

Malattie infiammatorie dell'intestino: ruolo dei marker biologici

G.C. Sturniolo, E. Dal Pont, R. D'Inca

Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Gastroenterologiche, Università di Padova

Riassunto

La diagnosi, il monitoraggio, il trattamento e la valutazione delle complicanze delle malattie infiammatorie croniche intestinali, sia legate alla malattia che iatrogene, rappresentano ancora un problema per il medico. Tutti questi aspetti si avvalgono di un approccio combinato ai pazienti: la clinica, il risultato degli esami di laboratorio e degli esami strumentali, concorrono alla valutazione puntuale dell'attività di malattia e alla capacità di predirne l'andamento. I comuni indici di flogosi bioumorale (VES, PCR...) hanno trovato un ruolo nella diagnosi, nella valutazione della severità e nella predittività dell'andamento di malattia. Essi sono stati più di recente affiancati da altri marcatori di laboratorio: proteine fecali (lattoferrina e calprotectina), studio della permeabilità intestinale, sierologia anticorpale, che si sono dimostrati in grado di facilitare la diagnosi, la valutazione della severità, della prognosi e del rischio di malattia complicata. L'utilità pratica che ne deriva riguarda una più accurata e completa valutazione dei pazienti, con metodiche non invasive, che permettono di attuare modificazioni terapeutiche mirate al trattamento di pazienti più a rischio di avere riaccensione di malattia o malattia complicata.

Summary

Inflammatory bowel disease: role of biochemical markers

Inflammatory bowel disease diagnosis, monitoring, treatment and evaluation of complications, disease or drug related, are still a problem for the physician. All these features need combined approach to the patient: clinic evaluation, lab and instrumental exams are important elements for a precise assessment of disease activity and for predicting disease course. Traditional biochemical markers (ESR, CRP...) have a role for diagnosis, severity evaluation and in prognosis. More recently, new biochemical markers have been introduced: fecal proteins (lactoferrin and calprotectin), evaluation of intestinal permeability, antibodies which have proved to be useful for diagnosis, severity evaluation, prognosis and risk of complications. The usefulness in clinical practice is due to a more accurate and complete patients evaluation without invasive methods, that allow to make therapeutic changes suitable to patients at higher risk of relapse and complicated disease.

Key words: Inflammatory bowel disease; Biochemical markers; Disease activity; Disease course; Fecal proteins; Intestinal permeability.

Introduzione

Le malattie infiammatorie croniche intestinali sono patologie croniche, caratterizzate da un andamento a fasi alterne, con periodi di benessere e di recrudescenza della sintomatologia, di durata variabile e non prevedibile, il cui quadro clinico intestinale può essere aggravato dalla comparsa di complicanze intestinali (fistole, ascessi) ed extraintestinali (in particolare, articola-

ri, cutanee, epatiche, oculari).

Per tale motivo la diagnosi precoce e il monitoraggio periodico di queste malattie è importante e necessario, al fine di garantire al paziente il trattamento più adeguato alla fase e severità della malattia.

La diagnosi e il monitoraggio della malattia infiammatoria cronica intestinale si basa su criteri clinici, esami di laboratorio e strumentali, endoscopici e radiologi-

gici. In particolare, gli esami strumentali stanno ricevendo un notevole sviluppo negli ultimi anni, per il perfezionamento di metodiche già esistenti e l'introduzione di nuove.

Se il progresso tecnologico porta al miglioramento delle tecniche diagnostiche strumentali, non dobbiamo tuttavia dimenticare il ruolo ancora importante che rivestono gli esami di laboratorio, siano essi ematici, fecali o urinari. Essi rappresentano il primo passo nella gestione di un paziente con malattia infiammatoria sospetta o nota, per alcune caratteristiche peculiari: nella maggior parte dei casi sono di rapida e semplice esecuzione, economici e facilmente ripetibili. Inoltre, permettono di ridurre notevolmente l'impiego di procedure invasive, quali l'endoscopia. Proprio per queste peculiari caratteristiche, la ricerca scientifica non si è arrestata nello studio delle possibili applicazioni di marcatori biochimici noti ed è rivolta all'identificazione di nuovi possibili biomarcatori.

Il ruolo dei marcatori di laboratorio è stato valutato nei molteplici aspetti delle malattie infiammatorie croniche intestinali: per la diagnosi, la diagnosi differenziale, la valutazione della severità di malattia e il rischio di complicanze, per la capacità predittiva di riaccensione e per il monitoraggio dell'effetto della terapia.

Per ciascuno di questi aspetti, tuttavia, non esiste un singolo esame "gold standard", anche se l'ideale sarebbe un marcatore che identifichi con buona sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e negativo gli individui a rischio: il medico si avvale di più marcatori, la cui valutazione combinata è l'unico mezzo per ottenere un'informazione quanto più attendibile.

Uso dei marcatori di laboratorio nella diagnosi di malattia infiammatoria cronica intestinale

Un paziente che giunge all'osservazione medica con sintomi gastrointestinali suggestivi per malattia infiammatoria cronica intestinale, dopo un'accurata anamnesi, viene sottoposto di prassi ad accertamenti di primo livello, che includono un emocromo completo, gli elettroliti sierici, i test di funzionalità epatica, VES, PCR, sideremia, α 1-glicoproteina acida, coproculture per batteri e ricerca fecale di parassiti e loro uova. Specialmente per pazienti in età pediatrica, è preferibile utilizzare metodi diagnostici non invasivi, altrimenti sgraditi e potenzialmente non privi di complicanze, quali l'esposizione a radiazioni e l'uso di anestesia nelle procedure endoscopiche, selezionando i soggetti per i quali effettivamente sono necessari ulteriori approfondimenti. Uno studio condotto presso il St Mark's Hospital¹, aveva valutato 82 soggetti adulti, presentatisi con sintomi intestinali, dosando VES, PCR, α 1 glicoproteina acida ed eseguendo biopsie rettali. Fra questi marcatori, PCR e VES erano elevate in tutti i pazienti in cui veniva posta diagnosi di Malattia di Crohn (19 pazienti) e nel 50% dei pazienti con diagnosi di colite ulcerosa

(22 pazienti), mentre risultavano nei limiti di norma in tutti i pazienti con patologia funzionale (41 pazienti). Un più ampio e recente studio su 203 pazienti sintomatici ha confermato che la PCR, seppur ad un valore di cut-off di 2,3 mg/L, è un buon marcatore nella diagnosi differenziale tra malattia infiammatoria cronica intestinale e patologia funzionale, con una sensibilità del 100% e una specificità del 67%².

In un recente studio³, 153 bambini con sospetta malattia infiammatoria cronica intestinale sono stati sottoposti a dosaggio combinato di piastrine, VES, PCR, albumina ed emoglobina. In 103 di questi è stata posta diagnosi di Malattia Infiammatoria Cronica intestinale (MICI), osservando che la conta piastrinica e l'emoglobina sono i test che meglio differenziano il gruppo affetto da quello non affetto da malattia (rispettivamente $p < 0,002$ e $p < 0,007$). In particolare, l'anemia e la trombocitosi hanno sensibilità e specificità diagnostiche del 91% ed 80%, con un valore predittivo positivo del 94% ed un valore predittivo negativo del 76%.

La presenza di flogosi intestinale aumenta la permeabilità della mucosa intestinale a cui consegue un maggiore passaggio di cellule infiammatorie nel lume intestinale^{4,5}. I leucociti non sopravvivono a lungo nelle feci, per l'azione di degradazione del pH e degli enzimi⁶. Si è osservato tuttavia che alcune proteine da essi sintetizzate, in particolare lattoferrina e calprotectina, possiedono discreta stabilità nelle feci e sono pertanto adatte ad essere dosate, anche a distanza di tempo dalla raccolta^{7,8}. La calprotectina è una proteina del citosol, la lattoferrina è contenuta nei granuli secondari. Con un cut-off di 30 μ g/g, la calprotectina possiede una sensibilità del 100% nel discriminare la malattia di Crohn attiva dalla sindrome dell'intestino irritabile⁹. La lattoferrina fecale è stata paragonata ad altre proteine di derivazione neutrofila: elastasi, mieloperossidasi e lisozima, aumentate nella fase attiva di malattia. La lattoferrina, fra le precedenti, si è dimostrata tuttavia quella più efficientemente rilasciata dalle cellule e la più stabile nelle feci¹⁰. Calprotectina e lattoferrina, rispettivamente con un cut off di 80 mg/kg e 0,070 O.D. (densità ottica), sono entrambe correlate alla presenza di flogosi intestinale endoscopicamente rilevata nelle malattie infiammatorie croniche, con una sensibilità e specificità per quanto riguarda la calprotectina del 79% e 74% e un valore predittivo positivo del 92%, mentre, per quanto riguarda la lattoferrina, sensibilità, specificità e valore predittivo positivo sono rispettivamente del 76%, 67% e 90%¹¹. La permeabilità intestinale ha un ruolo centrale nelle malattie infiammatorie intestinali, riflette l'integrità della barriera, che impedisce il passaggio di sostanze dal lume intestinale¹². Essa viene misurata dall'escrezione urinaria di zuccheri somministrati per via orale, quali il lattulosio/mannitolo o il lattulosio/ramnosio. Un'alterata permeabilità intestinale è riportata in varie condizioni, come la malattia celiaca, le gastroenteriti acute, l'intolleranza alimentare e le malattie infiam-

Tabella I. Caratteristiche cliniche dei pazienti con malattia di Crohn in relazione al numero di positività anticorpali (ASCA, ALCA, ACCA, AMCA, OmpC).
Modificato da Ferrante et al. GUT 2007²⁸.

	NUMERO DI ANTICORPI POSITIVI						P
	0	1	2	3	4	5	
Coinvolgimento ileale (%)	69,5	82.6	86.5	89.8	88.2	92.3	<0.001
Fenotipo complicato (%)	40.9	58.5	71.2	81.4	78.4	92.3	<0.001
Necessità chirurgia (%)	37.8	49.2	59.6	74.6	84.3	76.9	<0.001

ASCA, anticorpo anti-Saccaromices Cerevisiae; ALCA, anticorpi anti-laminaribioside; ACCA, anticorpi anti-chitobioside; AMCA, anticorpi anti-mannobioside; OmpC anticorpi anti-porina C dell'*E. Coli*.

matorie croniche intestinali¹³. In particolare, è stata studiata in 261 pazienti con diarrea cronica, osservando che il test lattuloso/mannitolo e i livelli di PCR sono fattori predittivi indipendenti di diagnosi di malattia organica¹⁴. Nella malattia di Crohn attiva, il 95% dei pazienti ha un'umentata permeabilità intestinale¹⁵.

A fianco di questi marcatori rivestono un certo ruolo alcuni tests sierologici in grado di porre una diagnosi differenziale tra colite ulcerosa e malattia di Crohn, generati verisimilmente dalla risposta immunitaria verso antigeni microbici ed autoantigeni: questi sono gli anticorpi p-ANCA ed ASCA. I p-ANCA (anticorpi citoplasmatici perinucleari anti-neutrofili) sono noti dal 1990. Sono presenti nel 40-80% dei pazienti affetti da colite ulcerosa. L'antigene verso cui sono diretti questi anticorpi è localizzato a livello perinucleare ed è sensibile alla DNasi, il cui epitopo è ancora sconosciuto. Il secondo anticorpo è quello rivolto verso la parete cellulare del *Saccaromices cerevisiae* (ASCA), un lievito comunemente presente nella dieta¹⁶. Questo anticorpo è presente nel siero del 50-70% dei pazienti con malattia di Crohn, ma non con colite ulcerosa^{17,18}. Il ruolo degli anticorpi nella diagnosi di malattia infiammatoria cronica è limitato dalla loro scarsa sensibilità e dalla possibile presenza in altre condizioni (coliti collagenosiche ed eosinofile e patologie epatiche, come l'epatite autoimmune)¹⁹. L'uso combinato del dosaggio di p-ANCA ed ASCA tuttavia può essere di aiuto nella diagnosi differenziale tra colite ulcerosa e malattia di Crohn. La combinazione ASCA+/p-ANCA- è caratteristica della malattia di Crohn, mentre quella ASCA-/p-ANCA+ è caratteristica della colite ulcerosa, con una sensibilità compresa tra il 30-64%, una specificità superiore al 90% e un valore predittivo positivo compreso tra il 77-96%^{16,20,21}. Gli ASCA possono essere di utilità prognostica nella Malattia di Crohn: è stato infatti osservato che la loro positività è correlata alla severità di malattia²², al rischio di intervento chirurgico²³ e alla sede ileale di malattia^{20,24}. Per quanto riguarda i p-ANCA, la loro positività nei pazienti con colite ulcerosa è stata messa in relazione al rischio di pouchite. Tuttavia, in un recente studio su 102 pazienti con colite ulcerosa con ileo-ano anastomosi, la prevalenza dei

p-ANCA era del 54% e non si osservava correlazione tra la loro positività e il rischio di sviluppare pouchite²⁵. Recentemente sono stati individuati nuovi marcatori sierologici nella malattia di Crohn: Anti-OmpC, diretti contro la porina C dell'*Escherichia coli*, ALCA, anticorpi anti-laminaribioside, AMCA, anti-mannobioside ed ACCA, anti-chitobioside. Questi ultimi 3 anticorpi sono diretti contro epitopi carboidratici della parete cellulare di alcuni batteri e funghi. È stato riportato che gli anti-OmpC sono presenti nel 55% dei pazienti con malattia di Crohn²⁶, ma uno studio più recente li ha evidenziati solo nel 24% dei bambini ed adulti affetti da Malattia di Crohn: essi possono essere d'aiuto nella diagnosi di soggetti con malattia di Crohn ASCA negativi, dove tuttavia la prevalenza è del 5-15%. La loro prevalenza non è significativa nei pazienti con colite ulcerosa e soggetti sani (rispettivamente, 5-11% e 5%)²⁴. Per quanto riguarda gli anticorpi anti-glicani, gli ALCA sono stati riscontrati nel 18-38% dei pazienti con malattia di Crohn, gli ACCA nel 21-36% e gli AMCA nel 28%²⁷. Rispetto questa bassa prevalenza, tuttavia, è importante sapere che il 24-44% dei pazienti con malattia di Crohn ASCA negativi erano positivi per uno o più degli anti-glicani. I pazienti con malattia di Crohn positivi per almeno uno di tali anticorpi, possono essere differenziati dai pazienti con colite ulcerosa con una sensibilità del 77% e una specificità superiore al 90%, con valore predittivo positivo e negativo rispettivamente del 91 e 77%. Un recente studio di Ferrante et al.²⁸, ha dosato ASCA, ALCA, AMCA, OmpC e pANCA nel siero di 1225 pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale, 200 controlli sani e 113 pazienti con flogosi intestinale non legata a malattia infiammatoria cronica. La risposta anticorpale è stata correlata con il tipo di malattia e le caratteristiche cliniche. Il 76% dei pazienti con malattia di Crohn aveva almeno uno di questi anticorpi. Per la diagnosi differenziale tra malattia di Crohn e colite ulcerosa, la combinazione ASCA-pANCA si confermava la più accurata. Per la diagnosi differenziale tra malattia infiammatoria cronica intestinale, controlli sani e flogosi non legata a malattia infiammatoria cronica intestinale, la combinazione ASCA-pANCA ed ALCA aveva la

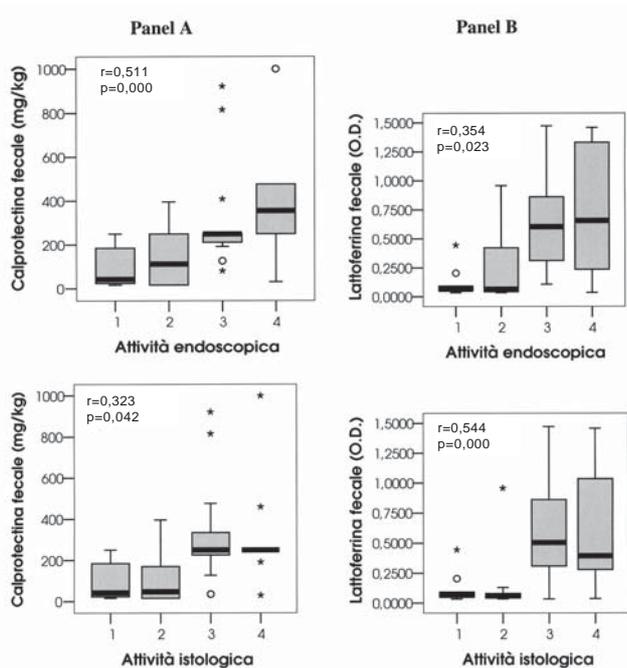


Figura 1. Calprotectina (panel A) e lattoferrina (panel B) *versus* attività endoscopica ed istologica nella colite ulcerosa¹¹.

migliore accuratezza. Gli autori osservavano una relazione diretta tra il numero di anticorpi positivi e il loro titolo con un decorso di malattia complicato (fistole, stenosi, necessità di chirurgia) e la sede ileale di malattia (Tab. I).

Uso dei marcatori di laboratorio nella valutazione della severità della malattia infiammatoria cronica intestinale

I pazienti con malattia più severa presentano più spesso alterazione dei marcatori biumorali, paragonati con i pazienti che hanno basso grado di attività flogistica. Questo era stato dimostrato in un lavoro del 1992²⁹, dove si era osservato che albumina, colinesterasi, PCR, VES correlavano con il grado di attività endoscopica. Radiologia ed endoscopia sono utili in questa valutazione, ma sono invasivi e possono esacerbare l'infiammazione mucosa. I comuni indici di flogosi possono essere d'aiuto nella valutazione della severità di malattia: in un vecchio studio si osservava che la VES correlava con l'attività clinica ($p < 0,001$), tuttavia in relazione all'estensione di malattia, poiché si osservava che la VES correlava meno bene con la proctite ulcerosa e con la malattia di Crohn localizzata nelle prime vie digestive³⁰. Lo studio di Fagan³¹ aveva dimostrato che sia la PCR che la VES correlano con l'attività di malattia, ma che la correlazione è migliore con la PCR.

Travis nel 1996 valutava un rischio di colectomia dell'85% se al terzo giorno il paziente presenta ancora più di 8 scariche o 3-8 scariche con una PCR > 45 mg/l, mentre la temperatura corporea, l'emoglobina e l'albumina erano di scarso aiuto³². Un altro studio più

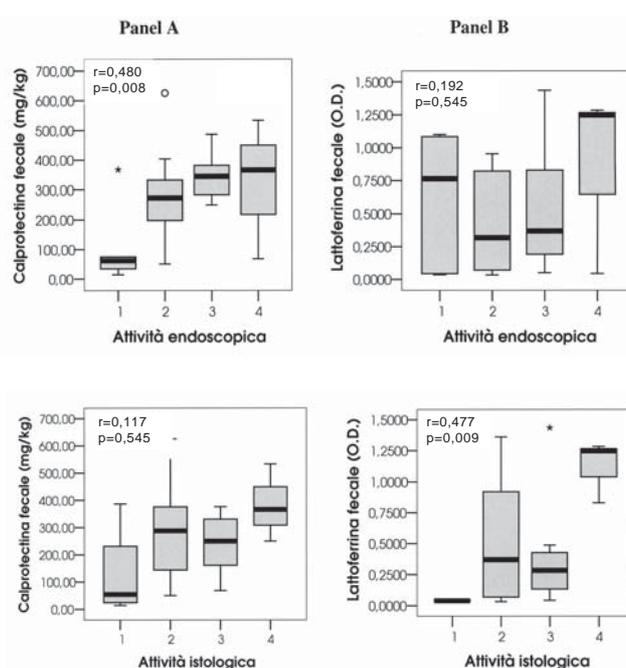


Figura 2. Calprotectina (panel A) e lattoferrina (panel B) *versus* attività endoscopica ed istologica nella malattia di Crohn¹¹.

recente ha individuato uno score di rischio di insuccesso del trattamento medico della colite ulcerosa severa, combinando elementi della clinica (dilatazione del colon, numero di evacuazioni) con l'ipoalbuminemia³³. Recentemente, un altro studio ha cercato di identificare variabili di laboratorio, oltre che cliniche, in grado di predire la severità di un episodio di colite severa e la risposta alla terapia medica: un incremento della VES superiore a 75 mm/h, associato a febbre superiore a 38°C, al primo giorno, predice con una buona probabilità il rischio di colectomia³⁴. In studi meno recenti era stato valutato anche il bilancio idroelettrolitico e il pH³⁵. Anche la calprotectina correla con l'attività di malattia endoscopica ed istologica, sia nei pazienti con colite ulcerosa che malattia di Crohn, e migliora con la riduzione della flogosi^{36,37}. Di recente, è stato ulteriormente osservato che i livelli di lattoferrina e calprotectina correlano con l'attività endoscopica ed istologica nella colite ulcerosa, mentre nella malattia di Crohn questa correlazione persiste solo tra calprotectina ed attività endoscopica e lattoferrina ed attività istologica, verisimilmente per la diversa distribuzione delle lesioni e dell'infiltrato flogistico (Figure 1 e 2)¹¹. Uno studio del 2008³⁸ ha valutato più marcatori fecali come indici di attività di malattia: lattoferrina, calprotectina e PMN-elastasi, combinati con la PCR e indici clinici di attività di malattia (*colitis activity index* nella colite ulcerosa- CAI - e *Crohn's disease activity index* nella malattia di Crohn- CDAI -). I pazienti con malattia attiva (endoscopicamente rilevata) hanno i livelli di tutti i marcatori biochimici significativamente maggiori rispetto ai pazienti con attività flogistica assente, con un'accuratezza diagnosti-

ca dell'80% per lattoferrina e calprotectina, del 74.1% per l'elastasi e del 64% per la PCR. Nella colite ulcerosa, la combinazione di un marcatore fecale, PCR e indice clinico di attività migliora la sensibilità e specificità, portando ad un'accuratezza diagnostica del 95%.

Uso dei marcatori di laboratorio nella valutazione della prognosi della malattia infiammatoria cronica intestinale

Le malattie infiammatorie croniche sono condizioni caratterizzate da alternarsi di periodi di remissione con episodi di riaccensione clinica, in modo non sempre prevedibile, con una ripresa dei sintomi dovuta all'infiammazione intestinale, il cui trattamento ha il principale scopo di ridurre la flogosi durante la riaccensione e secondariamente di prolungare la durata della remissione e la guarigione delle lesioni mucose. È ipotizzabile che i pazienti con malattia in remissione abbiano in realtà un basso grado di attività flogistica e che solo quando questa raggiunge un'intensità critica, si manifestino i sintomi clinici. La valutazione dell'attività infiammatoria subclinica potrebbe pertanto fornire una misura della ripresa clinica della malattia. Un marcatore predittivo dell'andamento della malattia, se efficace, avrebbe considerevoli implicazioni cliniche, poiché offrirebbe la possibilità di un trattamento mirato in fasi precoci. Uno studio prospettico di Brignola³⁹ aveva valutato 41 pazienti con malattia di Crohn in fase di quiescenza. Il monitoraggio era stato eseguito per un periodo di 18 mesi, mediante la valutazione di un pannello di marcatori di infiammazione: VES, globuli bianchi, emoglobina, albumina, alfa 2 globulina, sideremia, PCR, alfa 1 glicoproteina acida e alfa 2 antitripsina. 17 di questi pazienti hanno avuto una riaccensione e i parametri che predicavano il rischio di riaccensione erano la VES, l'alfa 2 globulina e l'alfa 1 glicoproteina acida. Basandosi su questi marcatori era stato calcolato un indice prognostico, la cui soglia di potere discriminante era 0,35. Usando questa soglia, tutti i pazienti con un indice prognostico superiore a 0,35 avevano una riaccensione nei 18 mesi successivi, contro 5 su 29 pazienti con indice prognostico < 0,35. Successivamente, Boirivant et al.⁴⁰ hanno valutato il ruolo della PCR, misurandola in 101 pazienti con Malattia di Crohn. 51 di questi pazienti avevano PCR elevata, con una buona correlazione con l'attività clinica. Tuttavia, 1/3 dei pazienti con malattia clinicamente attiva aveva valori di PCR nei limiti e 1/3 dei pazienti in remissione clinica aveva PCR elevata. Lo studio longitudinale osservava che nei pazienti con malattia attiva, i livelli di PCR tendevano a ridursi con il miglioramento della malattia. Nei pazienti che ottenevano la remissione, livelli di PCR persistentemente elevati erano in correlazione con un aumentato rischio di riaccensione nei 2 anni successivi. Allo stesso modo, i pazienti in remissione al momento dell'ingresso nello studio, ma con livelli di PCR persistentemente elevate, avevano un rischio di riaccensione

maggior dei pazienti con PCR nella norma. Più recentemente, il gruppo di studio GETAID⁴¹ ha valutato 71 pazienti con malattia di Crohn in remissione, sulla base di emocromo completo, VES, PCR, alfa 1 antitripsina e orosomucoidi ogni 6 settimane. 38 pazienti avevano una riaccensione. Dei biomarcatori, solo 2 correlavano con il rischio di riaccensione: PCR >20 mg/l e VES >15 mm. I pazienti con entrambi questi marcatori positivi avevano un rischio otto volte superiore di riaccensione, con un valore predittivo negativo del 97%, suggerendo che valori di VES e PCR nella norma escludono con discreta sicurezza una recidiva nei 6 mesi successivi. Il decorso clinico della malattia di Crohn è stato valutato per mezzo del test di permeabilità intestinale in 130 pazienti, osservando che una permeabilità aumentata è significativamente correlata alla riaccensione clinica di malattia ($p=0,0001$).

La maggior parte di queste informazioni riguardano la malattia di Crohn.

Nella colite ulcerosa i dati a tal riguardo sono scarsi. Al momento attuale, potrebbe essere molto interessante valutare indirettamente l'infiammazione intestinale per predire la riaccensione clinica. Tibble et al.⁴² hanno osservato che la calprotectina fecale > 50 µg/gr è in grado di predire la ripresa di attività clinica nei pazienti con colite ulcerosa, con livelli medi che differivano significativamente tra il gruppo di pazienti che aveva avuto una riaccensione clinica di malattia e i pazienti rimasti in remissione, con una sensibilità e specificità per predire la riaccensione di malattia in tutto il gruppo dei pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale rispettivamente del 90% ed 83%. Recentemente, un altro studio ha dimostrato la capacità predittiva della calprotectina nella colite ulcerosa, ma non nella malattia di Crohn⁴³. In questi studi, né la VES né la PCR erano utili per predire la riaccensione. Un recente studio condotto su un più ampio gruppo di pazienti (162, 97 con colite ulcerosa e 65 con malattia di Crohn), ha dimostrato che, con un cut off di 130 mg/kg, la calprotectina predice il rischio di riaccensione nella colite ulcerosa e nella malattia di Crohn del colon, con una significatività rispettivamente dello 0,000 e 0,02⁴⁴. In questo studio si osservava inoltre un ruolo significativo della VES nel predire la riaccensione nella malattia di Crohn ($p=0,005$), con una sensibilità del 72% e una specificità dell'85%.

Uso dei marcatori di laboratorio nella valutazione delle complicanze della malattia infiammatoria cronica intestinale

Sappiamo che le complicanze intestinali ed extraintestinali sono molteplici e comuni e comprendono una serie di manifestazioni: il carcinoma colo-rettale, le manifestazioni osteo-articolari, cutanee, oculari, epatiche, renali, endocrinologiche, ematologiche, pancreatiche, polmonari, tromboemboliche. Per la maggior parte di queste non sono noti marcatori bioumorali

specifici: essendo esse spesso correlate a fasi di attività di malattia, è verosimile che la flogosi bioumorale sia specchio sia dell'attività a livello intestinale che sistemico.

Le *artropatie* rappresentano le manifestazioni extraintestinali più frequenti delle malattie infiammatorie croniche intestinali. La diagnosi si basa principalmente sulla storia e la valutazione clinica e talvolta può essere d'aiuto la radiologia. Non esiste un vero e proprio marcatore: nella pratica clinica vengono impiegati i comuni indici di flogosi, che tuttavia sono di difficile interpretazione, poiché possono essere determinati sia dalla malattia intestinale che dalla flogosi articolare⁴⁵. Recentemente, è stato dimostrato che una molecola prodotta dai condrociti e sinoviociti (YKL-40) correla con la presenza di artropatia. Nel siero di pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale e complicanze articolari essa è significativamente superiore (rispettivamente $p < 0,001$ e $p < 0,01$) rispetto ai pazienti senza artropatia e ai controlli. Non sono state osservate differenze tra i pazienti senza complicanze articolari e i controlli. Inoltre è stata osservata correlazione tra il numero delle articolazioni coinvolte e la proteina ($p < 0,001$)⁴⁶.

Nel 2003, Hoffman et al.⁴⁷ hanno osservato per la prima volta che gli anticorpi ASCA di tipo IgA, ma non IgG, correlati alla malattia di Crohn, sono significativamente più elevati nei pazienti con spondiloartropatia rispetto i pazienti con altre patologie reumatologiche, quali l'artrite reumatoide.

Il *coinvolgimento epato-biliare* può comprendere manifestazioni che vanno dall'aumento aspecifico degli indici di citolisi, fino alla colangite sclerosante primitiva. Un ampio studio di Bromè del 1994 ha valutato 1268 pazienti con colite ulcerosa: circa l'11% di questi presentava alterazione degli indici di funzione epatica, spesso correlata all'attività di malattia, che si risolveva spontaneamente nella maggior parte dei casi⁴⁸. Uno studio più recente ha dimostrato una prevalenza del 12% di alterazioni epatobiliari nelle malattie infiammatorie croniche intestinali, con livelli di ALP più elevati nei soggetti con colite ulcerosa rispetto ai controlli⁴⁹. La complicanza epatica più temibile è la colangite sclerosante primitiva, che ha una prevalenza nella colite ulcerosa compresa tra il 2,5 e il 7,5%. Sembra che fra i fattori causali più importanti vi sia una disfunzione del sistema immunitario: è stata infatti trovata una positività agli anticorpi p-ANCA nell'82% dei pazienti con colangite sclerosante primitiva e colite ulcerosa, sebbene il titolo anticorpale non correli con l'attività di malattia⁵⁰. La maggior parte dei pazienti sono asintomatici alla diagnosi e presentano un aumento di ALP e γ GT ad esami bioumorali eseguiti di routine.

Nelle MICI sono state descritte *manifestazioni tromboemboliche*, con trombosi venosa ed arteriosa, probabilmente come conseguenza dei processi infiammatori agenti a livello della mucosa. Nel 2001 Van Bodegraven et al.⁵¹ hanno studiato 33 pazienti con colite ulce-

rosa attiva con determinazioni seriate dei marcatori della coagulazione, osservando un aumento rispetto ai soggetti normali dei complessi trombina-antitrombina, fibrinogeno, prodotti di degradazione del fibrinogeno (FgDP) e prodotti di degradazione della fibrina (FbDP). La cascata della coagulazione e della fibrinolisi è attivata nella colite ulcerosa attiva a favore della coagulazione e l'ipercoagulabilità persiste nel 20% dei pazienti con malattia in remissione.

I pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale hanno un aumentato rischio di *tumore del colon*, in relazione all'estensione, alla durata della malattia e alla familiarità. La prevenzione, in particolare della malattia di lunga durata, si basa sulla colonscopia con biopsie. Sono tuttavia in corso studi per identificare fattori molecolari, dosabili nelle cellule derivate dall'essfoliazione della mucosa intestinale, di aiuto prognostico. Le mutazioni di K-ras e p53 sono state osservate in circa il 20% dei pazienti con colite ulcerosa estesa, con una significativa correlazione con la durata di malattia^{52,53}. L'infiammazione cronica può contribuire al rischio di cancro colo-rettale: è stato pertanto determinato il ruolo del danno ossidativo al DNA mediato da radicali liberi, misurando l'8-idrossideossiguanosina (8-OHdG): pazienti con colite ulcerosa e displasia hanno livelli di 8-OHdG significativamente maggiori ($p = 0,011$), correlando con l'età ($p = 0,011$), la durata di malattia ($p = 0,015$), l'attività endoscopica ($p = 0,006$) e istologica ($p = 0,003$). Inoltre un valore maggiore di 100 addotti/10 (5)dG ha un valore diagnostico dell'80,9%⁵⁴.

Ruolo degli esami bioumorali nel monitoraggio della terapia medica

La modificazione dei livelli di PCR in seguito a terapia è un buon parametro per valutarne l'efficacia: uno studio Belga ha valutato l'effetto del trattamento con farmaci anti-TNF- α su 153 pazienti: una PCR basale > 5 mg/L prima dell'inizio della terapia è associata ad una risposta maggiore (76%) rispetto ad una PCR < 5 mg/L (46%, $p = 0,004$)⁵⁵. La lattoferrina è stata utilizzata nel monitoraggio non invasivo della risposta alla terapia con farmaci biologici in 5 pazienti pediatrici con malattia di Crohn attiva. Tutti i pazienti avevano risposto clinicamente alla terapia ed in tutti i livelli della proteina decrescevano rapidamente ed in modo significativo⁵⁶. I pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale ricevono una terapia medica il cui effetto antinfiammatorio si esplica anche nella riduzione dei prodotti del metabolismo ossidativo. È stata valutata la loro influenza sulle concentrazioni di 8-OHdG. Pazienti che hanno ricevuto un trattamento con 5-ASA, corticosteroidi ed immunosoppressori hanno un danno del DNA significativamente più basso nei leucociti periferici rispetto i pazienti che ricevono solo 5-ASA ($p < 0,05$)⁵⁷. Un altro studio recente, valutando diversi parametri bioumorali in corso di colite severa (emoglobina, VES, PCR, GB, piastrine, albumina) ha dimo-

strato che i livelli di emoglobina differiscono significativamente tra i pazienti che rispondono alla terapia steroidea e quelli che non rispondono ($p=0,001$ e $p=0,03$, rispettivamente)³⁴.

Gli esami bioumorali possono essere inoltre d'aiuto nel monitorare gli effetti dannosi della terapia, quali la tossicità da azatioprina, che si manifesta con incremento degli indici di funzione pancreatica (amilasi, lipasi) e mielosoppressione (leucopenia ed anemia megaloblastica) o da methotrexate, prevalentemente di tipo epatico.

Conclusioni

Numerosi marcatori biochimici, tradizionali ed introdotti più recentemente nella pratica clinica, sono stati individuati e sono utili nella gestione dei numerosi aspetti delle malattie infiammatorie croniche intestinali, rappresentando un valido e fondamentale aiuto, dalla diagnosi alla valutazione delle complicanze extraintestinali, anche se importante è stato il progresso nell'ambito della diagnostica strumentale. Il marcatore ideale dovrebbe essere di facile e rapida esecuzione, ripetibile ed economico e queste sono le caratteristiche della maggior parte degli esami di laboratorio utilizzati nella comune pratica clinica. La ricerca è tuttavia rivolta all'introduzione di nuovi marcatori, in grado di aumentare la potenzialità diagnostica di questo mezzo, riducendo all'essenziale la necessità di ricorrere a tecniche diagnostiche strumentali, più invasive e costose. Questo aspetto è molto importante, in particolare nella gestione dei pazienti pediatrici, per i quali spesso gli esami strumentali possono essere vissuti in modo traumatico, sottoponendoli all'esposizione a radiazioni o all'uso di anestetici.

Di fronte a un ricco corteo di nuove proposte, i tradizionali esami utilizzati nella pratica clinica non hanno ancora trovato validi sostituti, sia in termini di sensibilità, che di semplicità di esecuzione. Nuovi potenziali marcatori sono in corso di studio, fra i quali i marcatori fecali, come la lattoferrina e la calprotectina, facilmente eseguibili, ripetibili e non invasivi.

Bibliografia

- Shine B, Berghouse L, Jones JE, Landon J. C-reactive protein as an aid in the differentiation of functional and inflammatory bowel disorders. *Clin Chim Acta* 1985; 148:105-9.
- Poullis AP, Zar S, Sundaram KK, Moodie SJ, Risley P, Theodossi A, et al. A new, highly sensitive assay for C-reactive protein can aid the differentiation of inflammatory bowel disorders from constipation- and diarrhoea-predominant functional bowel disorders. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14:409-12.
- Cabrera-Abreu JC, Davies P, Matek Z, Murphy MS. Performance of blood tests in diagnosis of inflammatory bowel disease in a specialist clinic. *Arch Dis Child* 2004; 89:69-71.
- Poullis A, Foster R, Mendall MA, Fagerhol MK. Emerging role of calprotectin in gastroenterology. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18:756-62.
- Kane SV, Sandborn WJ, Rufo PA, Zhuludev A, Boone J, Lysterly D, et al. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:1309-14.
- Guerrant RL, Araujo V, Soares E, Kotloff K, Lima AA, Cooper WH, et al. Measurement of fecal lactoferrin as a marker of fecal leukocytes. *J Clin Microbiol* 1992; 30:1238-42.
- Kayazawa M, Saitoh O, Kojima K, Nakagawa K, Tanaka S, Tabata K, et al. Lactoferrin in whole gut lavage fluid as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:360-9.
- Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:793-8.
- Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, et al. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000; 47:506-13.
- Sugi K, Saitoh O, Hirata I, Katsu K. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:927-34.
- D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Ferronato A, Fries W, Vettorato MG, et al. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22:429-37.
- Hollander D. Intestinal permeability, leaky gut, and intestinal disorders. *Curr Gastroenterol Rep* 1999; 1:410-6.
- Tibble JA, Bjarnason I. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2001; 7:460-5.
- Di Leo V, D'Inca R, Diaz-Granado N, Fries W, Venturi C, D'Odorico A, et al. Lactulose/mannitol test has high efficacy for excluding organic causes of chronic diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:2245-52.
- Bjarnason I, MacPherson A, Hollander D. Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 1995; 108:1566-81.
- Linskens RK, Mallant-Hent RC, Groothuisink ZM, Bakker-Jonges LE, van de Merwe JP, Hooijkaas H, et al. Evaluation of serological markers to differentiate between ulcerative colitis and Crohn's disease: pANCA, ASCA and agglutinating antibodies to anaerobic coccoid rods. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14:1013-8.
- Annese V, Piepoli A, Perri F, Lombardi G, Latiano A, Napolitano G, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in inflammatory bowel disease: comparison of different assays and correlation with clinical features. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20:1143-52.
- Vermeire S, Joossens S, Peeters M, Monsuur F, Marien G, Bossuyt X, et al. Comparative study of ASCA (Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody) assays in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2001; 120:827-33.
- Papp M, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? *World J Gastroenterol* 2007; 13:2028-36.
- Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot

- A, Grandbastien B, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 1998; 42:788-91.
21. Peeters M, Joossens S, Vermeire S, Vlietinck R, Bossuyt X, Rutgeerts P. Diagnostic value of anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:730-4.
 22. Mow WS, Vasiliauskas EA, Lin YC, Fleshner PR, Papadakis KA, Taylor KD, et al. Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 414-24.
 23. Forcione DG, Rosen MJ, Kisiel JB, Sands BE. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody (ASCA) positivity is associated with increased risk for early surgery in Crohn's disease. *Gut* 2004; 53:1117-22.
 24. Zholudev A, Zurakowski D, Young W, Leichtner A, Bousvaros A. Serologic testing with ANCA, ASCA, and anti-OmpC in children and young adults with Crohn's disease and ulcerative colitis: diagnostic value and correlation with disease phenotype. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2235-41.
 25. Aisenberg J, Legnani PE, Nilubol N, Cobrin GM, Ellozy SH, Hegazi RA, et al. Are pANCA, ASCA, or cytokine gene polymorphisms associated with pouchitis? Long-term follow-up in 102 ulcerative colitis patients. *Am J Gastroenterol* 2004; 99:432-41.
 26. Landers CJ, Cohavy O, Misra R, Yang H, Lin YC, Braun J, et al. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002; 123:689-99.
 27. Dotan I, Fishman S, Dgani Y, Schwartz M, Karban A, Lerner A, et al. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 131:366-78.
 28. Ferrante M, Henckaerts L, Joossens M, Pierik M, Joossens S, Dotan N, et al. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut* 2007; 56:1394-403.
 29. Tromm A, Tromm CD, Hüppe D, Schwegler U, Krieg M, May B. Evaluation of different laboratory tests and activity indices reflecting the inflammatory activity of Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:774-8.
 30. Sachar DB, Smith H, Chan S, Cohen LB, Lichtiger S, Messer J. Erythrocytic sedimentation rate as a measure of clinical activity in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 1986; 8:647-50.
 31. Fagan EA, Dyck RF, Maton PN, Hodgson HJ, Chadwick VS, Petrie A, et al. Serum levels of C-reactive protein in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest* 1982; 12:351-9.
 32. Travis SP, Farrant JM, Ricketts C, Nolan DJ, Mortensen NM, Kettlewell MG, et al. Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut* 1996; 38:905-10.
 33. Ho GT, Mowat C, Goddard CJ, Fennell JM, Shah NB, Prescott RJ, et al. Predicting the outcome of severe ulcerative colitis: development of a novel risk score to aid early selection of patients for second-line medical therapy or surgery. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19:1079-87.
 34. Benazzato L, D'Inca R, Grigoletto F, Perissinotto E, Medici V, Angriman I, et al. Prognosis of severe attacks in ulcerative colitis: effect of intensive medical treatment. *Dig Liver Dis* 2004; 36:461-6.
 35. Caprilli R, Frieri G, Latella G, Vernia P, Santoro ML. Faecal excretion of bicarbonate in ulcerative colitis. *Digestion* 1986; 35:136-42.
 36. Røseth AG, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion* 1997; 58:176-80.
 37. Røseth AG, Aadland E, Grzyb K. Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39:1017-20.
 38. Langhorst J, Elsenbruch S, Koelzer J, Rueffer A, Michalsen A, Dobos GJ. 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; 103:162-9.
 39. Brignola C, Campieri M, Bazzocchi G, Farruggia P, Tragnone A, Lanfranchi GA. A laboratory index for predicting relapse in asymptomatic patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1986; 91:1490-4.
 40. Boirivant M, Leoni M, Tariciotti D, Fais S, Squarcia O, Pallone F. The clinical significance of serum C reactive protein levels in Crohn's disease. Results of a prospective longitudinal study. *J Clin Gastroenterol* 1988; 10:401-5.
 41. Consigny Y, Modigliani R, Colombel JF, Dupas JL, Lémann M, Mary JY; Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives (GETAID). A simple biological score for predicting low risk of short-term relapse in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12:551-7.
 42. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000; 119:15-22.
 43. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, Bellini M, Romano MR, Sterpi C, et al. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54:364-8.
 44. D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Benazzato L, Martinato M, Lamboglia F, et al. Can calprotectin predict relapse risk in inflammatory bowel disease? *Am J Gastroenterol* (in stampa).
 45. Ozgocmen S, Godekmerdan A, Ozkurt-Zengin F. Acute-phase response, clinical measures and disease activity in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine* 2007; 74:249-53.
 46. Punzi L, Podswiadek M, D'Inca R, Zaninotto M, Bernardi D, Plebani M, et al. Serum human cartilage glycoprotein 39 as a marker of arthritis associated with inflammatory bowel disease. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:1224-6.
 47. Hoffman IE, Demetter P, Peeters M, De Vos M, Mielants H, Veys EM, et al. Anti-saccharomyces cerevisiae IgA antibodies are raised in ankylosing spondylitis and undifferentiated spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:455-9.
 48. Broomé U, Glaumann H, Hellers G, Nilsson B, Sörstad J, Hultcrantz R. Liver disease in ulcerative colitis: an epidemiological and follow up study in the country of Stockholm. *Gut* 1994; 35:84-9.

49. Riegler G, D'Inca R, Sturniolo GC, Corrao G, Del Vecchio Blanco C, Di Leo V, et al. Hepatobiliary alterations in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33:93-8.
50. Terjung B, Worman HJ. Anti-neutrophil antibodies in primary sclerosing cholangitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001; 15:629-42.
51. van Bodegraven AA, Schoorl M, Baak JP, Linskens RK, Bartels PC, Tuynman HA. Hemostatic imbalance in active and quiescent ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:487-93.
52. Malcomson RD, McGregor AH. Molecular screening for colon cancer in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14:1045-7.
53. Heinzlmann M, Lang SM, Neynaber S, Reinshagen M, Emmrich J, Stratakis DF, et al. Screening for p53 and K-ras mutations in whole-gut lavage in chronic inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14:1061-6.
54. D'Inca R, Cardin R, Benazzato L, Angriman I, Martines D, Sturniolo GC. Oxidative DNA damage in the mucosa of ulcerative colitis increases with disease duration and dysplasia. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10:23-7.
55. Louis E, Vermeire S, Rutgeerts P, De Vos M, Van Gossum A, Pescatore P, et al. A positive response to infliximab in Crohn disease: association with a higher systemic inflammation before treatment but not with -308 TNF gene polymorphism. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37:818-24.
56. Buderus S, Boone J, Lysterly D, Lentze MJ. Fecal lactoferrin: a new parameter to monitor infliximab therapy. *Dig Dis Sci* 2004; 49:1036-9.
57. D'Odorico A, Bortolan S, Cardin R, D'Inca' R, Martines D, Ferronato A, et al. Reduced plasma antioxidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36:1289-94.