborze optymalnej metody diagnostycznej u chorych, szczególnie w przypadkach, gdy badanie to jest wykonywane powtórnie w krótkim odstępie czasu. Nie bez znaczenia są także koszty kolonoskopii. Jest to procedura droga, często wymagająca zaangażowania większego zespołu lekarsko-pielęgniarskiego [70]. Jednak pomimo wskazanych powyżej ograniczeń i mankamentów badań endoskopowych u pacjentów z ChLC, nadal uważa się, że są to metody najobiektywniej odzwierciedlające aktywność procesu chorobowego. Wykazanie zjawiska gojenia się błony śluzowej

ocenianego endoskopowo u chorych leczonych biologicznie ma ważne znaczenie prognostyczne. Wiąże się bowiem z dłuższymi remisjami w obserwacjach długoterminowych, rzadszą koniecznością hospitalizacji czy interwencji chirurgicznych [71-73]. Zastosowanie kopromarkera - kalprotektyny, nie miałyby na celu wyeliminowania badań endoskopowych z panelu diagnostycznego stosowanego w ChLC. Mogłoby ono usprawnić i udoskonalić diagnostykę choroby oraz możliwości wiarygodnej oceny aktywności zmian zapalnych w przewodzie pokarmowym, szczególnie w ocenie efektów leczenia. Dotyczyć to powinno zwłaszcza chorych, u których pełna diagnostyka endoskopowa jest niemożliwa.

Jak wspomniano we wstępie pracy, dużym postęпом w diagnostyce ChLC było wprowadzenie technik enteroklyzy i enterografii MR lub CT [74,75,76]. Dają one możliwość dokładnej oceny zmian zapalnych w obrębie ściany jelita cienkiego, a także pozwalają na zobrazowanie nasilenia odczynu zapalnego w tkankach okołojelitowych (tkanka tłuszczowa, węzły chłonne). Najpowszechniej stosowaną metodą spośród powyżej wymienionych technik obrazowania narządów jamy brzusznej jest enterografia MR (EMR). Daje ona porównywalne efekty obrazowe jak enteroklyza, jednak jest bardziej akceptowana przez pacjentów ze względu na doustną formę przyjmowania środka kontrastowego [77]. Niestety u części chorych, szczególnie z wysoko zlokalizowanymi zmianami w jelicie cienkim lub objawami podniedrożności przewodu pokarmowego, przygotowanie do tego badania także sprawia trudności. Za stosowaniem EMR w przypadku pacjentów z ChLC przemawia brak narażenia na promieniowanie jonizujące, co zwiększa bezpieczeństwo przy powtarzaniu badań. Dzięki temu istnieje możliwość oceny zarówno progresji, jak i regresji zmian zapalnych. Pomimo tak dobrze

ugruntowanej pozycji EMR w diagnostyce chorych z ChLC, nie wypracowano jeszcze powszechnie akceptowanej i łatwej w użyciu skali oceny zmian widocznych w EMR. Wprowadzenie takiej skali dałoby szansę na obiektywizację wyników badań i umożliwiłoby porównywanie aktywności ChLC pomiędzy różnymi chorymi oraz śledzenie zmian aktywności choroby w czasie u jednego pacjenta. Skala zaproponowana przez Rimolę i wsp. (ang. Magnetic Resonance Index of Activity – MaRIA) cechuje się dobrą korelacją z obrazem endoskopowym, wymaga jednak skomplikowanych obliczeń [78]. Ponadto uwzględnia ona w ocenie MR także jelito grube i, aby cel ten osiągnąć, okrężnica wypełniana jest przez cewnik doodbytniczy odpowiednią objętością wody dla rozdęcia jego pętli. Zmienia więc to nieinwazyjny profil badania EMR. Inna skala oceny aktywności ChLC w EMR, będąca elementem składowym tak zwanego indeksu Lemmana, jest wciąż w trakcie opracowywania przez ekspertów ECCO [79]. W niniejszej pracy posłużono się autorską skalą SEAS-CD, stworzoną w Klinice Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych UMP we współpracy z Katedrą Radiologii UMP. Każdy z elementów składowych SEAS-CD odzwierciedla stopień nasilenia zmian zapalnych w przewodzie pokarmowym w ChLC. Przydatność SEAS-CD wykazano w niezależnej analizie na grupie 62 chorych z ChLC, u których równolegle wykonano EMR, a także dokonano oceny aktywności endoskopowej zmian w jelicie krętym przy pomocy skali SES-CD [57]. Korelacja między obrazami w EMR, wynikami badań biochemicznych, a przede wszystkim z endoskopią była znamienna statystycznie ($p < 0,0001$; $r = 0,7$). Prostota konstrukcji skali SEAS-CD oraz fakt, że wiarygodnie odzwierciedla ona aktywność ChLC, daje podstawy do zastosowania jej w codziennej praktyce klinicznej.

W analizie badanej grupy pod kątem lokalizacji choroby uzyskano wyniki bardzo zbliżone do danych literaturowych [7]. Odsetek chorych, u których występują zmiany w obrębie jelita cienkiego wynosi około 80% i podobny odsetek (82%) uzyskano w grupie badanej. Zmiany wyłącznie w obrębie jelita cienkiego stwierdzono u 37% badanych, co także jest zbliżone do wartości podawanych w piśmiennictwie [7]. Uzyskane wyniki wskazują jak duża jest grupa chorych, u których badanie endoskopowe może nie spełniać swojej roli. Dokładniejszą identyfikację tych pacjentów umożliwia wykorzystanie techniki EMR [80].

Uzyskane wyniki korelacji w całej grupie badanej wykazują podobne zależności, jakie prezentują inni badacze w analizach korelacji stężenia kalprotektyny z powszechnie uznanymi parametrami oceny aktywności ChLC, jak CRP, OB, stężenie hemoglobiny czy płytek krwi, a także z wartością CDAI oraz nasileniem zmian endoskopowych (SES-CD) [43,44,45,53]. Wykazano również istotną statystycznie zależność między stężeniem kalprotektyny w kale a nasileniem zmian zapalnych w EMR, jak i z całkowitą aktywnością ChLC (GCDA). Bardzo ważnym aspektem, wymagającym osobnego omówienia, jest problem przydatności kalprotektyny w prognozowaniu obecności aktywnych zmian zapalnych w badaniu kolonoskopowym. Jak wspomniano powyżej, białko to koreluje bowiem z aktywnością zmian ocenianych w skali SES-CD. W przeprowadzonej analizie statystycznej wykazano ponadto, że ocena obecności badanego białka w stolcu definitywnie różnicuje chorych z aktywnymi zmianami endoskopowymi (definiowanymi jako SES-CD > 3 pkt. wg Sipponen i wsp.) z pacjentami bez istotnych zmian w kolonoskopii (SES-CD ≤ 3 pkt. wg Sipponen i wsp.) [44]. Potwierdza to, że ocena stężenia kalprotektyny w stolcu pozwala lepiej

identyfikować chorych z nasilonymi wykładnikami procesu zapalnego. Wiemy, że ocena endoskopowa przewodu pokarmowego należy do najbardziej wiarygodnych narzędzi monitorowania przebiegu ChLC. Nie ustalono jednak klarownych kryteriów decydujących o tym kiedy i jak często takie badanie należy przeprowadzić. Istnieje więc ryzyko wdrażania zbyt agresywnej diagnostyki u chorych o *de facto* łagodnym przebiegu schorzenia. Z drugiej strony istnieje niebezpieczeństwo zbyt mało wnikliwego i precyzyjnego doboru badań diagnostycznych, szczególnie u chorych z umiarkowaną aktywnością ChLC. To z kolei może spowodować niedoszacowanie ciężkości przebiegu choroby, czego potencjalnym efektem jest zbyt mało intensywne leczenie, prowadzące do utraty kontroli nad nasilającym się procesem zapalnym w przewodzie pokarmowym. Wydaje się, że oznaczanie kalprotektyny w stolcu może właśnie pomóc w lepszej identyfikacji chorych wymagających agresywniejszej diagnostyki. Wpisuje się to w popularną we współczesnej medycynie ideę indywidualizacji procesu diagnostyczno-terapeutycznego.

Innym ważnym pytaniem jest, czy kalprotektyna pozwala na odróżnienie chorych z ChLC będących w remisji od pacjentów w poszczególnych fazach zaostrzenia. Pojęcia te zwyczajowo definiuje się na podstawie CDAI. Jak pokazała niniejsza praca, stężenie kalprotektyny wzrasta w miarę zwiększania się aktywności ChLC ocenianej poprzez CDAI. Ostatecznie jednak badanie to pozwala jedynie na odróżnienie chorych będących w remisji (CDAI < 150 pkt.) od chorych z zaostrzeniem o nasileniu umiarkowanym bądź ciężkim (CDAI > 220 pkt.). Natomiast nie odróżnia chorych będących w remisji od chorych z łagodnym zaostrzeniem oraz tej drugiej grupy od chorych z umiarkowanym, bądź ciężkim

zaostreniem ChLC. Świadczy to najprawdopodobniej o słabej przydatności CDAI w identyfikowaniu chorych z ChLC z obecnością toczącego się aktywnego procesu zapalnego o łagodnym nasileniu w przewodzie pokarmowym. Podobne wyniki uzyskała Sipponen i wsp. [44]. Można więc stwierdzić, że stosowanie CDAI jako jedynego kryterium aktywności ChLC, niesie ze sobą duże ryzyko niedoszacowania rzeczywistej aktywności zapalnej. Stawia to pod znakiem zapytania zasadność używania CDAI, jako głównego narzędzia do oceny aktywności ChLC. A właśnie taka ocena dominuje w przypadku wielu badań klinicznych w tym schorzeniu.

Grupa pacjentów ze zmianami zlokalizowanymi w jelicie cienkim –

omówienie wyników

Przydatność oznaczania stężenia kalprotektyny w kale u pacjentów z lokalizacją zmian w jelicie cienkim budzi najwięcej kontrowersji. Istnieje niewiele doniesień analizujących ten aspekt zastosowania kopromarkerów. Wynikać to może z trudności diagnostycznych, jakie dotyczą tego obszaru przewodu pokarmowego. Istnieją pojedyncze doniesienia odnoszące stężenia kalprotektyny w kale u chorych z ChLC do wyników badań endoskopowych jelita cienkiego. Koulaouzidis i współpracownicy badali przydatność oceny kalprotektyny w stolcu u chorych z podejrzeniem ChLC jelita cienkiego, u których nie potwierdzono choroby w badaniu gastroscopowym i kolonoskopowym, i u których w ramach uzupełnienia diagnostyki wykonano endoskopię kapsułkową. Wykazano, że podwyższone wartości kalprotektyny w stolcu mogą wskazywać na obecność patologii w jelicie

cienkim, natomiast prawidłowe lub nieznacznie podwyższone stężenia tego białka prognozują brak odchyłań stwierdzanych w badaniu kapsułką endoskopową [81]. Podobne badanie przeprowadzili Sipponen i wsp., którzy w grupie 84 chorych z podejrzeniem ChLC jelita cienkiego badali przydatność kalprotektyny w prognozowaniu obecności zmian zapalnych w tym odcinku przewodu pokarmowego. Weryfikacja rozpoznania następowała, podobnie jak w poprzednio wymienionej pracy, poprzez wykonanie endoskopii kapsułkowej. Ostatecznie ChLC potwierdzono jedynie u 14 chorych, a przydatność oznaczania kalprotektyny i białka S100A12 w badanym aspekcie została oceniona jako niska lub umiarkowana [82]. W kolejnym badaniu Dam Jensen i wsp. postawili sobie za cel porównanie zastosowania oceny stężenia kalprotektyny w kale u chorych ze zmianami w jelicie grubym i cienkim. Grupę badaną stanowiło 83 chorych z podejrzeniem ChLC. Chorzy ci byli następnie poddawani badaniom endoskopowym (gastroskopia, ileokolonoskopia, endoskopia kapsułkowa) lub byli operowani. Ostatecznie u 40 chorych potwierdzono ChLC (w tej grupie u 13 osób schorzenie dotyczyło tylko jelita cienkiego). Autorzy w podsumowaniu badania wnioskują, że ocena obecności kalprotektyny w stolcu z równą czułością może wskazywać na chorych z ChLC, którzy mają zmiany zapalne zarówno w jelicie cienkim, jak i grubym [55].

Jak wspomniano jednak powyżej, rozwój technik obrazowania takich, jak EMR, zmienił w ostatnich latach możliwości oceny zmian zapalnych w jelicie cienkim i to właśnie to badanie stosowane jest w chwili obecnej najczęściej. Kapsułka endoskopowa czy enteroskopia są mniej dostępne, a w przypadku enteroskopii także bardziej inwazyjne. W jednej z najbardziej aktualnych prac Bickelhaupt i

wsp. wykazali, że w ocenie dynamicznej ograniczenie motoryki jelita cienkiego najdokładniej odzwierciedla nasilenie zmian zapalnych w ChLC. Parametr ten korelował istotnie zarówno z CRP, jak i ze stężeniem kalprotektyny w stolcu. Pokazuje to, że stężenie kalprotektyny odzwierciedla zmiany zapalne wykrywane w EMR. Wielką wartością cytowanego badania jest nowatorska metodyka (ocena dynamiczna obrazu EMR zamiast oceny statycznej), pewnym mankamentem natomiast mała liczebność grupy badanej (łącznie 13 chorych) [83].

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują na przydatność oznaczania kalprotektyny u pacjentów ze zmianami w jelicie cienkim. Wykazano bowiem istotną korelację stężeń badanego kopromarkera z nasileniem zmian ocenianym poprzez skalę SEAS-CD. Co ciekawe, nieznacznie bardziej istotną korelację wykazano z wynikiem SEAS-CD otrzymanym tylko i wyłącznie dla obszaru jelita krętego, niż w przypadku całkowitego SEAS-CD. Może mieć to związek z dysproporcjami w zakresie liczebności poszczególnych podgrup. Zmiany w jelicie krętym zostały stwierdzone bowiem u większości chorych (43 pacjentów spośród 44), natomiast u 9 zmiany współistniały zarówno w jelicie czczym i krętym, a tylko jeden pacjent miał izolowaną lokalizację zmian w odcinku jelita czczego. Można wysunąć hipotezę, że wraz z proksymalizacją lokalizacji zmian chorobowych, przydatność kalprotektyny w odzwierciedlaniu nasilenia zmian zapalnych nieznacznie maleje. Co warto jednak podkreślić, kalprotektyna korelowała zarówno z CRP, jak i z obrazem endoskopowym ChLC w zakresie jelita krętego. W tym zakresie wykazano najistotniejszą zależność ($p < 0,0001$; $r = 0,78$). Biorąc pod uwagę znaczenie, jakie przypisuje się roli endoskopii w ocenie aktywności ChLC, ta ostatnia zależność szczególnie mocno potwierdza diagnostyczną

przydatność badanego kopromarkera. Pewnym zaskoczeniem natomiast jest brak korelacji kalprotektyny z innymi parametrami biochemicznymi, uważanymi za wykładniki nasilenia procesu zapalnego (fibrynogen, OB, leukocytoza). Warto jednak w tym miejscu prześledzić przydatność tych parametrów w odniesieniu do badań stanowiących „złoty standard” w diagnostyce ChLC jelita cienkiego. Okazuje się, że żaden z nich nie koreluje z SES-CD w obrębie jelita krętego ani też z SEAS-CD. Tak więc można twierdzić, że ocena OB, elementów składowych morfologii krwi czy stężenia fibrynogenu nie jest wystarczająco przydatna do definiowania aktywności ChLC w zakresie jelita cienkiego. W tym kontekście brak korelacji stężeń kalprotektyny z wymienionymi parametrami staje się więc bardziej zrozumiały. Co więcej, także w porównaniu z CDAI, uzyskane dane statystyczne dotyczące kalprotektyny wskazują na jej lepszą przydatność w ocenie aktywności ChLC w jelicie cienkim. Tylko bowiem stężenia kalprotektyny korelują zarówno z SES-CD w zakresie jelita krętego, SEAS-CD oraz CRP, natomiast CDAI wykazuje korelację jedynie z dwoma pierwszymi parametrami. O szczególnie małej przydatności CDAI u chorych ze zmianami zapalnymi w jelicie cienkim może także świadczyć fakt, że stężenie kalprotektyny w stolcu nie umożliwiałoby identyfikacji i odróżnienia żadnej z podgrup pacjentów z ChLC definiowanych na podstawie CDAI. Co więcej, u chorych z CDAI ≥ 200 pkt. średnie stężenie kalprotektyny było niższe, niż u pacjentów z teoretycznie niższą aktywnością kliniczną schorzenia (CDAI 151 - 219 pkt.). W oparciu o analizy uzyskanych wyników można stwierdzić, że kalprotektyna powinna być stosowana u chorych z ChLC jelita cienkiego, ponieważ lepiej odzwierciedla aktywność choroby, niż parametry biochemiczne czy CDAI.

Grupa pacjentów ze zmianami zlokalizowanymi w jelicie grubym –

omówienie wyników

Lokalizacja zmian jedynie w jelicie grubym w przebiegu ChLC sprawia często trudności diagnostycznie nie tyle ze względu na dostępność danego obszaru przewodu pokarmowego, a z powodu podobnego obrazu klinicznego do WZJG. Charakterystyczną cechą WZJG jest to, że zmiany występują w sposób ciągły i proksymalny od odbytnicy, a stan zapalny obejmuje jedynie błonę śluzową [84]. Zmiany w przebiegu ChLC mogą niekiedy imitować ten obraz. Dużym mankamentem oznaczeń kalprotektyny jest fakt, iż nie umożliwia ona różnicowania tych dwóch jednostek chorobowych. Warto jednak podkreślić, że na aktualnym etapie wiedzy nie istnieje żaden parametr biochemiczny różnicujący te dwie jednostki. W celach pomocniczych wykorzystuje się testy serologiczne, polegające na oznaczaniu przeciwciał przeciwko *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), które stwierdza się u 50-70% osób z ChLC i przeciwciał przeciwko cytoplazmie neutrofilów pANCA, których obecność w surowicy jest bardziej swoista dla chorych z WZJG. W wielu jednak przypadkach ostateczne postawienie diagnozy ChLC lub WZJG opiera się na wielu elementach – głównie na obrazie klinicznym, endoskopowym oraz wynikach badań histopatologicznych [23,85].

W kilku publikacjach możemy spotkać sugestie o większej przydatności oznaczania kalprotektyny u chorych z WZJG, niż z ChLC. Może to być związane z tym, że obszar jelita, zajętego przez proces zapalny w przebiegu WZJG, jest większy, niż przy odcinkowych zmianach w przebiegu ChLC [60]. Także w tej pracy wykazano w grupie chorych z ChLC z izolowanymi zmianami w jelicie

grubym bardzo istotną korelację stężeń kalprotektyny w stolcu ze „złotym standardem” oceny aktywności choroby, czyli badaniem endoskopowym ($p=0,0002$; $r=0,78$). Podobnie w przypadku CRP – tutaj też zależność stężeń kalprotektyny z tym parametrem była bardzo istotna statystycznie ($p=0,0009$; $r=0,7$). Świadczy to o tym, że w przypadku zmian chorobowych zlokalizowanych najbardziej dystalnie, ocena stężenia kalprotektyny najlepiej odzwierciedla nasilenie zapalenia w przewodzie pokarmowym.

Warto także zwrócić uwagę na brak korelacji stężeń kalprotektyny w kale z CDAI u chorych ze zmianami chorobowymi w jelicie grubym, podobnie jak w przypadku chorych z ChLC jelita cienkiego. Analizując możliwe przyczyny takiego stanu, należałoby zastanowić się, jak lokalizacja zmian wpływa na obraz kliniczny choroby. ChLC to choroba o wielu obliczach, której rozpoznanie często jest opóźnione ze względu na niecharakterystyczny przebieg, szczególnie w jej początkowych etapach. Niekiedy dopiero pojawienie się takich objawów, jak na przykład przetoki, zwężenia, ropnie naprowadza na właściwą diagnozę. Zajęcie odcinka jelita cienkiego może dawać inny obraz kliniczny, niż zajęcie odcinka jelita grubego, chociażby ze względu na fakt, że pełnią one różne funkcje w fizjologicznych procesach trawienia. W pracy wykazano, że najwyższe wartości CDAI dotyczą chorych z lokalizacją krętniczo-okrężniczą, mniejsze – w przypadku zmian w jelicie grubym, a najniższe wartości w ChLC jelita cienkiego. Wyniki te są zgodne z dotychczasowymi obserwacjami. Przykładem może być praca Schoepfera i wsp., którzy również zwrócili uwagę na fakt, że chorzy z izolowanymi zmianami zapalnymi w jelicie cienkim mają niższą punktację CDAI, niż pozostałe grupy pacjentów z ChLC [53]. Pojawia się więc pytanie, który z objawów i

elementów składowych CDAI wpływa najbardziej na ostateczną wartość tego indeksu. Można spekulować, że wartości CDAI są najwyższe u chorych z lokalizacją krętniczo-okrężniczą, ponieważ w tej postaci ChLC zazwyczaj bardziej, niż w innych postaciach, nasilony jest ból brzucha, co wpływa szczególnie niekorzystnie na samopoczucie chorych, częściej także obserwuje się badalny guz w jamie brzusznej. Czy więc CDAI charakteryzuje się taką samą przydatnością u wszystkich chorych z ChLC? Zastosowanie tego indeksu w praktyce klinicznej nie zawsze odzwierciedla stan faktyczny nasilenia zmian zapalnych ocenianych metodami obiektywnymi, jak np. endoskopią lub EMR. Ciekawym przykładem na dyskusyjną rolę CDAI w ocenie aktywności ChLC są badania Lahiffa i wsp.. Badacze ci oceniali i porównywali wartości indeksu CDAI w grupie chorych na ChLC i w zespole jelita nadwrażliwego. Wykazali, że osoby z zaburzeniami czynnościowymi miały wyższe średnie wartości CDAI niż pacjenci z ChLC. Parametrami, które w sposób najistotniejszy wpływały na taki stan rzeczy, były bardziej nasilone bóle brzucha oraz gorsze samopoczucie wśród chorych z zespołem jelita drażliwego [86]. Podsumowując należy podkreślić, że CDAI, pomimo szeregu mankamentów, nadal pozostaje podstawowym narzędziem oceny aktywności klinicznej ChLC. Warto zauważyć, że CDAI skonstruowano w latach 70-tych i przez niemal pół wieku indeks ten jest w powszechnym użyciu, chociaż niejednokrotnie był przedmiotem krytyki badaczy czy lekarzy praktyków [20]. W obliczu braku alternatywnego sposobu oceny aktywności klinicznej ChLC, CDAI jest powszechnie stosowany jako prosta, dostępna i mało kosztowna metoda. Prognozuje się, że być może modyfikacja i uzupełnienie tego indeksu o parametry bardziej obiektywne (np. o kalprotektynę), da szansę na poprawę przydatności diagnostycznej CDAI.

Grupa pacjentów z lokalizacją zmian chorobowych w jelicie cienkim i

grubym – omówienie wyników

Większość dostępnych doniesień na temat kalprotektyny u pacjentów z ChLC odnosi się do pacjentów ze zmianami w zakresie jelita grubego oraz jelita krętego, a kluczowym punktem odniesienia w zakresie oceny aktywności ChLC jest ileokolonoskopia [44,45,52,53]. Na podstawie tych prac formułowano najważniejsze tezy, dotyczące przydatności tego kopromarkera w diagnostyce i monitorowaniu ChLC. W przeprowadzonych badaniach potwierdzono dobrą korelację stężeń kalprotektyny w stolcu z najważniejszymi biochemicznymi wykładnikami zapalenia takimi, jak OB, CRP, a także z płytkami krwi. W ostatnich latach coraz większą wagę badacze przykładają do roli zaburzeń funkcji szeroko rozumianego układu krzepnięcia. Danese i współpracownicy wykazali, że śródbłonek naczyniowy w NChZJ ma właściwości prozakrzepowe głównie poprzez aktywację ścieżki sygnałowej, w którą zaangażowane są białka powierzchniowe płytek krwi i endotelium CD20 i CD20L. Ponadto autorzy zwracają uwagę na szereg zaburzeń funkcji i struktury płytek krwi w WZJG czy ChLC [87,88]. Warto też nadmienić, że to właśnie powikłania zakrzepowozatorowe stanowią jedną z głównych przyczyn śmiertelności chorych z ciężkimi zaostrzeniami NChZJ [19]. Wydaje się więc, że płytki krwi powinny być częściej uwzględniane w ocenie aktywności ChLC, jako czuły biochemiczny wskaźnik nasilenia reakcji zapalnych.

Jak wspomniano powyżej, najczęstszym głównym punktem odniesienia dla większości badaczy kopromarkerów w ChLC była ileokolonoskopia. Takie postępowanie jest jednak obarczone pewnym błędem, na który zwracała uwagę

między innymi Taina Sipponen. W swych pracach Sipponen i wsp. zwracają uwagę na problem nieuwzględnienia w analizach statystycznych zmian zapalnych w całym przewodzie pokarmowym – także powyżej zasięgu klasycznego badania endoskopowego [44,45]. W efekcie tego stężenia badanych kopromarkerów, w tym kalprotektyny, u chorych ze zmianami chorobowymi w proksymalnej części jelita krętego oraz ewentualnie w jelicie czczym są wyższe, niż wskazywałaby na to endoskopowa ocena aktywności choroby. To niedoszacowanie rzeczywistej rozległości zmian zapalnych, a w efekcie niedoszacowanie całkowitej aktywności ChLC może budzić wątpliwości czy odnoszenie stężenia kopromarkerów w kale tylko do wyniku badania kolonoskopowego nie jest zbyt daleko idącym metodycznym uproszczeniem. Stąd koncepcja zaproponowana w Katedrze i Klinice Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych UMP, zastosowana także w niniejszej pracy, połączenia oceny aktywności choroby w jelicie cienkim przy użyciu badań obrazowych (gdzie metodą z wyboru jest EMR) z oceną endoskopową w jelicie grubym. Parametr ten określono jako tzw. całkowitą aktywność ChLC (GCDA). Powstaje on poprzez dodanie SEAS-CD oraz SES-CD w zakresie jelita grubego [57]. Daje to możliwość oceny, niemalże u każdego chorego, aktywności ChLC z pełnym uwzględnieniem rozległości i nasilenia zmian zapalnych. W oparciu o uzyskane wyniki wykazano, że stężenie kalprotektyny w stolcu istotnie koreluje nie tylko z wynikami badań endoskopowych u chorych z ChLC jelita cienkiego i grubego, ale także z całkowitą aktywnością tego schorzenia mierzonego poprzez GCDA. Warto także zwrócić uwagę, że poziom istotności statystycznej w przypadku zależności między kalprotektyną, a SES-CD był wyższy niż w odniesieniu do GCDA, który uwzględnia także zmiany proksymalnie do zasięgu ileokolonoskopii. Można to

interpretować, jako kolejny dowód na fakt malejącej przydatności oceny stężenia tego białka w kale w ocenie aktywności zapalnej ChLC wraz z proksymalizacją zmian chorobowych w przewodzie pokarmowym.

Relacja między stężeniem kalprotektyny w kale a CDAI w omawianej podgrupie chorych, wykazała bardzo istotną zależność pomiędzy tymi dwoma parametrami ($p=0,0006$; $r=0,46$). Takich zależności nie odnotowano w przypadku chorych z izolowanymi zmianami zapalnymi w jelicie cienkim i jelicie grubym. Co więcej, analiza porównawcza podgrup chorych wydzielonych na podstawie aktywności klinicznej mierzonej CDAI pokazała, że kalprotektyna wśród chorych ze zmianami zarówno w jelicie cienkim, jak i grubym pozwala różnicować pacjentów będących w remisji od pacjentów z łagodnym i średnio nasilonym rzutem choroby. Podobnie jak w przypadku analizy korelacji, takich wyników nie uzyskano wśród chorych z ChLC jelita cienkiego i ChLC jelita grubego. Otóż wydaje się, że CDAI jest parametrem najbardziej obiektywnie odzwierciedlającym aktywność kliniczną ChLC właśnie wśród pacjentów z lokalizacją choroby zarówno w jelicie cienkim i grubym, natomiast przydatność tego indeksu w innych grupach chorych jest mniejsza.

Porównanie przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu w poszczególnych lokalizacjach ChLC

Stężenia kalprotektyny w stolcu dobrze odzwierciedlają rozległość i nasilenie zmian zapalnych w poszczególnych podgrupach chorych z ChLC. Świadczy o tym fakt, że u chorych ze zmianami w jelicie cienkim i grubym zarówno stężenia

kalprotektyny w stolcu, jak i stężenie CRP oraz wartość CDAI są najwyższe, a wszystkie te trzy parametry są najniższe u chorych z ChLC jelita cienkiego. Jak wspomniano jednak w dyskusji powyżej, wydaje się, że przydatność oznaczania stężenia kalprotektyny w stolcu w ocenie aktywności ChLC maleje wraz z proksymalizacją lokalizacji zmian chorobowych. Zasadniczym pytaniem, które pozwoliłoby na rzeczywiste porównanie tej przydatności, jest pytanie dotyczące „złotych standardów” oceny aktywności ChLC w poszczególnych postaciach tej choroby. Parametrami uniwersalnymi dla wszystkich chorych z teoretycznego punktu widzenia są właśnie CRP, jako kluczowy marker biochemiczny oraz CDAI – najpowszechniej używany indeks kliniczny. Analizując korelację stężenia kalprotektyny w kale z CRP i CDAI, można wskazać, że badany kopromarker najlepiej odzwierciedla aktywność biochemiczną oraz kliniczną ChLC u pacjentów ze zmianami zapalnymi zarówno w jelicie grubym i cienkim, a najmniej u chorych z izolowaną lokalizacją w jelicie cienkim. Mankamenty obu tych parametrów, a zwłaszcza CDAI, były już przedmiotem dyskusji w niniejszej pracy. Poszukując natomiast wspomnianych „złotych standardów” diagnostycznych w poszczególnych lokalizacjach zmian chorobowych można wysunąć hipotezę, że:

- u chorych z ChLC jelita grubego powinna być to kolonoskopia (SES-CD),
- w przypadku ChLC jelita cienkiego – enterografia MR (SEAS-CD),
- u chorych ze zmianami w jelicie cienkim i grubym – całkowita aktywność ChLC (GCDA).

Tak więc przydatność diagnostyczna kalprotektyny w kale jest największa u pacjentów z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie grubym, a najmniejsza - ale wciąż istotna, wśród chorych z ChLC jelita cienkiego. Należy jednak podkreślić,

że paradoksalnie oznaczanie kalprotektyny w kale u chorych ze zmianami tylko w jelicie cienkim może być najbardziej uzasadnione. Wynika to z faktu, że właśnie ta lokalizacja ChLC jest najtrudniejsza z punktu widzenia diagnostyki. Endoskopia ma pewne ograniczenia techniczne, badania obrazowe nie są powszechnie dostępne (zwłaszcza EMR), a ocena CDAI oraz niektóre parametry biochemiczne są często zawodne. Dlatego też oznaczenia stężeń kalprotektyny w stolcu mogą w sposób istotny uzupełnić i poprawić możliwości diagnostyki i monitorowania aktywności, zwłaszcza tych postaci ChLC, które ograniczone są do jelita cienkiego.

6. Wnioski

- Stężenie kalprotektyny w kale u chorych z ChLC z lokalizacją w jelicie grubym wiarygodnie odzwierciedla nasilenie zmian zapalnych widocznych w badaniu endoskopowym.
- Stężenie kalprotektyny w kale u chorych z ChLC z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie cienkim koreluje z aktywnością choroby ocenianą w enterografii MR.
- Stężenie kalprotektyny w kale u chorych z ChLC ze zmianami zlokalizowanymi zarówno w jelicie cienkim oraz w jelicie grubym wiarygodnie odzwierciedla aktywność choroby ocenianą zarówno w badaniu endoskopowym, jak i enterografii MR.
- Oznaczanie stężenia kalprotektyny w kale jest najbardziej przydatne w ocenie aktywności ChLC u pacjentów z lokalizacją zmian w jelicie grubym.
- Przydatność oznaczania kalprotektyny w kale u chorych z izolowaną lokalizacją zmian w jelicie cienkim jest najmniejsza, jednak spośród badanych parametrów laboratoryjnych najlepiej odzwierciedla aktywność ChLC i może być stosowana w diagnostyce i monitorowaniu w tej grupie pacjentów.
- Kalprotektyna w stolcu koreluje z aktywnością kliniczną ChLC, ocenianą poprzez indeks CDAI jedynie u chorych z lokalizacją krętniczo-okrężniczą

- Kalprotektyna wydaje się być bardziej przydatna do oceny aktywności zmian chorobowych w przebiegu ChLC, niż CDAI, szczególnie u chorych z izolowaną lokalizacją zmian w obrębie jelita cienkiego i jelita grubego.
- Kalprotektyna w stolcu koreluje z aktywnością ChLC ocenianą biochemicznie przy pomocy stężenia CRP niezależnie od lokalizacji zmian chorobowych.

7. Streszczenie

Choroba Leśniowskiego-Crohna (ChLC) należy, obok wrzodziejącego zapalenie jelita grubego (WZJG), do grupy nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ). Etiologia ChLC jest nieznana, nie dysponujemy w chwili obecnej także możliwością pełnego wyleczenia tej jednostki chorobowej. Istotą choroby jest przewlekły stan zapalny, obejmujący całą grubość ściany jelita, mogący lokalizować się w każdej części przewodu pokarmowego. Najczęściej zmiany występują w odcinku krętniczo-okrężniczym, poza tym mogą lokalizować się wyłącznie w jelicie cienkim lub grubym, a bardzo rzadko – w żołądku, przełyku i jamie ustnej.

Diagnostyka ChLC obejmuje, oprócz badania lekarskiego, szereg metod dodatkowych, z których najważniejszą rolę odgrywają badania endoskopowe oraz obrazowe. Ileokolonoskopia uważana jest aktualnie za metodę z wyboru w ocenie aktywności ChLC. Niemniej jednak, z uwagi na inwazyjny charakter badania, oraz z powodu braku możliwości pełnej oceny zmian zapalnych w jelicie cienkim, metodą zyskującą w ostatnich latach na popularności w diagnostyce ChLC jelita cienkiego jest enterografia rezonansu magnetycznego (EMR).

Od początku XX wieku, wśród badań biochemicznych wykonywanych celem oceny aktywności ChLC, coraz powszechniej wymienia się oznaczanie tzw. kopromarkerów. Są to białka, których stężenie bada się w stolcu. Ważnym przedstawicielem tej grupy jest kalprotektyna. Wykazano, że białko to dobrze różnicuje zaburzenia czynnościowe od chorób organicznych. Udowodniono także dobrą korelację z obrazem endoskopowym. Niemniej jednak autorzy prac, dotyczących przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu, zwracali uwagę na fakt, że wciąż niewiele wiadomo o ewentualnych różnicach w przydatności tego

nieinwazyjnego badania u chorych z ChLC z różną lokalizacją zmian chorobowych. Szczególnie trudną z diagnostycznego punktu widzenia i najmniej przebadaną w omawianym aspekcie postacią jest ChLC zlokalizowana w jelicie cienkim.

Celem pracy była ocena przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu w ocenie aktywności ChLC z różną lokalizacją zmian zapalnych. Badaniem objęto grupę 120 chorych z ChLC hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Aktywność kliniczną ChLC oszacowano na podstawie indeksu CDAI (ang. Crohn's Disease Activity Index). Oceniano także morfologię krwi obwodowej, obecność markerów stanu zapalnego we krwi takich, jak m.in. białko C-reaktywne (ang. C-reactive protein – CRP), odczyn Biernackiego (OB). Aktywność endoskopową obliczano z pomocą skali SES-CD (ang. Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease). W przypadku lokalizacji zmian chorobowych w jelicie cienkim posługiwano się autorską skalą SEAS-CD (ang. Simple Enterographic Activity Score for Crohn's Disease), która kwantyfikowała aktywność ChLC ocenianą w EMR. U chorych ze zmianami zapalnymi zarówno w jelicie cienkim i grubym, obliczano tzw. całkowitą aktywność ChLC (ang. Global Crohn's Disease Activity – GCDA) poprzez dodanie wyniku SES-CD w zakresie jelita grubego oraz SEAS-CD. U wszystkich chorych oceniono także równolegle stężenie kalprotektyny w pojedynczej próbce stolca z użyciem metod immunoenzymatycznych (ELISA). Następnie przeprowadzono adekwatną analizę statystyczną.

Spośród 120 chorych – 54 pacjentów wykazywało zmiany chorobowe zarówno w jelicie cienkim, jak i grubym, u 44 występowały zmiany tylko w jelicie cienkim, a u 22 – w jelicie grubym. Wykazano istotną statystycznie zależność między stężeniem

kalprotektyny, a CRP we wszystkich badanych podgrupach. Kalprotektyna korelowała istotnie z CDAI jedynie wśród chorych ze zmianami zarówno w jelicie cienkim i grubym ($p=0,0006$; $r=0,46$). U chorych z ChLC jelita cienkiego wykazano istotną korelację kalprotektyny z aktywnością enterograficzną ocenianą za pomocą SEAS-CD ($p=0,03$; $r=0,35$) oraz z aktywnością endoskopową mierzoną SES-CD w zakresie jelita krętego ($p<0,0001$; $r=0,78$). Wśród pacjentów z izolowanymi zmianami w jelicie grubym istniała istotna zależność między badanym kopromarkerem a SES-CD ($p=0,0002$; $r=0,78$). Wśród pacjentów z lokalizacją ChLC zarówno w jelicie cienkim, jak i grubym kalprotektyna w stolcu korelowała istotnie z SES-CD ($p=0,006$; $r=0,51$), SEAS-CD ($p=0,04$; $r=0,28$), jak i GCDA ($p=0,003$; $r=0,39$).

W niniejszej pracy wykazano, że oznaczanie stężenia kalprotektyny w stolcu jest przydatne w ocenie aktywności ChLC niezależnie od lokalizacji zmian chorobowych. Przydatność tego białka wydaje się być najwyższa u pacjentów ze zmianami w obrębie jelita grubego oraz w obrębie jelita cienkiego i grubego, a najniższa u chorych z ChLC jelita cienkiego. Jednak trudności diagnostyczne obszaru jelita cienkiego – ograniczone możliwości badania endoskopowego, mała dostępność EMR, nie zawsze adekwatne do obecnego stanu zapalnego w jelicie wartości markerów biochemicznych ocenianych we krwi obwodowej, sprawiają, że oznaczanie stężenia kalprotektyny może być szczególnie przydatne w tej właśnie grupie pacjentów. Jest to proste, nieinwazyjne, niedrogie badanie, które w sposób bardziej wiarygodny ocenia aktywność zmian zapalnych niż CDAI.

8. Summary

Alongside ulcerative colitis, Leśniowski-Crohn's disease (CD) belongs to a group of inflammatory bowel diseases. The etiology of this incurable disease is still poorly understood. From the pathological point of view the main phenomenon is the chronic inflammatory infiltration across the whole gut wall. CD may concern all parts of the gastrointestinal tract. The most common location is ileocolonic CD, and subsequently isolated small bowel CD and colonic CD.

A single diagnostic method which would allow to objectively monitor CD activity does not exist. Ileocolonoscopy is believed to be one of the most sensitive and reliable diagnostic methods in IBD. However, this procedure is invasive and the assessment of the small bowel is rarely possible. In the past years, magnetic resonance enterography (MRE) was recognized as a method of choice in assessing the small bowel CD activity.

In the past decade the use of fecal markers has become one of the most promising new biochemical diagnostic methods in IBD. Calprotectin is the most important one. It was shown that measurement of fecal calprotectin concentrations allows to differentiate functional bowel disorders from organic ones. Calprotectin also correlates with the endoscopic severity of CD. However, it is still not certain if the diagnostic utility of fecal calprotectin assessment is equal in all patients with CD. In particular, the usefulness of this diagnostic method in patients with small bowel CD has been investigated and proved to a lesser extent.

The aim of this study was to assess the usefulness of fecal calprotectin in the assessment of CD activity in different inflammatory locations in the gastrointestinal

tract. The study group consisted of 120 patients with CD who were hospitalized in the Department of Gastroenterology, Human Nutrition and Internal Diseases at the Poznan University of Medical Sciences. The clinical activity was assessed by calculating the Crohn's Disease Activity Index (CDAI). The biochemical activity was also estimated by measuring chosen inflammatory markers (e.g. C-reactive protein – CRP, erythrocyte sedimentation rate – ESR, cell blood count). The endoscopic activity was assessed with the Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD). In the case of small bowel CD, the disease severity was estimated by using the Simple Enterographic Activity Score for Crohn's Disease (SEAS-CD) created in the Department of Gastroenterology, Human Nutrition and Internal Diseases at the Poznan University of Medical Sciences. In patients with ileocolonic CD the total activity of CD was assessed by summing up SEAS-CD and colonic SES-CD (Global Crohn's Disease Activity – GCDA). Each patient provided a single stool sample for the estimation of calprotectin concentration with immunoenzymatic methods (ELISA). An appropriate statistical analysis was performed.

Among 120 patients, 54 had ileocolonic CD, 44 had inflammatory lesions only in the small bowel, and 22 had lesions only in the large intestine. A significant correlation between fecal calprotectin and CRP was shown in every CD location. Fecal calprotectin concentration correlated with CDAI only in ileocolonic CD ($p=0,0006$; $r=0,46$). In small bowel CD calprotectin correlated significantly with both the SEAS-CD ($p=0,03$; $r=0,35$) and endoscopic severity estimated by ileal SES-CD ($p<0,0001$; $r=0,78$). In patients with colonic CD calprotectin correlated with SES-CD ($p=0,0002$; $r=0,78$). In ileocolonic location fecal calprotectin correlated significantly with SES-CD ($p=0,006$; $r=0,51$), SEAS-CD ($p=0,04$; $r=0,28$) and GCDA ($p=0,003$; $r=0,39$).

The present study has shown that fecal calprotectin is a useful marker in the assessment of CD activity independently of the disease location. However, the usefulness of this diagnostic method seems to be slightly weaker in patients with small bowel CD. Notwithstanding this, however, fecal calprotectin should be used especially in small bowel CD, especially in light of the limited usefulness of other biochemical markers and the clinical assessment of this group of CD patients, which is difficult from the diagnostic point of view.

9. Bibliografia

1. Rydzewska G. Sto lat choroby Leśniowskiego-Crohna? W: Choroba Leśniowskiego-Crohna – 100 lat diagnostyki i terapii. Rydzewska G, Małecka-Panas E (red.) Wydawnictwo Termedia 2008: 11-21.
2. Yapp TR, Stenson R, Thomas GA i wsp. Crohn's disease incidence in Cardiff from 1930: an update for 1991-1995. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 907-911.
3. Jacobsen BA, Fallingborg J, Rasmussen HH i wsp. Increase in incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in northern Denmark: a population-based study, 1978-2002. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 601-606.
4. Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K i wsp. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in United States. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1424-1429.
5. Krajowy rejestr choroby Leśniowskiego-Crohna, dostępne na: www.chorobacrohna.pl
6. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P i wsp. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1785-1794.
7. Witanowska A, Rydzewska G. Epidemiologia i przebieg kliniczny choroby Leśniowskiego-Crohna. W: Choroba Leśniowskiego-Crohna – 100 lat diagnostyki i terapii. Rydzewska G, Małecka-Panas E (red.) Wydawnictwo Termedia 2008: 23-36.
8. Stober W, Fuss IJ, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 2007; 117: 514-521.
9. Cho JH, Brant SR. Recent insights into the genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1704-1712.
10. Degowska M, Pawlik M, Rydzewska G. Manifestacje pozajelitowe i powikłania choroby Leśniowskiego-Crohna. W: Choroba Leśniowskiego-Crohna – 100 lat

diagnostyki i terapii. Rydzewska G, Małecka-Panas E (red.) Wydawnictwo Termedia 2008: 73-90.

11. Kucharski MA, Jakubowska-Burek L, Dobrowolska-Zachwieja A. Klasyfikacje i skale używane w diagnostyce i leczeniu nieswoistych chorób zapalnych jelit. W: Leczenie biologiczne w dermatologii, gastroenterologii i reumatologii. Adamski Z., Linke K., Samborski W. (red.) Wydawnictwo Termedia 2010: 141-194.
12. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S i wsp. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus and implications Gut 2006; 55: 749-753.
13. Löwenberg M, D'Haens G. Mucosal healing in Crohn's disease: relevance for clinical outcomes. Curr Drug Targets 2012 Sep 1; 13:1248-1251.
14. Flynn RS, Kuemmerle JF. Konwencjonalne metody leczenia choroby Leśniowskiego-Crohna. W: Nieswoiste zapalenia jelit. Bickston SJ, Bloomfeld RS (red.) Wydawnictwo ELSEVIER Urban&Partner 2013: 53-61.
15. Ahmed R, Bloomfeld RS. Immunomodulatory w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. W: Nieswoiste zapalenia jelit. Bickston SJ, Bloomfeld RS (red.) Wydawnictwo ELSEVIER Urban&Partner 2013: 63-77.
16. Łykowska-Szuber L, Eder P, Dobrowolska-Zachwieja A i wsp. Leki biologiczne. W: Leczenie biologiczne w dermatologii, gastroenterologii i reumatologii. Adamski Z, Linke K, Samborski W (red.) Wydawnictwo Termedia 2010: 219-258.
17. Ahmadi A, Valentine JF. Leczenie biologiczne w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. W: Nieswoiste zapalenia jelit. Bickston SJ, Bloomfeld RS (red.) Wydawnictwo ELSEVIER Urban&Partner 2013: 78-89.
18. Tan SA, Rout RW. Leczenie chirurgiczne w chorobie Leśniowskiego-Crohna. W: Nieswoiste zapalenia jelit. Bickston SJ, Bloomfeld RS (red.) Wydawnictwo ELSEVIER Urban&Partner 2013: 97-102.
19. Łodyga M, Eder P, Bartnik W i wsp. Wytyczne Grupy Roboczej Konsultanta Krajowego w dziedzinie Gastroenterologii i Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii dotyczące postępowania z pacjentem z chorobą Leśniowskiego –Crohna. Przegląd Gastroenterol 2012; 7 (6): 317–338.

20. Best WR, Beckttel JM, Singelton JW i wsp. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 1976; 70: 439-444.
21. Sauer BG, Behm B. Metody stopniowania i klasyfikacji nieswoistych chorób zapalnych jelit. W: Nieswoiste zapalenia jelit. Bickston SJ, Bloomfeld RS (red.) Wydawnictwo ELSEVIER Urban&Partner 2013: 32-41.
22. Harvey RF, Bradshaw JM. A Simple index of Crohn's disease activity. *Lancet* 1980; 1:514.
23. Pawlik M, Witanowska A, Rydzewska G. Diagnostyka choroby Leśniowskiego-Crohna. W: Choroba Leśniowskiego-Crohna – 100 lat diagnostyki i terapii. Rydzewska G, Małecka-Panas E (red.) Wydawnictwo Termedia 2008: 51-60.
24. Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 133: 1670-1689.
25. Lisowska-Myjak B, Walo M, Pachecka J. Białka endogenne w kale jako markery laboratoryjne dla rozpoznawania, różnicowania i oceny intensywności nieswoistych zapaleń jelit. *Gastroenterol Pol* 2007, 14 (5): 357-361.
26. Awais D, Higgins P. Badanie endoskopowe w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. W: Nieswoiste zapalenia jelit. Bickston SJ, Bloomfeld RS (red.) Wydawnictwo ELSEVIER Urban&Partner 2013: 10-17.
27. Frosile KF, Jahnsen J, Moum BA., IBSEN Group. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: results from a Norwegian population – based cohort. *Gastroenterology* 2007; 133(2): 412-422.
28. Mary JY, Modigliani R. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). *Gut* 1989; 30: 983-989.
29. Daperno M, van Assche G, Bulois P i wsp. Development of Crohn's disease endoscopic score (CDEIS): A simple index to assess endoscopic severity of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122: A216.
30. Sandborn WJ. The future of inflammatory bowel disease therapy: where do we go from here? *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 3: 140-144.

31. Lambert D. Badania radiologiczne w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. W: Nieswoiste zapalenia jelit. Bickston SJ, Bloomfeld RS (red.). Wydawnictwo ELSEVIER Urban&Partner 2013: 18-31.
32. Furmanek M, Walecki J. Diagnostyka obrazowa w przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna. W: Choroba Leśniowskiego-Crohna – 100 lat diagnostyki i terapii. Rydzewska G, Małecka-Panas E (red.). Wydawnictwo Termedia 2008: 61-72.
33. Tibble JA, Bjarnason I. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2001; 7(4): 460-465.
34. Konikoff MR, Deneson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 524-534.
35. Wagner M, Peterson ChGB, Ridefelt P i wsp. Fecal markers of inflammation used as surrogate markers for treatment outcome in relapsing inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14(36): 5584-5589.
36. Kane SV, Sandborn WJ, Rufo PA i wsp. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1309-1314.
37. Fagerhol MK, Dale I, Andersson T. Release and quantitation of leukocyte derived protein (L1). *Scand J Haematol* 1980; 24: 393-398.
38. Kondera-Anasz Z, Marek Z, Mielczarek-Palacz A i wsp. Kalprotektyna – budowa i funkcje. *Pol Arch Med Wewn* 2006, CXV, 3(3).
39. Kerkhoff C, Vogel T, Nacken W i wsp. Zinc binding reverses the calcium-induced arachidonic acid-binding capacity of the S100A8/A9 protein complex. *FEBS Lett* 1999; 460: 134.
40. Kosiara M, Paradowski L. Kalprotektyna. *Gastroenterol Pol* 2008; 15 (5): 333-335.
41. Johne B, Fagerhol MK, Lyberg T i wsp. Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Mol Pathol* 1997; 50: 113-123.
42. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E i wsp. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 793-798.

43. Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B i wsp. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000; 47: 506-513.
44. Sipponen T, Savilahti E, Kolho KL i wsp. Crohn's disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with Crohn's disease activity index and endoscopic findings. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14(1): 40-46.
45. Sipponen T, Karkkainen P, Savilahti E i wsp. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28:1221-1229.
46. Gisbert JP, Bermejo F, Perez-Calle JL i wsp. Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1190-1198.
47. Orlando A, Modesto I, Castiglione F i wsp. The role of calprotectin in predicting endoscopic post-surgical recurrence in asymptomatic Crohn's disease: a comparison with ultrasound. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10: 17-22.
48. Kobelska-Dubiel N, Ignyś I, Krauss H i wsp. Kalprotektyna w kale jako marker zapalny w nieswoistych zapaleniach jelit u dzieci. *Pediatr Współcz* 2007; 9: 172-175.
49. Eder P, Stawczyk-Eder K, Krela-Kaźmierczak I i wsp. Clinical utility of assessment of fecal calprotectin in Leśniowski-Crohn's disease. *Pol Arch Med Wewn* 2008; 11: 622-626.
50. von Roon AC, Karamountzos L, Purkayastha S. Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 803-813.
51. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R i wsp. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut* 1999; 45: 362-366.
52. Van Rheenen PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ* 2010; 341: c3369.
53. Schoepfer AM, Beglinger Ch, Straumann A i wsp. Fecal calprotectin correlates more closely with the simple endoscopic score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, Blood Leukocytes and the CDAI. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 162-169.

54. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L i wsp. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54: 364-368.
55. Jensen MD, Kjeldsen J, Torben N. Fecal calprotectin is equally sensitive in Crohn's disease affecting the small bowel and colon. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 46 (6): 694-700.
56. Leyendecker JR, Bloomfeld RS, DiSantis DJ. MR enterography in the management of patients with Crohn disease. *RadioGraphics* 2009; 29: 1827-1846.
57. Eder P, Katulska K, Łykowska-Szuber L i wsp. Simple Enterographic Activity Score for Crohn's Disease – comparison with endoscopic, clinical and biochemical findings. *Pol Arch Med Wewn* 2013, epub ahead of print.
58. Poullis A, Foster R, Northfield TC i wsp. Faecal markers in the assessment of activity in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(4): 675-681.
59. Vatn MH. Natural history and complications of IBD. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11(6): 481-487.
60. Krogsgaard LR, Engsbro AL, Bytzer P. The epidemiology of irritable bowel syndrome in Denmark. A population-based survey in adults ≤ 50 years of age. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48(5): 523-529.
61. Vermeire S, van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006; 55: 426-431.
62. Schoepfer AM, Trummel M, Seeholzer P i wsp. Discriminating IBD from IBS: Comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP and IBD antibodies. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14(1): 32-39.
63. Sutherland AD, Gearry RB, Frizelle FA. Review of fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum* 2008; 51(8):1283-1291.
64. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R i wsp. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 450-460.
65. Palmon R, Brown SJ, Abreu MT. What is the role and significance of serum and stool biomarkers in the diagnosis of IBD? *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 187-189.

66. Langhorst J, Elsenbruch S, Koelzer J i wsp. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin and PMN-elastase, CRP and clinical indices. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 162-169.
67. Bessissow T, van Keerberghen CA, van Oudenhove L i wsp. Anxiety is associated with impaired tolerance of colonoscopy preparation in inflammatory bowel disease and controls. *J Crohns Colitis* 2013, epub ahead of print.
68. Kotowski B, Kamiński MF, Rupiński M. Analiza jakości kolonoskopii w Ogólnopolskim Programie Badań Przesiewowych dla wczesnego wykrywania raka jelita grubego. *Gastroenterologia Kliniczna* 2009; 1(1): 45-53.
69. Marlicz K. Endoskopia przewodu pokarmowego W: *Choroby Wewnętrzne Szczeklik A. (red.) Wydawnictwo Medycyna Praktyczna* 2005; 742-747.
70. Arguello L, Pertejo V, Ponce M, Peiro S i wsp. The appropriateness of colonoscopy at a teaching hospital: magnitude, associated factors and comparison of EPAGE and EPAGE II criteria. *Gastrointest Endosc* 2012; 75(1): 138-145.
71. Ling KL, Chuah SW, Kong SC. Healing the mucosa in Crohn's disease: does it matter? *Singapore Med J* 2013; 54(4): 185-189.
72. Reenaers C, Belaiche J, Louis E. Impact of medical therapies on inflammatory bowel disease complication rate. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3823-3827.
73. Travis S, Feagan BG, Rutgeerts P i wsp. The future of inflammatory bowel disease management: combining progress in trial design with advances in targeted therapy. *J Crohns Colitis* 2012; 6 (Suppl 2): S250-S259.
74. Fiorino G, Bonifacio C, Peyrin-Biroulet L i wsp. Prospective comparison of computed tomography enterography and magnetic resonance enterography for assessment of disease activity and complications in ileocolonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17(5): 1073-1080.
75. Schmidt S, Lepori D, Meuwly JY i wsp. Prospective comparison of MR enteroclysis with multidetector spiral-CT enteroclysis: interobserver agreement and sensivity by means of sing-by-sing correlation. *Eur Radiol* 2003; 13:1303-1311.

76. Zimmermann E, Mohmoud M. Magnetic resonance imaging of the small bowel in patients with Crohn's disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27(2): 132-138.
77. Negaard A, Paulsen V, Sandvik L i wsp. A prospective randomized comparison between two MRI studies of the small bowel in Crohn's disease, the oral contrast method and MR enteroclysis. *Eur Radiol* 2007; 17: 2294-2301.
78. Rimola J, Ordas I, Rodriguez S i wsp. Magnetic resonance imaging for evaluation of Crohn's disease: Validation of parameters of severity and quantitative index of activity. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17(8): 1759-1768.
79. Pariente B, Cosnes J, Danese S i wsp. Development of the Crohn's disease digestive damage score, the Lemann score. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1415-1422.
80. Amzallag-Bellenger E, Oudjit A, Ruiz A i wsp. Effectiveness of MR enterography for the assessment of small-bowel diseases beyond Crohn disease. *Radiographics* 2012; 32(5): 1423-1444.
81. Koulaouzidis A, Douglas S, Rogers MA i wsp. Fecal calprotectin: A selection tool for small bowel capsule endoscopy in suspected IBD with prior negative bi-directional endoscopy. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46(5): 561-566.
82. Sipponen T, Haapamaki J, Savilahti E i wsp. Fecal calprotectin and S100A12 have low utility in prediction of small bowel Crohn's disease detected by wireless capsule endoscopy. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 47(7): 778-784.
83. Bickelhaupt S, Pazahr S, Chuck N i wsp. Crohn's disease: small bowel motility impairment correlates with inflammatory-related markers C-reactive protein and calprotectin. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25(6): 467-473.
84. Bartnik W. Choroby jelita grubego. W: Choroby Wewnętrzne. Szczeklik A. (red.) Wydawnictwo Medycyna Praktyczna 2005; 811-838.
85. Sherwood RA. Faecal markers of gastrointestinal inflammation. *J Clin Pathol* 2012; 65(11): 981-985.
86. Lahiff C, Safaie P, Awais A i wsp. The Crohn's disease activity index (CDAI) is similarly elevated in patients with Crohn's disease and in patients with irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37(8): 786-794.

87. Danese S, Sans M, Scaldaferri F i wsp. TNF-alpha blockade down-regulates the CD40/CD40L pathway in the mucosal microcirculation: a novel anti-inflammatory mechanism of infliximab in Crohn's disease. J Immunol 2006; 176: 2617-2624.
88. Cromer WE, Mathis JM, Granger DN i wsp. Role of the endothelium in inflammatory bowel diseases. World J Gastroenterol 2011; 17: 578-593.