
BIOMARCADORES DE INTERÉS EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Sara Ocaña López.

Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid.

M.^a Luisa Casas Losada.

Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid.

INTRODUCCIÓN

Se estima que un 15 % de los pacientes que acuden a su médico de Atención Primaria lo hacen con malestar digestivo recurrente. Los síntomas por los que acuden son dolor abdominal, sensación de hinchazón, diarrea, estreñimiento, náusea, vómitos, o reflujo. Estos pacientes podrían estar afectados de diferentes patologías como intolerancia a la lactosa, alergia alimentaria, enfermedad celiaca, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), un tumor, una infección o una inmunodeficiencia primaria. El diagnóstico diferencial de enfermedades con similar forma de presentación se basará en la sospecha clínica, la evaluación endoscópica e histológica de la mucosa. A su vez, existen una serie de estudios de laboratorio que podrían realizarse y que ayudarían al objetivo planteado, y serían: proteína C reactiva, estudios de heces bacteriológicos y de parásitos, hemograma, velocidad de sedimentación eritrocitaria (si bien con la PCR sería suficiente, sigue apareciendo en muchas guías), albúmina, electrolitos, aspartato-aminotransferasa (AST), alanino-aminotransferasa (ALT), urea y creatinina, estudio del metabolismo del hierro (hierro, ferritina y transferrina), sangre oculta en heces, y estudios serológicos, dependiendo de la historia clínica. Los resultados de estas pruebas, junto con la historia clínica y el examen físico nos pueden orientar hacia la realización de pruebas de laboratorio más específicas en función de la patología que se sospeche: prueba de hidrógeno espirado en el caso de la intolerancia a la lactosa, IgE específica para alérgenos alimentarios si lo que sospechamos es un proceso alérgico, transglutamina IgG e IgA en el caso de enfermedad celiaca, calprotectina en el caso de EII...

ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Término designado a un grupo de enfermedades inflamatorias crónicas de etiología desconocida del aparato digestivo, con períodos de recaídas y remisiones, sin cura perma-

nente hasta el momento y que pueden conducir a una morbilidad importante a largo plazo. Parece ser un problema de las sociedades desarrolladas, ya que el estilo de vida en ellas parece contribuir a su patogénesis. La EII está asociada con un incremento sustancial de riesgo de cáncer colorrectal, especialmente tras 8 - 10 años de enfermedad activa. Se han identificado genes de susceptibilidad para la enfermedad inflamatoria, como son las variantes del gen NOD2, y se han descrito mutaciones en algunos genes, que pueden provocar alteración de la anergia de los macrófagos intestinales ante la microbiota normal de la mucosa intestinal. Los avances en definir factores de riesgo ambientales específicos involucrados incluyen abundante evidencia indirecta que sugiere que fumar, tomar anticonceptivos orales, la dieta, apendicectomía, la lactancia, la toma de antibióticos, vacunas, infecciones e higiene en la infancia pueden estar implicados en el origen del desarrollo de esta patología. Sin embargo, hasta la fecha, ninguno de estos factores explica completamente los determinantes ambientales de la EII y la mayoría de los estudios reportan observaciones inconsistentes, haciendo necesarios estudios adicionales para comprender mejor la etiología y la fisiopatología de la EII. En resumen, se cree que la EII es el resultado de la interacción entre la genética susceptible del huésped y los factores ambientales; que influyen en la flora intestinal normal y desencadenan una respuesta por parte del sistema inmune inapropiada, una reacción antígeno-anticuerpo contra la resistencia normal de la mucosa. Parece que la historia familiar previa para la EII es el mayor factor de riesgo para estas enfermedades, mostrando que el modelo de enfermedad de familiares con diagnóstico de EII puede dar información interesante para predecir tanto el fenotipo como en la evolución de los casos nuevos. Se estima que el riesgo de EII en un familiar de primer grado es del 5 % cuando el probando es afecto de enfermedad de Crohn (EC) y de 1,6 % cuando lo que padece es colitis ulcerosa (CU), sugiriendo que la genética/ambiente influye más en la EC que en la CU. En los últimos quince años, se han desarrollado terapias biológicas y se ha extendido el uso de inmunomoduladores que han cambiado radicalmente la estrategia en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria. Los índices pronósticos se centran en la evaluación de la inflamación de la mucosa intestinal y se han convertido en un objetivo de tratamiento importante para predecir los resultados a largo plazo en términos de progresión de la enfermedad, de complicaciones y de disminución del uso de esteroides. En este contexto, el diagnóstico diferencial ha recibido una renovada atención.

La EII comprende tres tipos de enfermedades:

-Colitis ulcerosa (CU): inflamación difusa de la mucosa del colon, aunque a veces también esté afectado el recto, está limitada principalmente a la mucosa y en un grado menor a los compartimentos submucosos. Se clasifica de acuerdo con la máxima extensión de la inflamación descrita mediante colonoscopia, dado que este parámetro se correlaciona con el riesgo de complicaciones como la dilatación y el cáncer. La principal manifestación es la diarrea sanguinolenta, a veces las heces también puede estar mezcladas con moco, produciendo dolor al pasar por el ano y alivio después. Urgencia al hacer deposiciones, tenesmo y, en ocasiones, estreñimiento severo representan las quejas clásicas de implicación rectal,

mientras que la diarrea crónica con defecación nocturna y dolor abdominal tipo cólico son típicos de la CU extensa o la de lado izquierdo. Puede haber hemorragias por el ano sin deposiciones. Se admite que la colitis grave es una afección potencialmente mortal. La evolución de la CU se caracteriza por remisiones y exacerbaciones, mientras que en pocos casos se describe un proceso crónico o con recaídas frecuentes. Su prevalencia en Europa va de 4,9 a 505 casos por 100.000 habitantes, en Asia y Oriente Medio de 4,9 a 168,3, y en Norte América de 37,5 a 248,6.

-Enfermedad de Crohn (EC): inflamación transmural en forma de múltiples focos que pueden aparecer en cualquier segmento del tubo digestivo. La enfermedad se define en función de la edad de inicio, de los síntomas, la localización y el comportamiento. Los síntomas son más heterogéneos en el caso de la forma clásica EC ileo-colónica, dolor abdominal, diarrea y pérdida ponderal. Los pacientes afectados por enfermedad de Crohn que afecta exclusivamente al colon a menudo presentan un fenotipo CU-like (similar a la CU), con exudado mucopurulento y de sangre en las heces, y puede verse en más de un 40 a 50 % pacientes con colitis de Crohn, pero menos frecuentemente que en los pacientes con CU. Es característico el dolor abdominal con retortijones, localizado alrededor del ombligo y en la parte inferior derecha del abdomen. Las náuseas y los vómitos son más frecuentes que en la CU. Si la enfermedad se localiza en el estómago, los pacientes pueden quejarse de dolor en la parte superior del abdomen. Esta patología está asociada a obstrucción intestinal secundaria a estenosis, fístulas o abscesos, pudiendo necesitar cirugías paliativas. Además, estos pacientes pueden tener con más frecuencia cálculos en el riñón o en la vesícula que provoquen cólicos (debidos a malabsorción tras la resección intestinal). Está asociada a mayor discapacidad que la CU, ya que el Crohn puede afectar a todo el tubo digestivo. Síntomas sistémicos como fiebre, taquicardia y pérdida de peso están normalmente restringidos a CU severa, pero son más frecuentes en EC, sobre todo en el caso de recaídas severas o complicaciones transmurales. En cuanto a su prevalencia, en Europa se estima que el rango va de 0,6 a 322 por 100000 habitantes, en el caso de Asia y Oriente Medio de 0,88 a 67,9, y en Norte América de 16,7 a 318,5.

-Alrededor de un 5 % de los individuos con EII presentan una variante de la enfermedad que afecta el colon y que no puede clasificarse mediante criterios clínicos, radiológicos, endoscópicos o patológicos. Se prefiere la denominación de "**EII no clasificada**", ya que el concepto de "colitis indeterminada" se reserva para los pacientes que requirieron una colectomía, pero no ha sido posible clasificar la enfermedad a pesar de la evaluación de la totalidad de la pieza quirúrgica. Se asocia con peor pronóstico que la CU debido a la elevada frecuencia de las recaídas, el incremento de riesgo de cáncer de colon y los resultados menos favorables tras la anastomosis ileal-bolsa anal, sobre todo entre aquellos que son positivos a los marcadores inmunológicos. No existen muchos datos sobre su prevalencia, en adultos, estudios europeos muestran prevalencias entre 3 y 7 por 100.000 habitantes El diagnóstico de este tipo de EII parece ser entre un 5 – 15 % de todos los nuevos casos de EII, con una diferencia sustancial entre la cohorte pediátrica y la adulta (5 % - 30 % y 5 %

-12 %, respectivamente). No está claro si la elevada frecuencia de este tipo de patología observada en niños representa un fenotipo de EII asociada con comienzo de la enfermedad en la juventud o refleja más bien las dificultades en establecer un diagnóstico definitivo. Para la mayor parte de los pacientes este tipo de EII es algo temporal ya que se estima que un ochenta por ciento de los mismos serán reclasificados a CU o EC dentro de unos 8 años, sin embargo en el resto de casos EII no clasificada continuará siendo el diagnóstico como una entidad clínica separada.

Los pacientes con EII pueden presentar además manifestaciones extra-intestinales, la probabilidad de tenerlas se incrementa con la duración de la enfermedad y generalmente es mayor en la EC (24 % - 40 %), especialmente colitis de Crohn (47 %), que en la CU (26 % -31 %). La más común es la artritis enteropática, siendo su prevalencia en torno a un 11 % en la CU y un 20 % en EC; las artropatías periféricas aparecen usualmente durante las recaídas, a veces acompañadas por otras manifestaciones extraintestinales como el eritema nodoso. También con mayor prevalencia en EC (8 % -15 % vs 3 % - 10 % en CU) especialmente si el colon está implicado. De manera inversa la colangitis esclerosante primaria ocurre con más frecuencia en la CU (2 - 4 %) que en la EC (1 - 2 %). Es el doble de común en hombres que en mujeres y es poco frecuente en individuos sin EII (30 % de los casos). La mayor parte de estos pacientes tienen EII sobre todo CU 77 %. Uveitis y epiescleritis también parecen afectar a un aproximadamente 5 % de los pacientes con EII principalmente mujeres durante una recaída intestinal. Otras enfermedades correlacionadas con el diagnóstico de EII son la osteopatía metabólica, estomatitis aftosa, asma, tromboembolismo venoso, desórdenes neurológicos, hypoderma gangrenoso, psoriasis y desórdenes pulmonares.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la EII debe combinar historia clínica, examen físico, pruebas de laboratorio, esofagogatroduodenoscopia e ileocolonoscopia con histología, y pruebas de imagen del intestino delgado. Es crítico excluir infecciones entéricas. Aunque la endoscopia continúa siendo el gold estándar, para la evaluación de la actividad de la EII y la curación de la mucosa, tiene algunos riesgos y limitaciones, ya que es un procedimiento invasivo, por lo general con poca aceptación por parte del paciente y potencialmente perjudicial, además tiene un coste relativamente alto, no aporta información de la inflamación transmural y finalmente, no está bien definido el momento para realizar la evaluación endoscópica. Por esta razón, numerosos biomarcadores han sido propuestos como marcadores indirectos de la inflamación intestinal, y por lo tanto también como potenciales marcadores de actividad de la EII.

EL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA EII

Para ser un buen marcador debe cumplir una serie de retos, por una parte ayudar al diagnóstico lo antes posible, permitir valorar el grado de inflamación intestinal, es decir, el

grado de actividad de la enfermedad, permitiendo estratificar el riesgo, así como predecir el riesgo de recidiva y el grado de respuesta al tratamiento.

Proteína C Reactiva (PCR): es un marcador de fase aguda con una vida media de 19 h, se produce exclusivamente en los hepatocitos en escasa cantidad en circunstancias normales (< 1 mg/L), y se libera bajo condiciones inflamatorias. En fase aguda de EII las concentraciones van de 5 -200 mg/L variando en función de la gravedad de la enfermedad, de la extensión, además de otras variables que afectan a la capacidad de producir PCR como el estatus nutricional, el índice de masa corporal, función hepática, y polimorfismos genéticos. Se usa para discernir entre desórdenes orgánicos y funcionales, EII activa o quiescente y respuesta a la terapia, pero no es capaz de diferenciar entre EC y CU. En el caso de EC activa, la PCR es más sensible y se eleva mucho más comúnmente que en la CU, se supone que esto es debido a que en la EC la inflamación del intestino es más profunda y los niveles de IL6 (Interleucina tipo 6) más elevados. A pesar de ser menos sensible en el caso de la CU estudios previos muestran que la concentración de PCR se correlaciona con la extensión y la severidad de la enfermedad, mostrando así que la mayoría de pacientes con CU que presentaban un aumento de PCR tenían un brote de moderado a severo que superaba la flexura izquierda (del colon). En cuanto a su correlación con la clínica/actividad endoscópica la podemos ver en la tabla 1:

Grado de Enfermedad	PCR elevada CU	PCR elevada EC
Quiescente	14 %	54 %
Suave	42 %	70 %
Moderada	64 %	75 %
Severa	83 %	100 %

Tabla 1: Relación grado de enfermedad y concentración de PCR basada en el artículo de Rodgers et al de 2007.

Una correlación lineal de log(CRP) con el score clínico se encontró para todas las extensiones de CU, excepto para la proctitis. En pacientes bajo terapia inmunosupresora concomitante para EC, la PCR elevada (> 5mg/L) o un recuento de plaquetas elevado (> 298 10⁹/L) en el momento de la retirada de azatioprina fue predictivo de un futuro fracaso del infliximab (fármaco biológico utilizado en el tratamiento de EII). Aunque no es muy sensible, varios estudios han mostrado que elevaciones de PCR pueden predecir recurrencias en la EC. Un estudio reciente relaciono las concentraciones séricas de PCR con la respuesta a la terapia con infliximab en la EC: la normalización temprana de la PCR se correlacionó con la respuesta a largo plazo y un aumento sostenido de la concentración de PCR en pacientes con infliximab se correlacionó con una pérdida de la respuesta al tratamiento.

Velocidad de sedimentación globular (VSG): Velocidad a la cual los eritrocitos migran a

través del plasma durante el período de 1 hora. Ofrece un dato crudo, de la evaluación de la respuesta de fase aguda general. Cuando la inflamación está presente, los factores pro-sedimentación, como el fibrinógeno, causan que los eritrocitos se peguen juntos y sea más rápido. Hay varios factores que influyen en la VSG la edad, anemia, discrasias sanguíneas, embarazo. Comparado con la PCR los picos son más lentos y se resuelven también más despacio en respuesta a los cambios en la inflamación y tiene un menor grado de cambio. Por todo esto se considera un marcador obsoleto y no debería utilizarse, ya que además tenemos otros biomarcadores que nos informan mejor y con menos interferencia del grado de inflamación.

Otros marcadores de inflamación: Al margen de su función hemostática, las **plaquetas** tienen un papel reconocido en los procesos inflamatorios, su relación con la fisiopatología de la EII y sigue siendo un área de investigación activa, en ella el recuento de plaquetas puede ser elevado, mientras que el volumen plaquetario medio es bajo. Este hallazgo llevó a un grupo a sugerir que el recuento de plaquetas podría ser útil para distinguir la EII de diarrea infecciosa. Es un test usado de manera rutinaria, por lo que su uso, puede alertar al clínico sobre inflamación activa. Otros marcadores séricos de fase aguda son menos útiles o no se han probado como biomarcadores en la EII. El **recuento de leucocitos** puede ser elevado a pesar de no ser específico y puede estar influenciado por las terapias, como los glucocorticoides. La concentración de **albúmina sérica** puede estar disminuida en la inflamación aguda, pero hay que tener en cuenta que sus valores están afectados por el estado nutricional. El **orosomucoide** es otra proteína de fase aguda producida por los hepatocitos, que se ha demostrado que se correlaciona con la actividad de la EII; sin embargo, debido a que su vida es media larga (5 días) se ha limitado su utilidad en la práctica.

Biomarcadores Inmunológicos: Varios han sido usados de manera individual y como paneles de marcadores, para mejorar el diagnóstico de EII, para identificar fenotipos homogéneos y para ayudar a discernir entre CU y EC. En la actualidad las pruebas serológicas incluyen la determinación de anticuerpos que reconocen autoantígenos o que reaccionan de manera cruzada con diversos antígenos de bacterias y hongos. Su presencia en el suero a veces precede al debut de la enfermedad, y deja entrever la respuesta inmunológica anormal a los microorganismos comensales presentes en el intestino, posiblemente reflejando la predisposición genética diversa y los mecanismos patogénicos.

ANCA: anticuerpos predominantemente IgG dirigidos contra los constituyentes principales de los gránulos de neutrófilos y lisosomas de monocitos. Muy usados en el diagnóstico de vasculitis. El consenso internacional sobre ANCA, en cuanto a la determinación e informe de los mismos, establece que la demostración más fácil de la presencia de ANCA es usar una combinación de inmunofluorescencia indirecta (IFI) de neutrófilos procedentes de sangre periférica normal y métodos por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISAs), para detectar la especificidad de los ANCA para proteinasa 3 (PR3) y para mieloperoxidasa (MPO). Existen dos patrones de ANCA cuando observamos la IFI con neutrófilos fijados en etanol, un

patrón perinuclear y un patrón citoplasmático. P-ANCA con patrón perinuclear en etanol y citoplasmático en formalina y patrón atípico: patrón perinuclear en etanol y negativo en formalina es el que en mayor medida se asocia a EII, Los resultados que se pueden encontrar en esta patología son:

*C-ANCA positivo (patrón citoplasmático tanto en etanol como en formalina) con PR3 o MPO negativo o débilmente positivo

*P-ANCA positivo y MPO negativo o débilmente positivo

*ANCA Atípico positivo con PR3 y MPO negativo o débilmente positivo

* C-ANCA negativo con PR3 positivo débil , *P-ANCA negativo con MPO positivo débil.

Los ANCA en la EII se presentan preferentemente en la colitis ulcerosa (36,5 – 85 %) y raramente en la enfermedad de Crohn (8 - 30 %), salvo en la pancolitis de Crohn donde su aparición no es tan esporádica, o en otras formas de colitis, como la eosinofílica o la colágena.

ASCA: son anticuerpos que se unen a las secuencias de manosa del fosfopeptidomano situado en la pared celular del *Saccharomyces cerevisiae* (levadura de panadería, de cerveza), parece que *Candida albicans* también tiene epítomos para los ASCA. Estos anticuerpos han demostrado tener una prevalencia mucho mayor en los pacientes con EC que en los que sufren CU o los controles sanos. Estos anticuerpos pueden ser del isotipo IgG e IgA. Cabe destacar que los ASCA convencionales IgG/IgA y más recientemente los estudiados gASCA IgG/IgA (anticuerpos contra el manano inmovilizado covalentemente) tienen un rendimiento comparable para el diagnóstico de EC. El incremento en los títulos de ASCA identifican EC con una elevada especificidad que puede llegar al 100 % (85 – 100 %) y una moderada sensibilidad (aproximadamente 39 % - 76 %), caracterizando fenotipos de la enfermedad definidos, tales como aquellos con afectación ileal L1, L3 (L1: afectación ileon, L2: afectación colon, L3 = L1+L2), edad de inicio de síntomas, comportamiento estenosante o penetrante y cirugía intestinal múltiple.

Parece entonces que la determinación conjunta de ambos anticuerpos será de utilidad en la EII. Según un meta-análisis de 60 estudios con 7 860 pacientes con EII y 3 748 controles, un resultado ASCA+/pANCA- distingue adultos afectados de EC de aquellos diagnosticados con CU con un 55 % de sensibilidad y 93 % de especificidad, y un valor predictivo positivo del 75 % para el diagnóstico de la EC. Mientras que la combinación pANCA+/ASCA- tiene una gran utilidad en pacientes pediátricos con CU (70 % sensibilidad y 93 % especificidad). Sin embargo cuando la evaluación es restringida a pacientes con enfermedad colónica, la sensibilidad de los ASCA para EC y la especificidad pANCA para CU descienden, resultando en una combinación de prueba que discrimina peor entre EC y CU. Las determinaciones seriadas de ANCA y ASCA no son útiles para determinar la evolución de la EII en adultos. Esto junto a su sensibilidad subóptima dificulta su contribución como marcadores en la práctica clínica.

Existen otros biomarcadores inmunológicos descubiertos más recientemente:

-Anti-OmpC: anticuerpos frente a la porina de membrana externa de *E.coli*. Se ha encontrado *E.coli* adherente invasiva en las lesiones en el ileon de pacientes con EC y OmpC se ha demostrado que es necesario para que estos organismos prosperen en el tracto gastrointestinal.

-anti-I2: anticuerpos frente a la secuencia asociada I2 a *Pseudomonas fluorescens*. I2 es un fragmento de DNA bacteriano que es homólogo a la familia de un factor de transcripción bacteriana. Esta secuencia fue identificada en las células mononucleares de la lámina propia de pacientes con EC activa, y después se encontró que estaba asociado con *P. fluorescens*.

-anti-OmpW: anticuerpos frente a una proteína de la membrana de *Bacteroides caccae*.

-anti-CBir1: anticuerpos frente a la flagelina bacteriana. El CBir1 es un antígeno relacionado con la flagelina que fue identificado inicialmente en la flora entérica de los ratones y tiene una capacidad para inducir colitis en ratones inmunodeficientes.

Anti-OmpC, anti-CBir1 IgG, y anti-I2 IgA tienen una prevalencia aproximada del 50 % en pacientes con EC. Sus rangos de prevalencia van del 5 – 11 % en pacientes con CU y del 4 – 8 % en controles sanos.

En un estudio de Schoepfer y colaboradores, se encontró reactividad del suero frente a dos nuevas anti-flagelinas, **anti-A4Fla2y anti-FlaX** en el 59 % y 57 % de pacientes con EC comparado con sólo un 6 % de pacientes con CU, sugiriendo un posible papel en la diferenciación de EC frente a CU. En otro estudio se vio presencia de anticuerpos frente a A4-Fla2 y Fla-X en un 29 y 26 % de pacientes con síndrome de intestino irritable. Estos anticuerpos fueron más frecuentes en pacientes con este síndrome que acaban de pasar una infección.

También tenemos nuevos anticuerpos antiglicanos tales como los anticuerpos **anti-carbohidratos quitobioside (ACCA), anticuerpos anti-carbohidrato laminaribioside (ALCA), anticuerpos anti-carbohidrato manobioside, anti-quitina IgA (Anti-C) y anti- laminarina IgA (Anti-L)** se han encontrado positivos en al menos un tercio de los pacientes con EC negativas para ASCA, pero su sensibilidad global en EC fue baja (respectivamente 9 % - 27 %, 20 % -26 %, 12 % - 27 %, 10 % -25 % y 17 % -26 %) especialmente entre aquellos con enfermedad colónica. De manera similar los anticuerpos **anti-manoside sintética (AΣMA)** mostraron baja sensibilidad en EC comparado con ASCA (38 % vs 55 %). Sin embargo, se detectaron AΣMA en el 24 % de pacientes con EC que tenían negativos los ASCA y estaban estrechamente relacionados con implicación colónica.

Biomarcadores fecales: son valiosos por su especificidad en el tracto gastrointestinal. Durante el proceso inflamatorio de la mucosa intestinal, proteínas, productos de leucocitarios, y leucocitos mismos salen a través de la mucosa permeable y son excretados en las heces. El gold estandar es la excreción de **leucocitos radiomarcados** en las heces (con indio 111),

pero por su complejidad técnica no es adecuada para su uso en la práctica clínica diaria. En cuanto a las proteínas fecales que se pueden determinar son: calprotectina, lactoferrina, S100A12, PMN- elastasa, y neopterinina.

Calprotectina Fecal: la calprotectina es una proteína de 36 kilodalton que fija calcio y zinc, y que constituye el 60 % de las proteínas del citosol del neutrófilo, con actividad antibacteriana y también inductora de apoptosis. Los granulocitos la liberan por su activación o por su muerte en el lugar de inflamación de la mucosa lo que provoca un incremento de ésta en las heces. Sus concentraciones son más específicas que la PCR o la VSG, ya que no está influenciada por otras patologías no intestinales. Se correlaciona bien con el que hemos dicho era el gold estándar (la excreción fecal de leucocitos marcados con Indio 111). Su determinación puede ser realizada por ELISA y muestra una gran estabilidad a temperatura ambiente durante una semana. El que sea una determinación fácil de realizar y no muy cara ha llevado a la calprotectina a ser una herramienta muy usada para monitorizar pacientes con EII. Además requiere menos de 5 gramos de heces para realizar el estudio. Presenta algunas limitaciones en la práctica clínica ya que su concentración puede elevarse en otros desórdenes diferentes a la EII: neoplasia, pólipos, enteropatía anti-inflamatoria no esteroidea, pacientes con mayor edad, enfermedad celiaca, colitis microscópica, colitis alérgica e infecciones. El punto de corte no está muy bien establecido, y algunos autores describen variabilidad significativa en algunos pacientes. Aunque una concentración por encima de 50 $\mu\text{g/g}$ puede ser considerada por encima de la normalidad, un óptimo valor discriminante para discernir EII de otras entidades no ha sido completamente descrito. El más usado varía de 50 a 200 $\mu\text{g/g}$. Von Roon y colaboradores evaluaron la precisión de la calprotectina fecal para la EII y demostraron que el valor discriminante de 100 $\mu\text{g/g}$ tenía mejor exactitud que el de 50 $\mu\text{g/g}$. Incluso otros autores han subido este valor a 150 $\mu\text{g/g}$.

En cuanto a su utilidad en el diagnóstico de EII, este diagnóstico no es sólo clínico ya que los síntomas son inespecíficos, los criterios endoscópicos, radiológicos e histológicos son necesarios para confirmar o excluir el diagnóstico. Por tanto es importante para que sean el mínimo de pacientes los seleccionados para estos procesos invasivos, un marcador biológico capaz de diferencia entre una enfermedad funcional u orgánica. En este sentido la calprotectina fecal tiene una gran precisión para discriminar la EII de otras entidades no orgánicas según numerosos estudios.

Se ha encontrado dependiendo de los estudios una sensibilidad (S) del 80 al 95 % y una especificidad (E) del 76 al 95 % para el diagnóstico de EII, siendo mayor para la EC (S del 83 %, E del 85 %) que para la CU (S del 72 %; E del 74 %). En cuanto a su capacidad para discernir la EII del síndrome de intestino irritable se ha visto una S del 93 % y una E del 96 %, siendo estos valores menores en el caso de población pediátrica. La combinación de calprotectina fecal normal y criterios ROMA (se aplica a los trastornos funcionales digestivos) positivos tiene un valor predictivo positivo para Intestino irritable cercano al 100 %. Por tanto la utilización de la calprotectina fecal haría reducir el número endoscopias nece-

sarias hasta en 3 veces en el caso de adultos y un 35 % en el caso de niños. Aunque como hemos dicho se encuentra elevada en otras entidades, un elevado valor de calprotectina fecal constituye una razón importante para la realización de colonoscopia y confirmación del diagnóstico. Un valor discriminante de 50 $\mu\text{g/g}$ es ampliamente aceptado para excluir enfermedad intestinal orgánica, con un elevado valor predictivo negativo.

Si hablamos de su papel en la monitorización de la enfermedad, puede ser utilizada para observar si hay actividad de la enfermedad, presenta una buena correlación y esto es crucial para el cambio de la estrategia terapéutica. La mayoría de los índices empleados están basados en síntomas, por tanto son subjetivos y poco correlacionados con la inflamación de la mucosa. Los niveles de calprotectina fecal muestran una mejor asociación con la actividad de la enfermedad en el caso de CU que de la EC. Aunque no ha sido validado, un valor discriminante de $> 200\text{-}250 \mu\text{g/g}$ ha demostrado tener una exactitud buena en la predicción de actividad endoscópica.

En cuanto a su capacidad para valorar si hay curación de mucosa y recaída, se ha visto que concentraciones elevadas de calprotectina fecal en pacientes en fase de remisión están asociadas con un incremento en el riesgo de recaída clínica con una S del 90 % y una especificidad del 83 %. Así pacientes en remisión con elevada concentración de calprotectina fecal tienen un riesgo de recaída de 2 a 14 veces mayor en EC que en CU, comparado con pacientes sin elevación. Parece ser que pacientes con EC con una concentración $> 250 \mu\text{g/g}$ predijeron la presencia de grandes úlceras con una sensibilidad del 60 % y una especificidad del 80 %, mientras que una concentración $< 250 \mu\text{g/g}$ predijo curación de la mucosa con una S el 94 % y una especificidad del 62 %. La combinación con la PCR parece mejorar esta capacidad de la calprotectina fecal. Además podría ser útil para evaluar la evolución de la actividad de la enfermedad.

En cuanto a evaluar respuesta al tratamiento, normalmente esta respuesta está basada en aspectos clínicos, para confirmar la ausencia de lesiones endoscópicas sería necesario repetir el procedimiento endoscópico, por lo que biomarcadores que nos estimen curación son de elevada importancia. Varios estudios han demostrado que la normalización de los niveles de calprotectina fecal en pacientes con EII después del tratamiento médico es un marcador que predice la curación endoscópica. La disminución de las concentraciones de calprotectina fecal después de la terapia están asociadas con mejoría clínica, endoscópica e histológica. Es más difícil llegar a la normalización de la calprotectina ($< 50 \text{ mg/g}$) que a la de la PCR, por lo que podría representar una remisión más profunda y una cicatrización del tejido superior. Para desescalar en el tratamiento o cesar corticoides o mesalazina, una confirmación de remisión biológica con PCR o calprotectina fecal puede ser suficiente. Sin embargo, para retirar la terapia inmunosupresora o los fármacos anti-TNF, parece deseable una confirmación de curación por endoscopia. La combinación de PCR y calprotectina fecal representa una buena opción para predecir el riesgo de recaída después de la retirada infliximab.

En cuanto a su utilidad como diagnóstico de recurrencia postoperatoria, la calprotectina normalmente retorna a concentraciones dentro del rango de referencia 2 meses después de la operación y cualquier incremento de su concentración está asociada con recurrencia inflamatoria.

Lactoferrina fecal: Es una glicoproteína fijadora de hierro, que se localiza en los gránulos de los neutrófilos, y posee propiedades antimicrobianas. Se puede medir por ELISA y es resistente a ciclos de congelación-descongelación y a la degradación, lo que facilita su uso como biomarcador. A diferencia de la calprotectina que puede ser producida por monocitos y posiblemente por células epiteliales, la lactoferrina es específica de neutrófilos.

S100A12 fecal: Es similar a la calprotectina en su propiedad para fijar calcio. Esta proteína activa la vía de transducción del $\text{NF}\kappa\text{B}$ e incrementa la liberación de citoquinas. Es detectable en suero, pero el ensayo fecal es más sensible y específico para la EII.

Hay otros biomarcadores fecales que son investigados para su uso, si bien los resultados hasta la fecha son menos consistentes, hay menor correlación con la enfermedad y existe un solapamiento entre pacientes con enfermedad activa e inactiva. Así tendríamos lisozima, esterasa de leucocitos, elastasa, mieloperoxidasa, $\text{TNF } \alpha$, IL-1B, IL-4, IL-10, α 1-antitripsina, α 2-macroglobulina, M2-piruvatoquinasa.

FUTUROS BIOMARCADORES: La identificación y ensayo de nuevos marcadores es un área de investigación activa. Existen diferentes aproximaciones para la selección y el estudio: ***Biomarcadores basados en el Metaboloma:** El análisis comparativo del perfil metabólico de pacientes con EII y modelos animales ha revelado diversas dianas de evaluación. Así tenemos: **IDO1 (indolamina 2,3 dioxigenasa)** que media la vía del catabolismo del triptófano. Parece que tiene un papel en la inflamación intestinal y en la EII, actuando como primer y limitante paso en el catabolismo del triptófano, cuya vía es importante en la tolerancia inmune suprimiendo la respuesta de los linfocitos T efectores.

Microbios del intestino y su influencia en el metaboloma: hay un estudio que compara los perfiles metabólicos en orina de pacientes con EII y controles y parece que el hipurato y el 4-sulfato de cresol son menores en estos pacientes, pero existe una superposición entre todas las cohortes.

L-arginina en CU: parece que tiene un papel importante en la regulación de la integridad epitelial y la función inmune, y se ha visto que sus incrementos se dan en pacientes con CU y que correlacionan con la severidad histológica.

***Perfil de expresión génica:** Como EC y CU son desórdenes multigenéticos con fisiopatología compleja, es más probable que un panel, en lugar de un solo biomarcador, pueda tener mayor capacidad de distinguirlos. Hay estudios en marcha sobre arrays de DNA como predictores de evolución, complicaciones y respuesta a farmacoterapia.

***Array de proteínas:** Los avances en la tecnología de matriz de perfiles proteómicos han

provocado un interés en el uso de esta técnica para la evaluación de la EI humana. Los enfoques actuales incluyen también subproteómica, analizando las diferencias en los compartimentos celulares, orgánulos y fluidos biológicos. Parecen ser prometedores para la identificación de la enfermedad activa, diferenciando entre EC y CU, predicción de la respuesta al tratamiento y proporcionando información sobre la patogénesis de la enfermedad.

(*) Hay relación inversa entre CU y apendicectomía, no hay evidencias de su relación con EC. Castillo y cols. "Apendicectomía y Enfermedad de Crohn". *Cir Pediatr* 2013;26:5-8

BIBLIOGRAFÍA

-Benítez JM, García-Sánchez V. Faecal calprotectin: Management in inflammatory bowel disease. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2015 Nov 15;6(4):203-9. doi: 10.4291/wjgp.v6.i4.203.

-Iskandar N, Ciorba MA. Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease: Current Practices and Recent Advances. *Transl Res.* 2012 Apr;159(4):313-25. doi: 10.1016/j.trsl.2012.01.001. Epub 2012 Feb 1.

-Guías Distinguidas. Serie Gastroenterología Vol. 1, Nº 1, abril 2012. Actualizaciones en Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Digestivas. Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2012

-Levine A, Koletzko S, Turner D, Escher JC, Cucchiara S, de Ridder L, Kolho KL, Veres G, Russell RK, Paerregaard A, Buderus S, Greer ML, Dias JA, Veereman-Wauters G, Lionetti P, Sladek M, Martin de Carpi J, Staiano A, Ruemmele FM, Wilson DC; European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014 Jun;58(6):795-806. doi: 10.1097/MPG.0000000000000239.

-M'Koma AE. Inflammatory bowel disease: an expanding global health problem. *Clin Med Insights Gastroenterol.* 2013 Aug 14;6:33-47. doi: 10.4137/CGast.S12731. eCollection 2013

-Ocaña S, y Casas ML. Determinación de Anticuerpos frente al Citoplasma de Neutrófilos: ANCA. Comisión de Bioquímica de las enfermedades inmunológicas. SEQC. 2014 http://www.seqc.es/es/Comisiones/18/16/206/Publicaciones_de_la_Comision_l_Comision_de_Bioquimica_de_las_enfermedades_inmunologicas_l_Comite_Cientifico/

-Oussalah A, Chevaux JB, Fay R, Sandborn WJ, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Predictors of infliximab failure after azathioprine withdrawal in Crohn's disease treated with combination therapy. *Am J Gastroenterol.* 2010 May; 105(5):1142-9. [PubMed: 20389296]

-Rodgers AD, Cummins AG. CRP correlates with clinical score in ulcerative colitis but not in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2063-2068 [PMID: 17436102]

-Schoepfer AM, Schaffer T, Mueller S, et al. Phenotypic associations of Crohn's disease with

antibodies to flagellins A4-Fla2 and Fla-X, ASCA, p-ANCA, PAB, and NOD2 mutations in a Swiss Cohort. *Inflamm Bowel Dis.* 2009 Sep; 15(9):1358–67. [PubMed: 19253375]

-Schoepfer AM, Schaffer T, Seibold-Schmid B, Muller S, Seibold F. Antibodies to flagellin indicate reactivity to bacterial antigens in IBS patients. *Neurogastroenterol Motil.* 2008 Oct; 20(10):1110–8. [PubMed: 18694443]

-Tontini GE, Vecchi M, Pastorelli L, Neurath MF, Neumann H. Differential diagnosis in inflammatory bowel disease colitis: state of the art and future perspectives. *World J Gastroenterol.* 2015 Jan 7;21(1):21-46. doi: 10.3748/wjg.v21.i1.21.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), M. Rodríguez (*Presidente*), N. Rico, MC. Villà.

ISSN 1887-6463 – Abril 2016 (recibido para publicación Diciembre 2015).