



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESI DOCTORAL

UTILITAT DELS MARCADORS FECALS (CALPROTECTINA) EN LA  
PRÀCTICA CLÍNICA PEDIÀTRICA

Oscar Segarra Cantón

Director de Tesi:

Prof. Antonio Carrascosa i Lezcano

Departament de Pediatria. Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona (UAB)

**2016**



# UTILITAT DELS MARCADORS FECALS (CALPROTECTINA) EN LA PRÀCTICA CLÍNICA PEDIÀTRICA

Departament de Pediatria. Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona (UAB)

2016

Director de Tesi:

Prof. Antonio Carrascosa i Lezcano

Doctorand:

Oscar Segarra Cantón

## AGRAÏMENTS

- Al Dr. Antonio Carrascosa, sens dubte, peça clau del que tenim avui entre les nostres mans; per donar-me tot el suport i la confiança necessària per tirar endavant aquest projecte de recerca.
- Al Dr. Ramón Tormo i al Dr. Dámaso Infante, antics caps de la Unitat de Gastroenterologia pediàtrica, per encoratjar-me quan aquest projecte només era una llavor, i a la resta dels actuals components de la unitat, Dra. Marina Álvarez, Dr. Jesús Quintero, Dr. Javier Juampérez, Dra. Susana Redecillas i Dra. Raquel Núñez, sense l'ànim i ajuda dels quals, aquesta llavor no hagués aconseguit germinar i arribar a créixer fins donar-nos els seus fruits.
- A la Carme, la nostra incondicional infermera de la unitat, i a la resta d'infermeres de l'hospital de dia (Mila, Lali i Tere), per la recollida i processament inicial de les mostres abans de ser enviades al laboratori.
- A l'equip quirúrgic, tant els que van marxar com els que encara m'han de seguir suportant, Dr. Jesús Broto, Dr. Javier Bueno, Dra. Alba Lara, Dr. Carles Giné i Dra. Ana Laín.
- A tots els metges i companys, tant de dins (Reumatologia i Neonatologia), com de fora de l'hospital (Atenció Primària), que van permetre el reclutament de totes les mostres dels diferents nens i malalts de forma desinteressada.
- A tots els professionals del laboratori que em van acompanyar en aquest viatge al llarg d'aquests anys intentant entendre, tant la determinació de la calprotectina, com els resultats que m'enviaven: Dra. Virginia Rodríguez, el Dr. Jaume Vima i la Dra. Roser Ferrer.
- Al Dr. Santi Pérez Hoyos i la resta de personal de l'Institut de Recerca de l'Hospital per la seva inestimable ajuda, tant en el disseny del projecte, com en el caminar pel pantanós camp de l'estadística.
- A tots els nens, malalts i llurs famílies que van donar permís per usar les dades per tirar endavant aquest projecte de recerca.
- A tots els amics i amigues que durant aquest temps van haver de compartir el meu temps amb aquest projecte.
- A tota la meva família que, de forma estoica i resignada, van haver d'aguantar els mals moments i les males cares que, per molt que s'intenti evitar, sempre apareixen.
- Als petits i no tan petits de casa, l'Arnau, la Berta i en Joan, a qui de vegades els costa entendre perquè el Papa sempre té feina.
- A la Sonia, crossa indispensable sense la qual no hagués arribat tan lluny ni en aquest projecte, ni en cap d'altre, ja sigui personal o professional. Gràcies per ser allà, en tot moment.

# ÍNDEX



---

ABREVIATURES .....	7
INTRODUCCIÓ .....	11
· CALPROTECTINA: CONCEPTE i PROPIETATS .....	13
· PECULIARITATS MÈDIQUES en PEDIATRIA .....	13
· EXPERIÈNCIA PROVINENT dels ADULTS .....	14
JUSTIFICACIÓ DE LA TESI, HIPÒTESI I OBJECTIUS .....	17
· JUSTIFICACIÓ DE LA TESI .....	19
- DOLOR ABDOMINAL RECURRENT .....	21
- PROCÉS REUMATOLÒGIC amb MANIFESTACIONS DIGESTIVES .....	22
- MALALTIA INFLAMATÒRIA INTESTINAL .....	23
- SÍNDROME DE L'INTESTÍ CURT .....	24
· HIPÒTESI .....	25
· OBJECTIU GLOBAL .....	26
· OBJECTIUS ESPECÍFICS .....	26
PACIENTS, MATERIAL I MÈTODE .....	29
· DISSENY .....	31
- ESTUDI RETROSPECTIU .....	31
- ESTUDI PROSPECTIU: GRUP CONTROL i 4 ESCENARIS CLÍNICS A ANALITZAR ...	31
· BIOMARCADOR FECAL .....	31
· AVALUACIÓ ÈTICO-METODOLÒGICA .....	33
· ESTUDI ESTADÍSTIC .....	33

---

ESTUDI RETROSPECTIU .....	35
· METODOLOGIA .....	37
· RESULTATS .....	37
· DISCUSSIÓ .....	42
· LIMITACIONS .....	45
· CONCLUSIONS .....	45
ESTUDI PROSPECTIU .....	47
GRUP CONTROL .....	49
· METODOLOGIA .....	49
· RESULTATS .....	49
· DISCUSSIÓ .....	52
· LIMITACIONS .....	53
· CONCLUSIONS .....	53
ESCENARI DOLOR ABDOMINAL RECURRENT .....	54
· METODOLOGIA .....	54
· RESULTATS .....	54
· DISCUSSIÓ .....	58
· LIMITACIONS .....	59
· CONCLUSIONS .....	60
ESCENARI PROCÉS REUMATOLÒGIC .....	61
· METODOLOGIA .....	61
· RESULTATS .....	61
· DISCUSSIÓ .....	65



---

· LIMITACIONS .....	67
· CONCLUSIONS .....	68
ESCENARI MALALTIA INFLAMATÒRIA INTESTINAL .....	69
· METODOLOGIA .....	69
· RESULTATS .....	69
· DISCUSSIÓ .....	78
· LIMITACIONS .....	81
· CONCLUSIONS .....	81
ESCENARI SINDROME INTESTÍ CURT .....	82
· METODOLOGIA .....	82
· RESULTATS .....	82
· DISCUSSIÓ .....	91
· LIMITACIONS .....	96
· CONCLUSIONS .....	96
DISCUSSIÓ GLOBAL .....	97
CONCLUSIONS .....	101
· CONCLUSIONS ESPECÍFIQUES .....	103
· CONCLUSIÓ GLOBAL .....	103
BIBLIOGRAFIA .....	105
PUBLICACIONS I COMUNICACIONS A CONGRESSOS EN RELACIÓ A LA MATEIXA .....	117



# ABREVIATURES



- LCR, líquid cefaloraquidi
- CF, calprotectina fecal
- ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*
- VPN, valor predictiu negatiu
- AINEs, antiinflamatoris no esteroidals
- RFA, reactants de fase aguda
- MII, malaltia inflamatòria intestinal
- SII, síndrome d'intestí irritable
- PCR, proteïna C reactiva
- MC, malaltia de Crohn
- CU, colitis ulcerosa
- VSG, velocitat de sedimentació globular
- DAR, dolor abdominal recurrent
- REU, procés reumatològic
- SIC, síndrome d'intestí curt
- DAC, dolor abdominal crònic
- RMN, ressonància magnètica nuclear
- NP, nutrició parenteral
- NE, nutrició enteral
- *IBD-like, inflammatory bowel disease-like*
- DO, dolor
- DI, diarrea
- DD, dolor i diarrea
- DS, diarrea i sang
- ATGt, antitransglutaminasa tissular
- PLV, proteïnes de la llet de vaca

- FQ, fibrosi quística
- DSG, dieta sense gluten
- AIJ, artritis idiopàtica juvenil
- 5-ASA, 5-aminosalicilats
- AZA, azatioprina
- IFX, infliximab
- ADA, adalimumab
- NPD, nutrició parenteral domiciliària
- STEP, *serial transverse enteroplasty procedure*
- ECN, enterocolitis necrotitzant

# INTRODUCCIÓ





## CALPROTECTINA: CONCEPTE I PROPIETATS

La calprotectina és una proteïna fixadora de calci i zinc d'uns 36 kD de pes molecular i que pertany a la família de proteïnes S100. Constitueix aproximadament el 60% de les proteïnes solubles del citosol dels neutròfils, i també és present de forma menys abundant en monòcits i macròfags reactius<sup>1,2</sup>.

Tot i que la seva funció biològica no es coneix de forma exacta, podria tenir un paper en la regulació de la inflamació amb propietats bacteriostàtiques i fungicides. S'ha mesurat la seva concentració a nivell plasmàtic i en altres fluids biològics (saliva, LCR, sinovial), i a les femtes és on presenta una major concentració<sup>3,4</sup>. Es troba elevada a nivell fecal de forma inespecífica davant qualsevol situació patològica on hi participi un cert grau d'inflamació intestinal<sup>5,6</sup>.

La inflamació a nivell del tracte intestinal, sigui de l'origen que sigui, comporta un augment de la permeabilitat de la mucosa intestinal i la migració de granulòcits i monòcits a la llum intestinal. L'activació i mort d'aquestes cèl·lules allibera gran quantitat de calprotectina que és excretada per les femtes. La seva determinació presenta una bona correlació amb l'excreció fecal de leucòcits marcats amb Indi111, considerada com a *gold standard* clàssica per mesurar l'activitat inflamatòria intestinal<sup>7</sup>.

Les característiques especials d'aquesta proteïna amb una elevada resistència al calor i a la degradació metabòlica, tant per part de la flora bacteriana, com per les pròpies proteases intestinals, li ha permès erigir-se com un biomarcador no invasiu d'activitat inflamatòria a nivell intestinal.

Des de les seves primeres descripcions, els diferents grups de treball han volgut anar definint quins podrien ser els seus potencials camps d'actuació, tant en l'adult com en el nen, però, com tota nova tècnica que s'introdueix en la pràctica clínica, requereix d'una corba d'aprenentatge i cal assumir i conèixer les seves avantatges i desavantatges.

La determinació de calprotectina fecal (CF) és un mètode no invasiu, de recollida ambulatoria per part del propi pacient, que es realitza a través de tècniques d'ELISA en tan sols 5 grams de femta. Presenta una elevada sensibilitat per la patologia gastrointestinal i un alt valor predictiu negatiu (VPN). Per contra, presenta una absència d'especificitat, un *cut-off* encara per definir i se'n descriu una possible interferència amb medicacions gastrolesives (AINEs) o per la presència de sang. A més, pot presentar una gran variabilitat amb l'edat (prematuro, nen i adult) i també entre el mateix individu al llarg del temps<sup>8</sup>.

## PECULIARITATS MÈDIQUES en PEDIATRIA

Podríem definir a la pediatria com l'especialitat mèdica que s'encarrega de la salut i les malalties del nen. El terme pren origen del grec *paidos* (nen) i *iatrea* (medicina) però com fèiem esment en la definició, el seu propòsit és molt més ample ja que estudia tant el nen malalt com el sa. Cronològicament, la pediatria abasta des del naixement fins l'adolescència.

Un nen NO és un adult en petit. Hi ha un seguit de similituds però també un seguit de diferències, a banda de les purament morfològiques o anatomo-fisiològiques. El nen és un organisme dinàmic des del moment del naixement, amb un conjunt de peculiaritats i necessitats distintives respecte a l'adult.

És evident que aquest nadó ha de créixer, ha de desenvolupar-se. És un organisme que neix amb una sèrie d'òrgans i sistemes que necessiten de maduració i aprenentatge al llarg del temps com, per exemple, el sistema immunològic. Tanmateix, no només ens hauríem de quedar en els aspectes més "biològics", sinó que el pediatre també ha de tenir cura i fer el seguiment dels aspectes pedagògics i psico-emocionals del seu desenvolupament.

Els pediatres hem de ser coneixedors de les patologies "pròpies" de l'adult que poden afectar al nen, de les patologies "pròpies" del nen i de les patologies iniciades a nivell pediàtric però que es manifestaran en edat adulta. A més, en les primeres a nivell pediàtric, el fet que el mecanisme fisiopatològic sigui similar no garanteix que la forma de presentació ho sigui, ja que el seu organisme pot respondre de forma diferent a la mateixa "agressió".

Tot aquest seguit de diferències fa que, de vegades, els abordatges, tant a nivell diagnòstic com terapèutic, puguin ser diferents. A nivell diagnòstic, sempre es busca la possibilitat d'arribar-hi per mitjà de les exploracions i/o tècniques menys invasives i doloroses. A nivell terapèutic, s'intenta aplicar les opcions amb una ràtio benefici/risc més elevada oferint les teràpies nutricionals, si existeixen, per davant de les farmacològiques, com en el cas de les esofagitis eosinofíliques o en la malaltia de Crohn<sup>9,10</sup>.

Sota aquest interès en el desenvolupament de tècniques mínimament invasives, va néixer la determinació de la CF, un biomarcador d'activitat inflamatòria intestinal que podria evitar determinacions de sang, exploracions radiològiques i/o procediments endoscòpics. La seva introducció a nivell pediàtric va ser fàcilment acceptada per molts de nosaltres<sup>11-13</sup>.

## EXPERIÈNCIA PROVINENT dels ADULTS

Els reactants de fase aguda (RFA) es venen utilitzant en l'estudi i el seguiment de malalts amb processos inflamatoris intestinals des de fa unes dècades amb diferents objectius, tant de discriminació, com de monitorització d'un procés ja conegut. És a dir, en el diagnòstic diferencial d'un procés orgànic (malaltia inflamatòria intestinal (MII)) envers un de funcional (síndrome d'intestí irritable (SII)), però també en el seguiment del curs evolutiu d'un procés inflamatori ja establert.

De tots els RFA, la proteïna C reactiva (PCR) és el que més s'ha estudiat i ve proporcionant excel·lents resultats. És un marcador objectiu d'inflamació i es correlaciona bé amb el grau d'activitat, tant en la malaltia de Crohn (MC), com en la colitis ulcerosa (CU). A més, presenta una vida mitjana curta, s'eleva de forma precoç amb la inflamació i disminueix en paral·lel amb la seva resolució. De determinació ràpida i senzilla, tanmateix, també té els seus inconvenients com, per exemple, tenir una menor correlació en els malalts de CU respecte als de MC<sup>14</sup>.

Els marcadors fecals semblaven molt prometedors i més específics per detectar la presència d'inflamació intestinal. Contràriament a la PCR, la CF sembla presentar una major sensibilitat diagnòstica en malalts de CU respecte als de MC<sup>15</sup>.

Tot i el seguit de dades que juntament són capaces de proporcionar una acurada anamnesi, una exhaustiva exploració física i les troballes de les proves de laboratori, aquestes són, en freqüència, merament orientatives o suggestives de la presència d'inflamació intestinal, i aquesta inflamació acaba requerint ser confirmada/descartada per procediments endoscòpics. En aquest escenari discriminatiu, i amb finalitats estalviadores d'endoscòpies, és on la CF es va anar obrint camí inicialment, per després intentar demostrar els seus usos potencials com a paràmetre de monitorització d'una MII ja diagnosticada: risc de recaiguda, grau d'eficàcia terapèutica...<sup>16-20</sup>

El magnífic treball de revisió del Dr. J. Pérez Gisbert, publicat al 2.009, va ser capaç de reflectir de forma precisa la potencialitat clínica que es tenia en aquell moment de la CF, però també el seguit d'interrogants que encara no havien aconseguit trobar resposta<sup>21</sup>.



# JUSTIFICACIÓ DE LA TESI, HIPÒTESI I OBJECTIUS



## JUSTIFICACIÓ DE LA TESI

Les primeres referències de la CF daten del 1.992, quan Roseth et al. desenvolupen i descriuen per primera vegada el mètode i les seves possibles aplicacions. No serà fins l'any 2.000 quan Ton et al. milloren i validen el mètode, i aquest passa a disposició de la comunitat científica de forma universal<sup>2,22</sup>.

Al llarg de la primera dècada del 2.000 van anar apareixent puntualment diferents grups de treball que, per una banda intentaven descriure els possibles usos potencials, i per altra les avantatges i desavantatges d'aquest nou biomarcador a nivell fecal.

Els adults sempre havien tingut la problemàtica de la discriminació entre la patologia orgànica i la funcional a nivell digestiu, que condicionava la necessària realització de procediments endoscòpics per descartar la organicitat de la simptomatologia manifestada. Conseqüentment es va pensar en la possibilitat d'incorporar la CF a l'algoritme diagnòstic d'aquest escenari per fer servir aquesta determinació amb finalitats estalviadores de procediments endoscòpics, reduint així incomoditats i costos<sup>15,16</sup>.

Era evident que un nou biomarcador de tècnica senzilla, barata, no invasiva i sensible, que detectava activitat inflamatòria intestinal es voldria fer camí en el món de la malaltia inflamatòria intestinal. Ràpidament va demostrar una millor sensibilitat i especificitat respecte als RFA clàssics tant per al diagnòstic com en el seguiment<sup>18,19</sup>.

A nivell de la MII, on la CF no només buscava una finalitat de simple discriminació, sinó de monitorització continuada de l'activitat inflamatòria al llarg del temps, és on s'han anat descrivint altres potencials utilitats. La primera d'elles, per a predir el risc de recaiguda: la sensibilitat de la CF li permet elevar-se abans que la resta de RFA clàssics, fins i tot setmanes abans de l'aparició del empitjorant clínic del malalt. I la segona d'elles, per comprovar la resposta a la medicació emprada: la realització de determinacions seriades de CF posaria en evidència un descens progressiu de les seves xifres amb una bona correlació amb la restitució de les lesions endoscòpiques observades<sup>13,23</sup>.

A nivell pediàtric, l'evolució va ser mimètica degut a que, tant les patologies a descartar (orgànic vs funcional), com les dificultats per fer-ho (procediment endoscòpic pediàtric), eren superposables a les del món del adult<sup>24,25</sup>.

De forma paral·lela a l'augment d'experiència en l'ús de la CF i dels usos potencials, també van anar apareixent un seguit d'obstacles, limitacions i/o preguntes. Certament la CF presentava una major sensibilitat respecte els altres RFA habituals (PCR, VSG i/o junts), i no s'alterava davant altres afectacions inflamatòries sistèmiques no digestives. Tanmateix, seguia tenint una manca d'especificitat per aclarir el procés últim generador d'aquesta inflamació intestinal<sup>17</sup>.

La ingesta d'AINEs, degut als seus efectes enteropàtics o la presència de sang barrejada a les femtes, podia incrementar de forma significativa les seves xifres basals<sup>26</sup>.

Una altra limitació pediàtrica era la seva variabilitat amb l'edat. Les seves xifres, molt elevades en el nadó, i més encara en el prematur, anaven decreixent durant el primer any fins a assolir les xifres pròpies de l'adult<sup>27</sup>.

La major limitació ha estat i segueix essent aclarir l'òptim *cut-off* per decidir els valors de normalitat d'aquest nou biomarcador fecal. Inicialment es va establir com a punt de tall la xifra de 50 mcg/g; tanmateix, al llarg del temps s'ha anat posant en dubte aquest valor i es recomana individualitzar-lo en funció de la patologia a descartar, de la fase de la mateixa, i fins i tot de persona en concret estudiada<sup>22,28</sup>.

En aquesta direcció, s'han pogut demostrar valors elevats de CF en celíacs en malaltia activa, és a dir, al debut diagnòstic, o en malalts sense adherència a la dieta sense gluten. Aquests valors van disminuint progressivament a partir del primer mes d'haver instaurat una dieta correcta i saludable<sup>11</sup>.

Altres autors han descrit la presència d'elevacions de la CF en 1/3 dels familiars de primer grau de malalts diagnosticats de MII, suggerint la possibilitat que aquests darrers, tot i lliures de malaltia, presentin una "subinflamació intestinal" sense cap tipus de rellevància patològica, ja que menys d'un 10% d'aquests familiars acabaran progressant a una de clínicament aparent al llarg del temps<sup>29,30</sup>.

Potser per entendre aquesta qüestió cal tornar als orígens i recordar on és present la calprotectina i què origina la seva alliberació a nivell abdominal. La seva presència és proporcional a la migració transepitelial de neutròfils a nivell del tracte digestiu, per tant, la medicació de CF no està pensada com a marcador de malaltia orgànica intestinal, sinó més aviat com a paràmetre de medicació de la inflamació intestinal neutrofílica en un moment donat.

Un resultat negatiu o baix de CF no hauria de ser interpretat com a absència de malaltia orgànica intestinal, sinó com a absència d'activitat inflamatòria neutrofílica en el moment de l'obtenció de la mostra fecal. L'alt VPN de la CF ens hauria de permetre deixar de realitzar exploracions o seguir buscant malalties que cursin o puguin cursar amb inflamació del tracte digestiu. Per contra, un resultat positiu o elevat de CF constitueix un fort argument per a la realització d'un estudi endoscòpic per confirmar una MII o altres processos orgànics que cursin o puguin cursar amb inflamació a aquest nivell.

## LA NOSTRA EXPERIÈNCIA i PROJECTE

La nostra corba d'aprenentatge amb la CF es va iniciar l'any 2.009, inicialment amb les 2 indicacions clíniques més habituals: en la discriminació entre patologia orgànica i funcional, i en el diagnòstic i seguiment de la MII. Durant els següents 2 anys, vam anar acumulant experiència en 4 escenaris de símptomes (dolor abdominal aïllat, diarrea aïllada, diarrea + dolor, i diarrea + sang) i va ser en aquell moment que vam decidir que era necessari analitzar de forma crítica les nostres determinacions de CF de forma retrospectiva i plantejar-nos un seguit d'escenaris clínics prospectius que estaven generant preguntes que pensàvem que la CF ens podria respondre, algunes descrites i d'altres inèdites:



- El dolor abdominal recurrent (DAR)
- El procés reumatològic amb manifestacions digestives (REU)
- La malaltia inflamatòria intestinal (MII)
- El síndrome de l'intestí curt (SIC)

## DOLOR ABDOMINAL RECURRENT

El dolor abdominal de llarga durada en el nen sempre ha constituït i constitueix un motiu de consulta freqüent als Centres d'Atenció Primària i als hospitals. Pot arribar a representar entre el 10 - 25% del motiu de derivació a les consultes externes d'una unitat de gastroenterologia pediàtrica<sup>31</sup>.

Si aquest dolor abdominal es perllonga més d'un mes es defineix com a dolor abdominal crònic (DAC) i, seguint els criteris clàssics de Apley i Nash del 1958, si ho feia per més de 3 mesos, es definia com a dolor abdominal recurrent (DAR)<sup>32</sup>. Actualment, amb la descripció de les diverses hipòtesis fisiopatològiques, la seva terminologia i els criteris diagnòstics (criteris de Roma III) han anat modificant-se<sup>33</sup>.

Tanmateix, la problemàtica en el seu abordatge o aproximació diagnòstica ha seguit sent la mateixa: la discriminació entre la patologia orgànica i la funcional.

Una anamnesi i una exploració física complertes són els components inicials i punt de partida essencial per enfrontar-se a un malalt amb DAC. Cal establir una relació de confiança amb el pares i el malalt, valorar l'actitud del nen i els pares davant d'aquest dolor, i determinar si existeixen signes d'alarma d'organicitat en la història clínica i/o examen físic. Si fos així, caldrà determinar quines són les exploracions complementàries que ens caldria realitzar per acabar de filiar l'origen d'aquest dolor.

La realitat moltes vegades dista d'aquest abordatge i és un quadre simptomàtic que angossa molt els pares i el propi nen o adolescent. Arriben a les consultes externes amb molts mesos d'evolució, amb l'opinió de molts especialistes a l'esquena i amb la realització de moltes exploracions complementàries que no han aconseguit evidenciar cap alteració orgànica significativa.

Tot aquest viatge innecessari a més de no aconseguir filiar el quadre, ha generat desconfiança dels pares vers el sistema sanitari i, de vegades, ha aconseguit "psicotitzar" el nen davant la realització d'un elevat nombre d'exploracions complementàries.

Per extrapolació amb el colon irritable o síndrome d'intestí irritable de l'adult, es va pensar en la possibilitat d'oferir la determinació de CF en aquest perfil de nens com a *screening* de patologia orgànica. Si analitzem el llistat d'exploracions clàssicament emprades en la primera línia de l'algoritme diagnòstic, gran part d'elles estaven orientades a confirmar/descartar patologia inflamatòria a nivell del tracte digestiu<sup>24,25</sup>.

Poder oferir un biomarcador fecal no invasiu i amb un alt VPN per detectar patologia inflamatòria intestinal, en casos *naïve* ens podria simplificar molt aquesta bateria inicial de

proves, i en casos ja avaluats permetria evitar la realització de procediments endoscòpics, si realment no estiguessin justificats per determinacions de CF prèviament elevades.

La nostra intenció va ser dissenyar un estudi prospectiu addicionant la determinació de CF a l'algoritme d'actuació habitual per tal d'avaluar-ne els seus potencials beneficis.

## PROCÉS REUMATOLÒGIC amb MANIFESTACIONS DIGESTIVES

Amb certa freqüència els processos reumatològics presenten, al llarg de la seva evolució, simptomatologia digestiva que obliga a realitzar un seguit d'exploracions per esbrinar la participació del tracte digestiu en el ventall d'afectacions orgàniques que el malalt presenta. Tot i que aquesta freqüència és molt difícil de definir de forma global per la gran heterogeneïtat d'entitats o subtipus, en les espondiloartropaties, a tall d'exemple, Mielants et al. van demostrar que fins a 2/3 presentaven una inflamació intestinal subclínica detectada per proves d'imatge amb la gammagrafia o la ressonància magnètica nuclear (RMN)<sup>34,35</sup>.

Per altra banda, fins a un 25% de les MII pediàtriques poden arribar a presentar clínica extraintestinal al debut de la malaltia o en el decurs del temps, sent la clínica articular en forma de artràlgies o artritis, la més freqüent<sup>36,37</sup>.

Aquesta situació de possible superposició de diagnòstics o de participació de diferents òrgans i sistemes genera la necessitat d'arribar a un diagnòstic de certesa (reumatològic o gastroenterològic o mixt) per mitjà de la realització d'un seguit d'exploracions complementàries, de vegades, amb procediment endoscòpic inclòs, per tal de descartar o confirmar la participació orgànica del tracte digestiu.

L'aplicació de la determinació de la calprotectina com a biomarcador d'activitat inflamatòria en el món de la reumatologia, també ha estat estudiada encara de forma excepcional. S'han pogut demostrar nivells elevats de calprotectina, tant a líquid sinovial, com a nivell plasmàtic, en situacions d'inflamació activa<sup>38</sup>.

Al 2011, Stoll et al. publicaven per primera vegada l'ús de la CF com a biomarcador fecal per avaluar la possible participació digestiva en 26 casos d'artritis idiopàtica juvenil<sup>39</sup>.

De la mateixa manera que succeïa en l'escenari del DAR, poder oferir un biomarcador fecal, per tant, no invasiu i amb un alt VPN per detectar patologia inflamatòria intestinal, podria ser d'alta utilitat per evitar la realització de procediments endoscòpics, si realment no estiguessin justificats per determinacions de CF prèviament elevades.

La nostra intenció va ser dissenyar un estudi prospectiu addicionant la determinació de CF a l'algoritme d'actuació habitual per tal d'avaluar-ne els seus potencials beneficis.

## MALALTIA INFLAMATÒRIA INTESTINAL

La MII la podríem definir com una malaltia que es caracteritza per presentar una inflamació a nivell del tracte digestiu que de vegades s'acompanya de manifestacions extradigestives, de curs crònic, amb brots d'activitat i períodes de remissió, i que requereix d'un tractament immunosupressor per mantenir el control de l'activitat inflamatòria desencadenada<sup>36,37</sup>.

Tot i el desconeixement dels mecanismes fisiopatològics últims que activen la cascada inflamatòria, de manera similar a la malaltia celíaca, a la seva naturalesa immunològica hi concorren factors genètics i ambientals. Apareix després de la ruptura entre la necessària relació de cordialitat que s'hauria d'establir entre l'ambient (flora intestinal pròpia) i el sistema immunològic, en persones genèticament predisposades. Aquesta pèrdua de control en el reconeixement antigènic a nivell intestinal és la responsable de la inflamació permanent<sup>40,41</sup>.

Se'n descriuen bàsicament 2 entitats: la colitis ulcerosa i la malaltia de Crohn. La primera, limitada exclusivament al colon i amb afectació contínua i homogènia a nivell de la mucosa. La segona, capaç d'afectar de forma discontinua i transmural a qualsevol segment del tracte digestiu. Les seves manifestacions estan molt supeditades al segment afectat: diarrea intensa amb presència de mucositat i sang en les colitis ulceroses, i dolor abdominal amb o sense diarrea aquosa en el Crohn<sup>10,42</sup>.

No existeix cap dada patognomònica, i per tant, el seu diagnòstic es basarà en 4 pilars bàsics: sospita clínica, sospita analítica (elevació de PCR i VSG), sospita per imatge (endoscòpia, sempre que sigui possible) i compatibilitat histològica. Al 2.005, el grup de treball europeu de MII pediàtrica (*pediatric IBD working group*), va publicar els criteris de Porto en un intent d'homogeneïtzar les actituds i diagnòstics<sup>43</sup>.

Un debut de MII en edat pediàtrica comporta uns objectius terapèutics extra respecte a l'adult; el manteniment d'una activitat inflamatòria crònica pot interferir de forma manifesta en el normal desenvolupament de l'individu, tant a nivell somàtic, com psicològic<sup>44</sup>.

En un escenari pediàtric, preocupat per controlar de la millor manera possible l'activitat inflamatòria intestinal, perseguint la curació mucosa a nivell del tracte digestiu (*mucosal healing*), però poc inclinat a la pràctica de procediments endoscòpics de forma repetida; la determinació de CF, un nou biomarcador, no invasiu, sensible i que detectava activitat inflamatòria intestinal, va tenir una molt bona acollida<sup>45,46</sup>.

Ràpidament, i de forma paral·lela al món dels adults, ha anat demostrant la seva capacitat en el diagnòstic i en el seguiment de la malaltia: risc de recaigudes i resposta terapèutica<sup>13,47</sup>.

Tanmateix, l'aplicació de la CF en la MII ha aconseguit respondre un seguit de preguntes però també n'ha generat d'altres. Encara no s'han pogut determinar els *cut-off* de normalitat en el seguiment d'aquesta patologia, és a dir, quin seria el màxim valor de CF en un malalt ja diagnosticat i sota tractament que obligaria a realitzar un nou procediment endoscòpic perquè s'assumiria una recaiguda; o quin seria el mínim valor de CF que permetria evitar realitzar un nou procediment endoscòpic perquè s'assumiria la seva curació mucosa.

La nostra intenció va ser dissenyar un estudi prospectiu addicionant la determinació de CF a l'algoritme d'actuació habitual per tal d'avaluar-ne els seus potencials beneficis i intentar buscar aquests *cut-off* a nivell pediàtric.

## SÍNDROME DE L'INTESTÍ CURT

El síndrome de l'intestí curt (SIC) fa referència a una situació de malabsorció i malnutrició secundària a la pèrdua congènita o postnatal de part de l'intestí prim, generalment per la seva resecció en el període neonatal, que genera una superfície d'absorció insuficient. A nivell pediàtric, l'enterocolitis necrotitzant de la prematuritat, la gastrosquisi, les atrèsies intestinals, la volvulació i una extensa aganglionosi en podrien ser algunes de les causes més freqüents. Tanmateix, a més del SIC anatòmic, també ens podem trobar amb un SIC funcional, és a dir, un intestí amb una longitud adequada però funcionalment insuficient, per exemple, per una pseudo-obstrucció intestinal crònica o una atròfia/displàsia vellositària congènita<sup>48,49</sup>.

En ambdues situacions, ja sigui per un problema anatòmic o funcional, fins que aquest intestí no assoleixi una autonomia digestiva, caldrà un abordatge complex que permeti satisfer les seves necessitats tant hídriques com nutricionals. El correcte desenvolupament de l'individu només serà possible a través de la infusió d'una nutrició per via parenteral.

Un intestí resecat presenta una gran plasticitat, especialment en edat pediàtrica. Tota la sèrie de canvis o creixement adaptatiu que experimenta al llarg dels mesos s'anomena procés d'adaptació o rehabilitació intestinal. Són canvis dirigits a millorar la seva capacitat funcional, a augmentar la mida de les seves vellositats i la superfície d'absorció intestinal<sup>50,51</sup>.

Tanmateix, l'assoliment de l'autonomia digestiva i, per tant, la retirada de la nutrició parenteral (NP), objectiu final d'aquest procés d'adaptació, no sempre és possible. Al llarg del temps s'han intentat descriure els seus factors pronòstics més importants: la causa del SIC, el tipus de cirurgia realitzada (amb/sense ostomia), l'intestí residual (amb/sense vàlvula ileocecal i colon), el nivell de citrulina plasmàtic, la nutrició enteral (NE) tròfica, l'administració ciclada de NP i l'evitació de les infeccions, serien alguns dels més importants. En aquests casos, caldria recórrer al trasplantament intestinal, hepato-intestinal o multivisceral, si fos possible<sup>52,53</sup>.

En aquestes 2 darreres dècades, hem assistit a un augment d'aquest tipus de malalts degut a la milloria a nivell del diagnòstic precoç d'aquestes entitats, de les tècniques quirúrgiques emprades i del seu seguiment postoperatori.

Aquesta situació ha permès entendre millor tot aquest procés adaptatiu i les diferents complicacions que a curt, mig i llarg termini, tant iatrogèniques com adaptatives, poden patir aquest tipus de malalts: derivades de la NP (deshidratació, malnutrició, colèstasi hepatobiliar...), dels propis catèters vasculars centrals que requereixen per administrar aquesta NP (infeccions, ruptures, trombosi venosa profunda...), quirúrgiques (estenosi, dehiscència de sutura, ulceració anastomòtica...) i les inherents al propi procés adaptatiu de l'intestí com el sobrecreixement bacterià<sup>54,55</sup>.

En un intent d'augmentar la seva superfície d'absorció, l'intestí té tendència a dilatar-se de forma progressiva. Quan aquesta dilatació supera un diàmetre crític acaba repercutint sobre el normal peristaltisme i aquest acaba conduint a un sobrecreixement bacterià. Aquest condicionarà una inflamació intestinal que acabarà manifestant-se bàsicament de 3 maneres (diarrea secretora, acidosi D-làctica i *IBD-like*), probablement, en funció de l'enterotipus basal i de les soques sobredimensionades<sup>56,57</sup>.

Aquesta forma *IBD-like*, una de les més freqüents, fa referència a la presència de lesions endoscòpiques, circumscrites a l'intestí prim, que imiten a les pròpies d'una MII. El sobrecreixement de soques amb capacitat d'adherència a la paret intestinal condicionen una inflamació crònica, que finalment condueix a l'aparició d'ulceracions de caràcter progressiu que, fent servir els índexs endoscòpics aplicats a la MII (*Rutgeerts endoscopic score*), podrien ser catalogades com a lleus, moderades o greus<sup>58</sup>.

La disbiosi amb manca de tolerància a la flora sapròfita pròpia s'especula com a iniciador de la cascada inflamatòria en la MII; la disbiosi amb manca de tolerància a la flora sobrecreixuda seria probablement la responsable de les lesions observades en el sobrecreixement bacterià en el SIC. Aquestes similituds a nivell fisiopatològic amb l'activitat inflamatòria intestinal com a pedra angular iniciadora del procés ens va fer pensar en la possibilitat d'introduir la determinació de CF amb les mateixes finalitats que en la MII: a nivell de discriminació i monitorització de l'evolució natural del seu procés adaptatiu<sup>59,60</sup>.

La nostra intenció va ser dissenyar un estudi prospectiu addicionant la determinació de CF a l'algoritme d'actuació habitual per tal d'avaluar-ne els seus potencials beneficis i intentar buscar, fins i tot, *cut-off* similars als buscats en el món de la MII.

## HIPÒTESI

· L'aplicació de nous biomarcadors fecals (calprotectina) en diferents escenaris pediàtrics pot tenir importants implicacions, tant diagnòstiques com terapèutiques, que ens poden permetre millorar la nostra pràctica clínica. La capacitat de la CF per discriminar i/o monitoritzar l'activitat inflamatòria intestinal, i la seva aparent bona correlació amb els habituals paràmetres clínics, analítics i d'imatge emprats en aquests casos, poden permetre optimitzar, simplificar i, fins i tot, abaratir els actuals algoritmes d'actuació.

## OBJECTIU GLOBAL

- Demostrar la utilitat de la calprotectina fecal en 4 escenaris clínics pediàtrics: el dolor abdominal recurrent (DAR), els processos reumatològics amb manifestacions digestives (REU), la malaltia inflamatòria intestinal (MII) i el síndrome de l'intestí curt (SIC).

## OBJECTIUS ESPECÍFICS

### ESCENARI dolor abdominal recurrent o DAR

- Valorar la capacitat de discriminació de la CF entre el dolor abdominal orgànic i el funcional.
- Comparar les xifres de CF del grup DAR respecte al grup control pediàtric.
- Correlacionar les xifres de CF amb la resta d'exploracions emprades en el diagnòstic diferencial habitual d'ambdues entitats.

### ESCENARI procés reumatològic amb clínica digestiva o REU

- Valorar la capacitat de la CF per discriminar la participació digestiva en diferents processos reumatològics.
- Comparar les xifres de CF del grup REU respecte al grup control pediàtric.
- Correlacionar les xifres de CF amb la resta d'exploracions emprades habitualment per descartar/confirmar la participació digestiva en aquests processos.

### ESCENARI malaltia inflamatòria intestinal o MII

- Valorar la capacitat de monitorització de la CF al llarg de l'evolució natural de la malaltia inflamatòria intestinal.
- Analitzar les xifres de CF al debut de la malaltia i per subtipus de malaltia inflamatòria intestinal (colitis vs Crohn).
- Correlacionar les xifres de CF i la resta d'exploracions emprades al debut de la malaltia.
- Valorar la utilitat de les xifres de CF com a eina de monitorització de resposta terapèutica de la malaltia.
- Valorar la utilitat de les xifres de CF com a factor predictiu de recidiva de malaltia.

ESCENARI síndrome intestí curt o SIC

- Valorar la capacitat de monitorització de la CF al llarg de l'evolució natural del síndrome d'intestí curt.
- Comparar les xifres de CF del grup SIC respecte al grup control pediàtric.
- Correlacionar les xifres de CF i la resta d'exploracions emprades en el seu seguiment.
- Valorar la utilitat de les xifres de CF com a eina de monitorització de resposta al tractament aplicat.
- Valorar la utilitat de les xifres de CF com a factor predictiu de mala evolució del procés d'adaptació intestinal.





# PACIENTS, MATERIAL I MÈTODE



## PACIENTS, MATERIAL I MÈTODE

Aquesta tesi inclou dues fases d'investigació i estudi. En primer lloc, les dades i resultats de l'estudi retrospectiu des de la introducció d'aquesta determinació fecal en la nostra unitat (juny 2.009 - juny 2.011). En segon lloc, les dades i resultats dels 4 escenaris clínics típicament pediàtrics i del grup control pediàtric de comparació, tots ells, especialment dissenyats per intentar respondre les diferents preguntes formulades en els objectius del treball de recerca (juny 2.011 - juny 2.014).

## DISSENY

### ESTUDI RETROSPECTIU

- Recollida retrospectiva de totes les mostres de CF sol·licitades des de la introducció d'aquesta tècnica en el nostre centre (juny 2.009 a juny 2.011).
- Criteris d'inclusió: malalts pediàtrics (0 a 18 anys) atesos a la nostra Unitat de Gastroenterologia Pediàtrica amb simptomatologia digestiva en forma de: dolor (DO), diarrea (DI), dolor i diarrea (DD), i diarrea i sang (DS).
- Recollida retrospectiva de totes les dades demogràfiques, clíniques i analítiques dels malalts a qui se'ls va demanar la determinació de CF.
- Estudi estadístic descriptiu i analític per tal d'intentar determinar les patologies i/o escenaris en les quals la determinació de CF podria optimitzar l'abordatge diagnòstic o terapèutic actual.

### ESTUDI PROSPECTIU: GRUP CONTROL I QUATRE ESCENARIS CLÍNICS A ANALITZAR

#### GRUP CONTROL

- Recollida prospectiva (juny 2.011 a juny 2.013) de mostres de CF procedents de 2 poblacions diferents: per una banda, nens sans atesos a Atenció Primària, i per l'altra, celíacs sota tractament i atesos a la nostra unitat de Gastroenterologia Pediàtrica.
- Criteris d'inclusió: nens sans atesos a Atenció Primària en coincidència amb un dels seus controls regulars de nen sa i celíacs controlats a la nostra unitat que complien els criteris de: clínicament asimptomàtics, amb correcta adherència a la dieta per un temps no inferior als 2 anys i uns marcadors serològics de antitransglutaminasa tissular (ATGt) IgA < 5 U/mL.
- Recollida prospectiva de totes les dades demogràfiques, clíniques i analítiques necessàries, tant dels nens sans, com dels celíacs a qui se'ls va demanar la determinació de CF.
- Estudi estadístic descriptiu i analític per tal de crear un millor marc pediàtric de comparació i comprovar les similituds i divergències amb les xifres del *kit* de laboratori (Calprest) validat en població adulta.

#### QUATRE ESCENARIS CLÍNICS A ANALITZAR

- Recollida prospectiva (juny 2.011 a juny 2.014) de mostres de CF procedents de 4 escenaris clínics: DAR, REU, EII i SIC seguits de forma regular a la nostra unitat de Gastroenterologia Pediàtrica.
- Criteris d'inclusió DAR: malalts pediàtrics (0 a 18 anys) controlats a la nostra Unitat de Gastroenterologia Pediàtrica amb el diagnòstic clínic de dolor abdominal recurrent segons els criteris de Roma III<sup>33</sup>.
- Criteris d'inclusió REU: malalts pediàtrics (0 a 18 anys) controlats a la nostra Unitat de Gastroenterologia Pediàtrica, derivats des de la Unitat de Reumatologia Pediàtrica, per simptomatologia digestiva, diagnosticats seguint les guies de pràctica clínica internacionals<sup>61-64</sup>.
- Criteris d'inclusió MII: malalts pediàtrics (0 a 18 anys) controlats a la nostra Unitat de Gastroenterologia Pediàtrica amb el diagnòstic de malaltia inflamatòria intestinal segons els criteris d'Oporto<sup>43</sup>.
- Criteris d'inclusió SIC: malalts pediàtrics (0 a 18 anys) controlats a la nostra Unitat de Gastroenterologia Pediàtrica amb el diagnòstic de síndrome d'intestí curt seguint les guies de pràctica clínica internacionals<sup>48</sup>.
- Recollida prospectiva de totes les dades demogràfiques, clíniques i analítiques necessàries dels 4 escenaris esmentats.
- Estudi estadístic descriptiu i analític per tal d'intentar respondre les diferents preguntes formulades en els objectius del treball de recerca plantejat.

#### BIOMARCADOR FECAL

Els malalts recullen la mostra fecal als seus domicilis en un pot de coprocultiu convencional i la nostra infermera de consultes externes o d'hospital de dia la processava per ser correctament enviada al nostre laboratori. La CF és estable en femtes a temperatura ambient, com a mínim, durant 72 hores i per més de 6 mesos, congelada. En menys de 48 hores, les mostres es preparaven, es remetien al laboratori i s'analitzaven segons les instruccions del fabricant (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia).

Les concentracions de CF es calculaven a partir de la corba de regressió polinomial de quart ordre, obtinguda amb els estàndards del *kit* (6.25, 12.5, 25, 50 i 100 ng/mL). Els resultats s'expressen en mcg/g. Les mostres que superaven la linealitat de la tècnica, amb lectura d'absorbància superior a la del calibrador de major concentració, van ser diluïdes com indica el fabricant: amb el sobrenedant obtingut a partir dels extractes es van realitzar dilucions creixents: 1:100, 1:200 fins a un límit de 1:500 vegades. El límit inferior de detecció és de 5 mcg/g.

## AVALUACIÓ ÈTICO-METODOLÒGICA

L'estudi va ser avaluat i aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica (CEIC) del Hospital Universitari Vall d'Hebron i tots els malalts van donar el seu consentiment per a participar en aquesta recerca clínica.

## ESTUDI ESTADÍSTIC

S'ha dut a terme una anàlisi descriptiva dels valors de concentració de CF en funció de les diverses variables per cada grup de malalties, comparant-los amb els d'un grup control pediàtric (celíac/control). S'ha calculat la mitjana, la mediana, desviació típica i l'interval interquartílic. Depenent de la simetria de la distribució de la variable i de la prova de normalitat de Shapiro-Wilk s'han comparat els grups mitjançant la prova T-test o la U de Man-Whitney per a dos grups, o la prova de ANOVA o Kruskal-Wallis per més grups, segons el test de normalitat. Per tal de mostrar de manera gràfica les distribucions s'ha utilitzat un diagrama de caixes on es representa la mediana i el interval interquartílic. S'ha considerat un error tipus I de  $p < 0.05$ . Les anàlisis han estat realitzades amb el programa STATA 13.0.



# ESTUDI RETROSPECTIU





## ESTUDI RETROSPECTIU

### METODOLOGIA

L'any 2.009 vam introduir la determinació de CF a la nostra unitat de Gastroenterologia pediàtrica. Entre el juny de 2.009 i el juny de 2.011 van ser sol·licitades un total de 162 determinacions de CF en diferents escenaris clínics i per diverses indicacions. Totes elles, més la informació clínica referent als malalts a qui se'ls va indicar, constitueixen el material d'aquesta fase retrospectiva de la nostra recerca.

Durant 2 anys, vam anar sol·licitant determinacions de CF davant la presència de simptomatologia digestiva, en un intent de calibrar el grau d'activitat inflamatòria intestinal. Les 4 indicacions digestives van ser: dolor (DO), diarrea (DI), dolor + diarrea (DD) o diarrea + sang (DS).

Es mostren les mesures descriptives habituals, mitjana (desviació típica), mínim i màxim, mediana i quartils, segons les variables d'agrupació. Es presenten els valor p de les proves de contrast d'igualtat de mitjanes (T-student o Anova) o d'igualtat de distribucions (U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis), segons si el nombre de categories és 2 o més de 2. S'escull el primer grup de test si la variable és simètrica i normal, segons la prova de Shapiro-Wilks. En el diagrama de caixes es representa la mediana (línia central) i els percentils 25 i 75.

### RESULTATS

Les dades demogràfiques bàsiques dels malalts a qui se'ls va recollir una mostra fecal per a la determinació de CF queden recollides en la Taula 1.

Quant al sexe, vam tenir un cert predomini del masculí: 105 de les 162 mostres (64.8%) van correspondre a aquest sexe.

Quant a l'edat, vam agrupar les mostres per franges etàries. Aquestes van tenir una freqüència ascendent en funció de l'edat. És a dir, a major edat, major nombre de sol·licituds d'estudi: 9 mostres (5.6%) en menors de 1 any, 31 mostres (19.2%) en nens de 1 a 4 anys, 33 mostres (20.3%) en nens de 5 a 9 anys i 89 (54.9%), en majors de 10 anys. Més de la meitat de les mostres van correspondre a aquest darrer grup.

Quant a la indicació, es va indicar la determinació de CF davant de 4 manifestacions digestives: per dolor (DO) 46 (28.4%), per diarrea (DI) 77 (47.5%), per dolor i diarrea (DD) 21 (13%), i per diarrea i sang (DS) 18 (11.1%). La diarrea va ser el motiu més freqüent, constituint quasi el 50% del motiu de la indicació.

Taula 1. Dades demogràfiques

· Número de determinacions	162
· Període	Juny 2.009 - Juny 2.011
· Homes/Dones	105 (64.8%)/57 (35.2%)
· Edat	
- Menors de 1 any	9 (5.6%)
- De 1 a 4 anys	31 (19.2%)
- De 5 a 9 anys	33 (20.3%)
- Majors de 10 anys	89 (54.9%)
· Indicació de la determinació de CF	
- Dolor (DO)	46 (28.4%)
- Diarrea (DI)	77 (47.5%)
- Dolor i diarrea (DD)	21 (13%)
- Diarrea i sang (DS)	18 (11.1%)
· Diagnòstics	
- Malaltia inflamatòria intestinal	71 (43.8%)
- Dolor abdominal recurrent	15 (9.2%)
- Síndrome d'intestí irritable	5 (3%)
- Malalt amb immunodeficiència	16 (10%)
- Malalt reumatològic	8 (5%)
- Malalt amb fibrosi quística	4 (2.5%)
- Malalt amb cardiopatia	3 (1.8%)
- Al·lèrgia alimentària	13 (8%)
- Síndrome d'intestí curt	8 (5%)
- Postinfecciosa	9 (5.5%)
- Procés autolimitat	10 (6.2%)

Abreviatures: CF, calprotectina fecal

Quant al diagnòstic dels malalts, en ocasions ja conegut prèviament a la seva indicació/determinació de CF, va ser força divers: malaltia inflamatòria intestinal 71 (43.8%), dolor abdominal recurrent 15 (9.2%), síndrome d'intestí irritable 5 (3%), malalt amb immunodeficiència 16 (10%), malalt reumatològic 8 (5%), malalt amb fibrosi quística 4 (2.5%), malalt amb cardiopatia 3 (1.8%), al·lèrgia alimentària 13 (8%), síndrome d'intestí curt 8 (5%), postinfecciosa 9 (5.5%) i procés autolimitat 10 (6.2%). Les causes més ben descrites a la literatura, la malaltia inflamatòria intestinal i la discriminació entre les causes funcionals i orgàniques (intestí irritable i dolor abdominal recurrent), van constituir els diagnòstics més freqüents i van suposar-ne més del 50%.

Quant a les xifres de calprotectina, no vam trobar diferències estadísticament significatives ni per sexe ni per edat, com s'observa a la Figura 1 i 2, respectivament. Quant a

les xifres de calprotectina (mcg/g) per sexe, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: femení 174.35 (92) (38 - 220) i masculí 219.05 (124) (31 - 254). Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g) per edat, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: menors 1 any 284.75 (189.50) (75.5 - 270), 1 a 4 anys 121.33 (54) (25 - 163), 5 a 9 anys 263.81 (190) (47 - 268.5), majors de 10 anys 206.97 (127) (37 - 285).

Figura 1. Xifres de CF per sexe

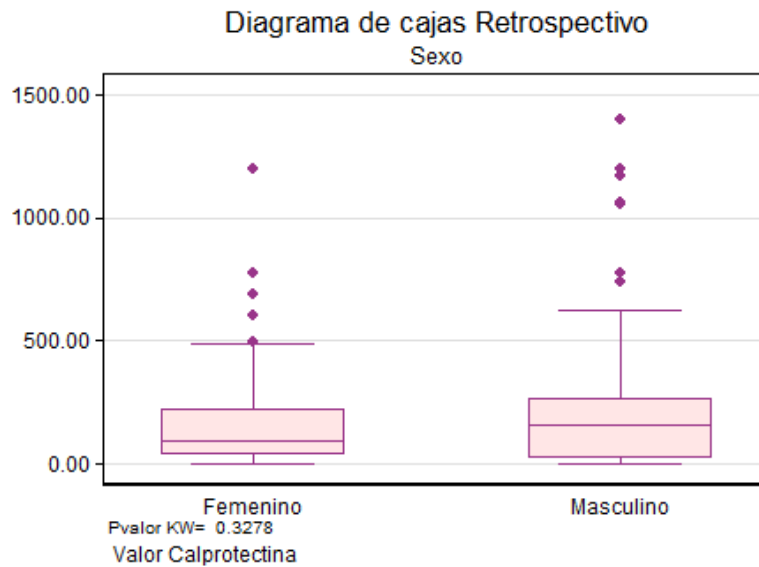
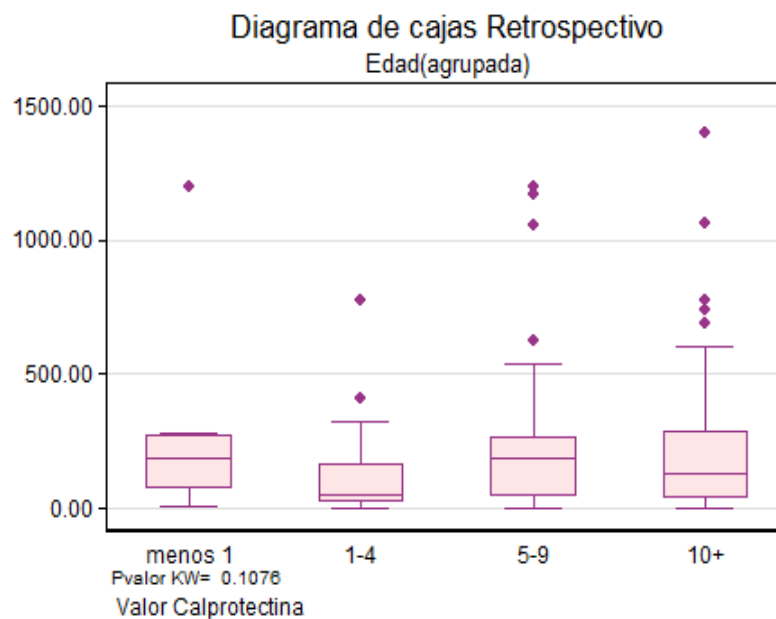


Figura 2. Xifres de CF per edat



Quant a les xifres de calprotectina, el més interessant seria poder analitzar els seus valors i les seves variacions atenent a la seva indicació i al seu diagnòstic. Aquestes dades queden recollides a les Taules 2 i 3, respectivament.

Taula 2. Determinacions de calprotectina per INDICACIÓ

· Número de determinacions	162
· Període	Juny 2.009 - Juny 2.011
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	203.32 (259.56) (5 - 1.401)
· Calprotectina per indicació (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Dolor (DO)	75.07 (37.5) (10 - 81)
- Diarrea (DI)	194.94 (121) (29 - 224)
- Dolor i diarrea (DD)	381.81 (241) (152 - 410)
- Diarrea i sang (DS)	358.72 (332) (230 - 487)

Abreviatures: CF, calprotectina fecal; sd, *standard deviation*; IQR, *interquartile range*

Taula 3. Determinacions de calprotectina per DIAGNÒSTIC

· Número de determinacions	162
· Període	Juny 2.009 - Juny 2.011
· CF global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	203.32 (259.56) (5 - 1.401)
· CF per diagnòstic (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Malaltia inflamatòria intestinal	314.62 (222) (79 - 427)
- Dolor abdominal recurrent	23.20 (13) (5 - 37)
- Síndrome d'intestí irritable	20.20 (15) (15 - 15)
- Malalt amb immunodeficiència	157.75 (137.5) (76.5 - 90)
- Malalt reumatològic	61.88 (60) (22 - 95)
- Malalt amb fibrosi quística	165.25 (183.5) (105 - 225.5)
- Malalt amb cardiopatia	13.67 (14) (8 - 19)
- Al·lèrgia alimentària	89 (179) (75.5 - 213.5)
- Síndrome d'intestí curt	146.25 (179) (75.5 - 213.5)
- Postinfecciosa	359.67 (249) (166 - 375)
- Procés autolimitat	86.6 (63) (21 - 100)

Abreviatures: CF, calprotectina fecal; sd, *standard deviation*; IQR, *interquartile range*

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g) per indicació, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: dolor (DO) 75.07 (37.5) (10 - 81), diarrea (DI) 194.94 (121) (29 - 224), dolor i diarrea (DD) 381.81 (241) (152 - 410), i diarrea i sang (DS) 358.72 (332) (230 - 487). El valor de la seva mediana va tenir una tendència a l'alça en funció de la indicació, posant de manifest que a les categories DD i DS era més probable evidenciar la presència d'una activitat inflamatòria intestinal subjacent. Aquestes xifres de CF van tenir una diferència significativa, amb una  $p < 0.001$ , com es reflecteix a la Figura 3.

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g) per diagnòstic, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: malaltia inflamatòria intestinal 314.62 (222) (79 - 427), dolor abdominal recurrent 23.20 (13) (5 - 37), síndrome d'intestí irritable 20.20 (15) (15 - 15), malalt amb immunodeficiència primària 157.75 (137.5) (76.5 - 90), malalt reumatològic 61.88 (60) (22 - 95), malalt amb fibrosi quística 165.25 (183.5) (105 - 225.5), malalt amb cardiopatia 13.67 (14) (8 - 19), al·lèrgia alimentària 89 (179) (75.5 - 213.5), síndrome d'intestí curt 146.25 (179) (75.5 - 213.5), postinfecciosa 359.67 (249) (166 - 375) i procés autolimitat 86.6 (63) (21 - 100). De la mateixa manera que succeïa en les xifres de CF per indicació, aquestes xifres de CF presentaven diferències significatives, amb una  $p < 0.001$ , com es reflecteix a la Figura 4.

Figura 3. Xifres de CF per indicació

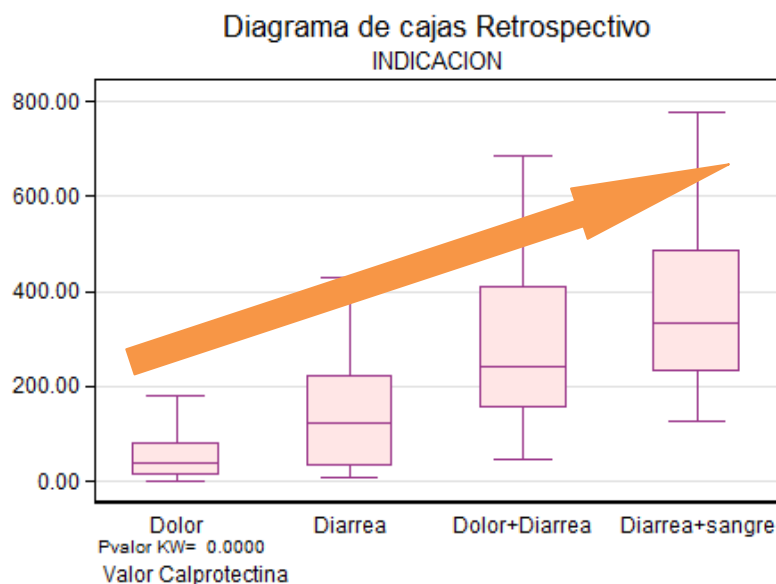
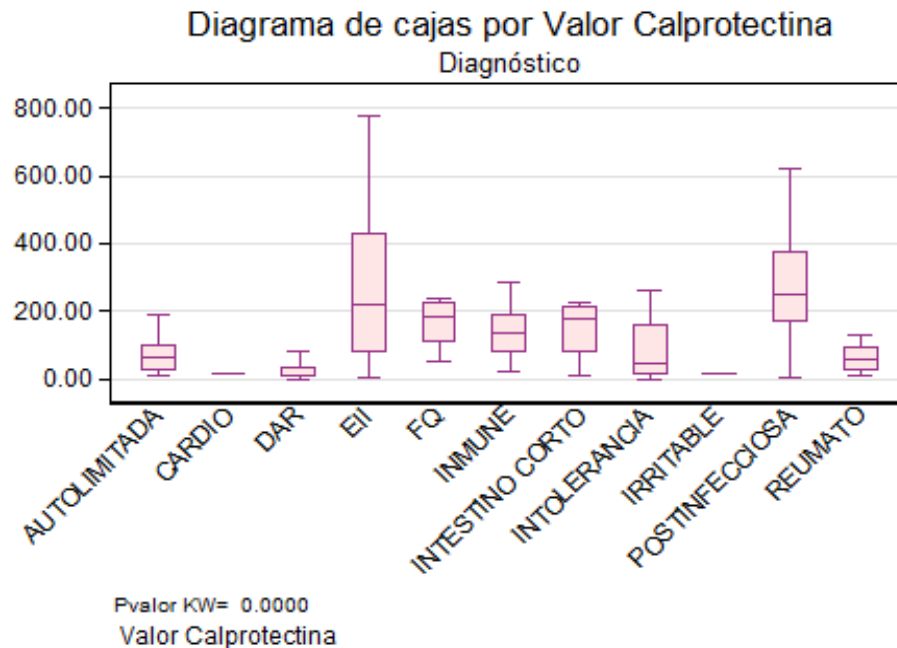


Figura 4. Xifres de CF per diagnòstic



Les xifres més elevades ( $n > 200$  mcg/g) en la postinfecciosa i en la MII, xifres intermitges (entre 100 i 200 mcg/g) en immunodeficiència, en fibrosi quística, en al·lèrgia alimentària i en SIC, i les xifres més baixes ( $n < 50$  mcg/g) en intestí irritable i en DAR.

## DISCUSSIÓ

Aquesta primera fase retrospectiva de la nostra recerca, al llarg de 2 anys, amb més de 150 determinacions recopilades, ens va permetre fer un seguit d'observacions i reflexions, i intentar determinar quins escenaris prospectius podríem dissenyar per seguir avançant en les aplicacions d'aquest nou biomarcador fecal d'activitat inflamatòria intestinal.

Les xifres de CF globals expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 203.32 (259.56) (5 - 1.401) eren superiors als valors de normalitat indicades pel fabricant del test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia). Aquest va ser el nostre punt de partida per intentar respondre al "què-qui-com" sobre la calprotectina fecal.

El nostre objectiu va ser recollir les diferents variables clíniques que ens permetessin analitzar i interpretar les diferents determinacions de CF per buscar-ne els escenaris prospectius més útils a nivell pediàtric.

Quant al sexe, vam trobar un lleuger predomini de mostres sol·licitades en el sexe masculí (64.8%), però sense evidenciar diferències entre sexes en el valors de CF ( $p$  0.328), com ja era conegut a la literatura<sup>65</sup>.

Quant a l'edat, es van sol·licitar determinacions de CF de forma ascendent. En altres paraules, a major franja d'edat, major nombre de determinacions. El grup de majors de 10 anys va arribar a representar amb 89 mostres, el 54.9% de totes elles. Això s'explicaria pel diagnòstic de base on més freqüentment aquesta CF va ser sol·licitada, la MII. Lògicament, quan vam decidir introduir aquesta tècnica al 2.009 al nostre centre, vam iniciar la nostra corba d'aprenentatge en les indicacions universalment més extensament provades en l'adult: la MII i l'intestí irritable<sup>21</sup>.

Quant a la indicació, de les 4 manifestacions digestives per les quals es sol·licitava la CF (DO, DI, DD o DS), la diarrea amb un 47.5% del total d'indicacions, va ser el motiu més freqüent, si bé, aquesta indicació va ser molt variable en funció del diagnòstic subjacent. Per exemple, el 100% de les indicacions dels malalts que van ser diagnosticats de dolor abdominal recurrent va ser el dolor. En altres, com en la malaltia inflamatòria intestinal, els % van ser més diversos: DI 39.4%, DD 25.4%, DS 22.5% i DO 12.7%.

Quant al diagnòstic dels malalts, tot i que els primers mesos des de la introducció de la tècnica al nostre centre els diagnòstics preferents van ser els més evidenciats a la literatura del moment, a la finalització de la fase retrospectiva vam poder disposar d'informació en escenaris ben diversos des de, evidentment, la MII (43.8%) fins a la cardiopatia (1.8%). Aquesta diversitat, com veurem més endavant, analitzant les seves xifres de CF per diagnòstic, ens va permetre definir molt bé els escenaris de recerca prospectiva posterior<sup>66-68</sup>.

Quant a les xifres de CF (mcg/g) per edat, tot i no evidenciar diferències significatives entre elles (p 0.399), seria interessant comentar les majors xifres de CF de les 8 mostres obtingudes en menors d'un any expressades en mitjana, mediana i IQR: 284.75 (189.50) (75.5 - 270) respecte a la seva franja d'edat immediatament superior, els 1 a 4 anys, amb 121.33 (54) (25 - 163). Podríem buscar-hi una doble explicació, per una banda, els valors més alts que de forma fisiològica es descriuen en aquesta d'edat; per l'altra, els diagnòstics concrets que amagaven aquestes determinacions: 3 intestins curts, 3 al·lèrgies no IgE mediades a les proteïnes de la llet de vaca (PLV) i 2 postinfeccioses. Diagnòstics, tots ells, com veurem més endavant, responsables de nivells potencialment alts o intermitjos de CF<sup>69</sup>.

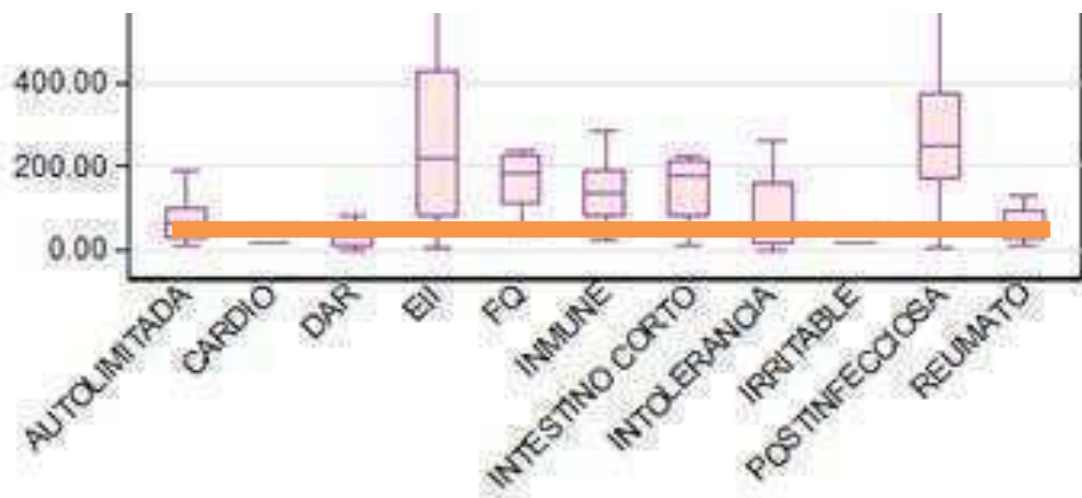
Quant a les xifres de CF (mcg/g) per indicació expressades en mitjana, mediana i IQR, és altament il·lustrativa la tendència a l'alça de la mediana de la Gràfica 3 de les 4 possibles indicacions. Les xifres més elevades van correspondre, lògicament, a les categories (DD) 381.81 (241) (152 - 410) i diarrea i sang (DS) 358.72 (332) (230 - 487). Com s'explicava anteriorment, les indicacions estaven supeditades al diagnòstic de base, és a dir, la probabilitat d'una indicació o un altra, venia marcada pel seu origen o diagnòstic. Alhora, el resultat de la CF, una xifra potencialment baixa, mitja o elevada, també venia marcada pel diagnòstic subjacent. Així, sota les categories DS i DD s'hi amagava amb més probabilitat la MII, la postinfecciosa, la immunodeficiència i la fibrosi quística (FQ). Per contra, sota la categoria DO, el dolor abdominal recurrent i l'intestí irritable.

Quant a les xifres de CF (mcg/g) per diagnòstic expressades en mitjana, mediana i IQR, és també molt il·lustrativa la diversitat de valors representats a la Gràfica 4. En ella, els diferents diagnòstics presentaven unes medianes marcadament diferents posant de manifest l'activitat inflamatòria intestinal inherent o no a cada diagnòstic. Les xifres medianes més

elevades ( $n > 200$  mcg/g) corresponien a la postinfecciosa i la MII, xifres intermitges (entre 100 i 200 mcg/g) a la immunodeficiència, la fibrosi quística, l'al·lèrgia alimentària i al SIC, i les xifres més baixes ( $n < 50$  mcg/g) a l'intestí irritable i el DAR<sup>70-72</sup>.

A la Figura 5 vam traçar una línia amb el *cut-off* de 50 mcg/g recomanat pel fabricant del biomarcador (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia), podent apreciar patologies amb medianes sistemàticament més elevades, sense ser capaços de decidir si estàvem detectant sempre activitat inflamatòria clínicament rellevant o si havíem d'individualitzar *cut-off* diferents en funció de cada procés de base<sup>73</sup>.

Figura 5. Xifres de CF per diagnòstic



Aquesta informació recopilada de forma retrospectiva durant aquests 2 primers anys de recerca ens estimulava a buscar els millors escenaris prospectius a investigar. Teníem per endavant tot un món per descobrir. Un seguit de preguntes havien trobat respostes. Un seguit de noves preguntes les reclamaven.

Ara calia donar un pas endavant i dissenyar de forma prospectiva, per una banda, un grup control de comparació pròpiament pediàtric, i per altra banda, decidir la patologia o patologies en les quals la determinació de CF creïem que podria optimitzar l'abordatge diagnòstic o terapèutic d'aquell moment (2.011).

A la Figura 6 s'aprecien els 4 escenaris clínics pels quals finalment ens vam decidir. 2 escenaris de discriminació d'activitat inflamatòria intestinal: el dolor abdominal recurrent (DAR) i els processos reumatològics amb manifestacions digestives (REU). I 2 escenaris de monitorització d'aquesta activitat inflamatòria intestinal: la malaltia inflamatòria intestinal (MII) i el síndrome de l'intestí curt (SIC). Cada escenari amb el seu disseny, protocol i objectius.



Figura 6. Xifres de CF per diagnòstic



### LIMITACIONS

Les limitacions que hauríem d'assumir d'aquesta fase retrospectiva de la nostra recerca serien bàsicament 3. La primera, les limitacions inherents a un estudi retrospectiu amb potencial biaix en la recollida de dades a diferents nivells: clínics, analítics i/o resultats. La segona, la N de la mostra, amb només 162 determinacions de CF per analitzar un nombre important de variables. La tercera, prendre com a grup control les dades de normalitat (50 mcg/g) facilitades pel fabricant del biomarcador (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia) i validades en població adulta.

### CONCLUSIONS

L'aplicació de nous biomarcadors fecals (calprotectina) en diferents escenaris pediàtrics sembla ser capaç de detectar de forma fiable activitat inflamatòria intestinal on: no s'aprecien diferències ni per edat ni per sexe, s'intueixen xifres de CF diferents per indicació i s'evidencien xifres de CF diferents per diagnòstic.

La capacitat de la CF no només per discriminar sinó per calibrar/quantificar l'activitat inflamatòria intestinal, i la seva aparent bona correlació amb els habituals paràmetres clínics, analítics i d'imatge emprats, haurien de poder permetre optimitzar, simplificar i, fins i tot, abaratir els actuals algorismes diagnòstics i terapèutics d'actuació en certes patologies.



# ESTUDI PROSPECTIU



## ESTUDI PROSPECTIU: GRUP CONTROL

### METODOLOGIA

Entre el juny de 2.011 i el juny de 2.013 van ser sol·licitades de forma prospectiva un total de 50 determinacions de CF en 2 poblacions diferents: 25 nens sans atesos a l'Atenció Primària i 25 celíacs controlats a la nostra unitat de Gastroenterologia Pediàtrica. El grup de celíacs havien de complir 3 criteris d'inclusió: asimptomàtics, amb correcta adherència a la dieta sense gluten (DSG) per un temps no inferior als 2 anys, i uns marcadors serològics de ATGt IgA < 5 U/mL. Totes les determinacions de CF i la informació clínica referent als nens/es a qui se'ls va indicar constitueix el material d'aquesta fase prospectiva.

Aquesta primera fase prospectiva perseguia 2 objectius: el primer, dissenyar un grup control pediàtric creant un possible millor marc pediàtric de comparació per comprovar les similituds i divergències amb les xifres del biomarcador fecal recomanades pel laboratori fabricant (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia) i validades en població adulta; el segon, evidenciar la no diferència entre el control sa pròpiament dit (Atenció primària) i un celíac controlat i sota tractament per un període no inferior als 2 anys.

Es mostren les mesures descriptives habituals, mitjana (desviació típica), mínim i màxim, mediana i quartils en el grup control i celíac, segons les variables d'agrupació. Es presenten els valor p de les proves de contrast d'igualtat de mitjanes (T-student o Anova) o d'igualtat de distribucions (U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis), segons el nombre de categories sigui 2 o més de 2. S'escull el primer grup de test si la variable és simètrica i normal, segons la prova de Shapiro-Wilks. En el diagrama de caixes es representa la mediana (línia central) i els percentils 25 i 75.

### RESULTATS

Les dades demogràfiques bàsiques dels nens a qui se'ls va recollir una mostra fecal per a la determinació de CF queden recollides en la Taula 4.

Les 2 poblacions estudiades (Atenció Primària i Celíacs) no van presentar diferències estadísticament significades per edat i sexe (p 0.776 i p 0.454, respectivament) com queden reflectides a la Figura 7.

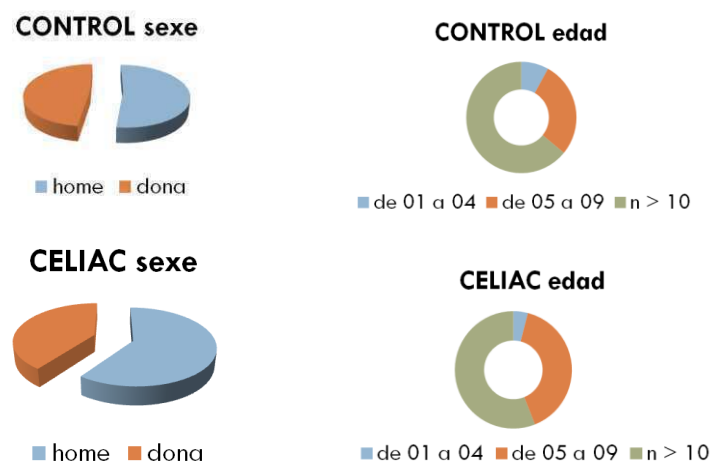
Quant al grup de celíacs, a més de la determinació de CF, es va comprovar el compliment dels diferents criteris d'inclusió. Es va dissenyar un protocol i, en tots ells, es va calcular el temps sota DSG, els nivells plasmàtics IgA i de ATGt IgA, la xifra de PCR i es va recollir un coprocultiu. La mitjana de temps de DSG va ser de 64 mesos (rang 24 - 125), la mitjana de nivells plasmàtics IgA va ser 115 mg/dL (rang 61 - 221), la mitjana dels nivells de ATGt va ser 2 U/mL (rang 0.1 - 6.1) i la mitjana dels nivells de PCR va ser 0.1 mg/dL (rang 0.01 - 0.5).

Taula 4. Dades demogràfiques i característiques clíniques

· Número de determinacions	50
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.013
<b>GRUP ATENCIÓ PRIMÀRIA</b>	
· Homes/Dones	13 (52%)/12 (48%)
· Edat	
- Menors de 1 any	1 (4%)
- De 1 a 4 anys	1 (4%)
- De 5 a 9 anys	6 (24%)
- Majors de 10 anys	17 (68%)
<b>GRUP CELÍACS</b>	
· Homes/Dones	15 (60%)/10 (40%)
· Edat	
- Menors de 1 any	0 (0%)
- De 1 a 4 anys	2 (8%)
- De 5 a 9 anys	10 (40%)
- Majors de 10 anys	13 (52%)
· Temps de DSG (mesos) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	57 (24 -125)
· Nivells de IgA (mg/dL) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	103 (61 -221)
· Nivells de ATGt IgA (U/mL) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	1.1 (0.1 - 6.1)
· Xifra de PCR (mg/dL) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	0.05 (0.01 - 0.5)
· Coprocultiu (%)	25 (100%)

Abreviatures: DSG, dieta sense gluten; IgA, Immunoglobulina A; ATGt, antitransglutaminasa tissular ; PCR, proteïna C reactiva

Figura 7. No diferències per sexe i edat

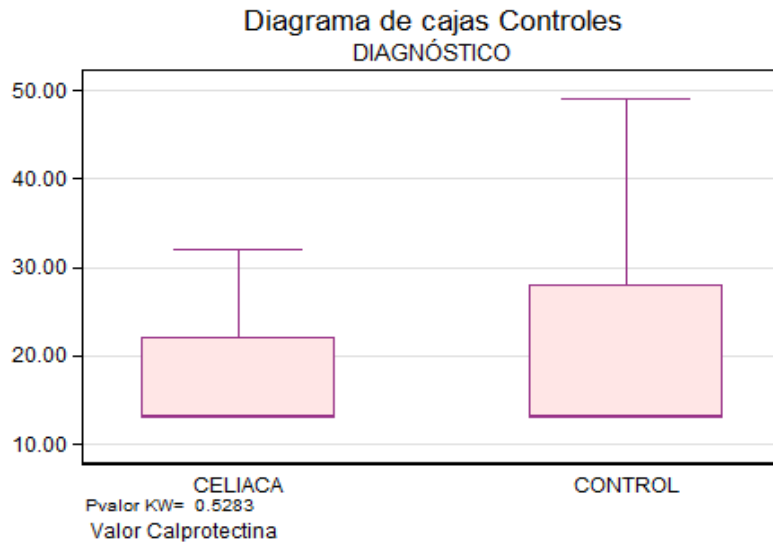


Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), recollides a la Taula 5, no vam trobar diferències ni per sexe ni edat. Per sexe, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: femení 21.05 (17) (13 - 28) i masculí 18.39 (13) (13 - 23). Per edat, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: menors 1 any 44 (44) (44 - 44), 1 a 4 anys 34 (28) (25 - 49), 5 a 9 anys 16.38 (13) (13 - 22), majors de 10 anys 19 (13) (13 - 26).

Taula 5. Determinacions de calprotectina	
· Número de determinacions	50
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.013
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	19.56 (9.5) (13 - 49)
<b>PER SEXE</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Femení	17 (13 -28)
- Masculí	13 (13 -23)
<b>PER EDAT</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Menors de 1 any	44 (44 - 44)
- De 1 a 4 anys	28 (25 - 49)
- De 5 a 9 anys	13 (13 - 22)
- Majors de 10 anys	13 (13 - 26)
<b>GRUP ATENCIÓ PRIMÀRIA</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	13 (13 -28)
<b>GRUP CELÍACS</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	13 (13 -22)
Abreviatures: CF, calprotectina fecal; sd, <i>standard deviation</i> ; IQR, <i>interquartile range</i>	

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), el més interessant era poder analitzar la presència o absència de diferència significativa entre el grup d'Atenció Primària i el grup de celíacs. Aquestes xifres de calprotectina (mcg/g) entre les 2 poblacions, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: Atenció Primària 21.8 (13) (13 - 28) i Celíacs 17.32 (13) (13 - 22) amb una p no significativa de 0.492. Com es pot apreciar a la Figura 8, els seus valors de mediana i IQR eren molt similars. En definitiva, eren 2 grups equiparables en funció del sexe, edat i xifres de calprotectina.

Figura 8. No diferències entre les 2 poblacions



## DISCUSSIÓ

Aquesta fase prospectiva de la nostra recerca, al llarg de 2 anys, amb 50 determinacions obtingudes en 2 poblacions diferents (Atenció Primària i Celíacs), ens va permetre fer un seguit d'observacions i reflexions, i intentar determinar, per una banda, si les 2 poblacions eren equiparables i, per altra banda, si el disseny del grup control pediàtric resultant podia constituir un millor marc de comparació respecte al recomanat pel fabricant del biomarcador fecal i validat en població adulta<sup>18</sup>.

Les xifres de CF globals expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 19.56 (9.5) (13 - 49) eren sensiblement inferiors als valors de normalitat recomanades pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia).

El nostre objectiu va ser determinar la validesa del nostre grup de control pediàtric i decidir si el *cut-off* obtingut reflectia un marge de normalitat de la CF en edat pediàtrica, assumint, per tant, l'absència d'activitat inflamatòria a nivell del tracte digestiu amb xifres inferiors a un valor donat.

Les 2 poblacions estudiades (Atenció Primària i Celíacs) no van presentar diferències estadísticament significades ni per edat ni per sexe, per tant, vam plantejar-nos la possibilitat d'analitzar les dades de les seves determinacions de CF de forma conjunta.

Quant al grup de celíacs, el resultat normal de totes les exploracions en ells realitzades (els nivells plasmàtics IgA i de ATGt IgA, la xifra de PCR i el coprocultiu) ens va permetre demostrar que tot celíac amb una correcta adherència a la DSG per un temps no inferior al 2 anys podia ser considerat com un control sa a efectes de la determinació de CF<sup>74</sup>.

Quant a les xifres de CF (mcg/g) expressades en mitjana, mediana i IQR, no vam trobar diferències ni per sexe ni edat. Per edat, només comentar que l'únic cas menor 1 any i control



sa procedent de l'Atenció Primària va tenir una determinació de CF de 44. Per entrevista personal (telefònica) es va descartar una causa infecciosa o inflamatòria responsable i es va atribuir a la variabilitat pròpia d'aquesta franja d'edat<sup>69</sup>.

L'objectiu principal quant a les xifres de CF (mcg/g) era poder analitzar l'absència de diferència significativa entre el grup d'Atenció Primària i el grup de celíacs. Aquestes xifres expressades en mitjana, mediana i IQR: Atenció Primària 21.8 (13) (13 - 28) i Celíacs 17.32 (13) (13 - 22) van ser molt similars posant en evidència el gran solapament en la distribució dels seus valors com queda reflectit a la Figura 8.

Finalment i atenent a les nostres xifres de CF com a grup control pediàtric, expressades en (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR) 20.63 (16) (13 - 27) i sensiblement inferiors als valors de normalitat recomanades pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia), ens vam plantejar si hauríem de mantenir les xifres descrites en la població adulta o ens podríem permetre rebaixar el llindar de normalitat per sota d'aquesta xifra "clàssica" quan estudiem població pediàtrica. Tanmateix considerem que, si la determinació de CF va ser ideada com a biomarcador inicial de *screening* d'activitat inflamatòria intestinal "suficient" i donats els altíssims nivells de sensibilitat i de VPN, una xifra de 50 mcg/g hauria de poder seguir sent la més adequada també en la població pediàtrica, evitant angoixes i exploracions innecessàries per l'aplicació d'un *cut-off* excessivament "exigent".

## LIMITACIONS

La gran limitació que hauríem d'assumir d'aquesta fase prospectiva de la nostra recerca seria bàsicament la N de la mostra. Només 50 determinacions de CF per intentar validar un grup control pròpiament pediàtric de comparació.

## CONCLUSIONS

La determinació de CF en 2 poblacions pediàtriques diferents (Atenció Primària i un subgrup de celíacs) va permetre crear un grup control de comparació on no s'aprecien diferències ni per edat, ni per sexe, ni per xifres de CF en les 2 subpoblacions estudiades.

Tot celíac amb una correcta adherència a la DSG per un temps no inferior al 2 anys hauria de ser considerat com a un control sa a efectes de la determinació de CF.

La xifra de CF (mcg/g) obtinguda en el nostre grup control pediàtric expressada en mitjana (mediana) 20.63 (16) va ser sensiblement inferior als 50 mcg/g usats "universalment" en població adulta com a valor de *screening* de normalitat.

## ESTUDI PROSPECTIU: QUATRE ESCENARIS CLÍNICS a ANALITZAR

Entre el juny de 2.011 i el juny de 2.014 van ser sol·licitades de forma prospectiva un total de 192 determinacions de CF en 4 escenaris clínics diferents: 31 DAR, 24 REU, 119 MII i 22 SIC controlats a la nostra unitat de Gastroenterologia Pediàtrica. Totes les determinacions de CF i la informació clínica referent als malalts a qui se'ls va indicar constitueixen el material d'aquesta fase prospectiva.

Aquesta segona fase prospectiva perseguia l'objectiu de valorar la capacitat de la CF per discriminar (escenari DAR i REU) o fins i tot per monitoritzar (escenari MII i SIC) l'activitat inflamatòria al llarg de l'evolució natural de la malaltia. En definitiva, analitzar els beneficis potencials de la introducció d'un nou biomarcador fecal en l'algoritme habitual d'actuació en 4 escenaris clínics típicament pediàtrics.

## ESTUDI PROSPECTIU: ESCENARI DAR (dolor abdominal recurrent)

### METODOLOGIA

Entre el juny de 2.011 i el juny de 2.014 van ser sol·licitades de forma prospectiva un total de 31 determinacions de CF en l'escenari clínic DAR. Els seus objectius específics eren demostrar la utilitat de discriminació entre el dolor abdominal orgànic i el funcional, comparar el grup DAR respecte al grup control pediàtric, intentar evidenciar la presència o absència de correlació de les xifres de CF amb la resta d'exploracions emprades en el diagnòstic diferencial habitual d'ambdues entitats, en definitiva, analitzar el possible benefici de la seva aplicació en el diagnòstic diferencial d'ambdues entitats (dolor funcional vs orgànic).

Es mostren les mesures descriptives habituals, mitjana (desviació típica), mínim i màxim, mediana i quartils en el grup DAR, segons les variables d'agrupació. Es presenten els valor p de les proves de contrast d'igualtat de mitjanes (T-student o Anova) o d'igualtat de distribucions (U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis), segons el nombre de categories sigui 2 o més de 2. S'escull el primer grup de test, si la variable és simètrica i normal, segons la prova de Shapiro-Wilks. En el diagrama de caixes es representa la mediana (línia central) i els percentils 25 i 75.

### RESULTATS

Les dades demogràfiques bàsiques dels malalts a qui se'ls va recollir una mostra fecal per a la determinació de CF queden recollides en la Taula 6.

Taula 6. Dades demogràfiques i característiques clíniques

· Número de determinacions	31
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Homes/Dones	17 (54.8%)/14 (45.2%)
· Edat	
- Menors de 1 any	0 (0%)
- De 1 a 4 anys	1 (3.3%)
- De 5 a 9 anys	9 (29%)
- Majors de 10 anys	21 (67.7%)
· Compliment criteris clínics de Roma III (N)(%)	31 (100%)
· Xifra de PCR (mg/dL) (N) (%) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	31 (100%) (0.04) (0.01 - 0.6)
· Nivells de ATGt IgA (U/mL) (N) (%) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	27 (87.1%) (0.9) (0.2 -5.2)
· Coproculitiu (N)(%)	27 (87.1%)
· Ecografia abdominal (N)(%)	24 (77.4%)

Abreviatures: IgA, Immunoglobulina A; ATGt, antitransglutaminasa tissular ; PCR, proteïna C reactiva

A més de la determinació de CF, es va dissenyar un protocol prospectiu, es varen aplicar els criteris de Roma III buscant signes d'organicitat (100%) i se'ls van realitzar un seguit d'exploracions: els nivells plasmàtics IgA i de ATGt IgA (87.1%), la xifra de PCR (100%), un coproculitiu (87.1%) i una ecografia abdominal (77.4%). Tots varen complir els criteris de Roma III i, en tots ells, les proves realitzades varen ser de resultat estrictament normal. La mitjana dels nivells de ATGt va ser 1.5 U/mL (rang 0.2 - 5.2) i la mitjana dels nivells de PCR va ser 0.08 mg/dL (rang 0.01 - 0.6).

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), no vam trobar diferències estadísticament significatives ni per edat ni per sexe ( $p$  0.503 i  $p$  0.171, respectivament) com es reflecteix a les Figures 9 i 10.

Figura 9. Xifres de CF per sexe

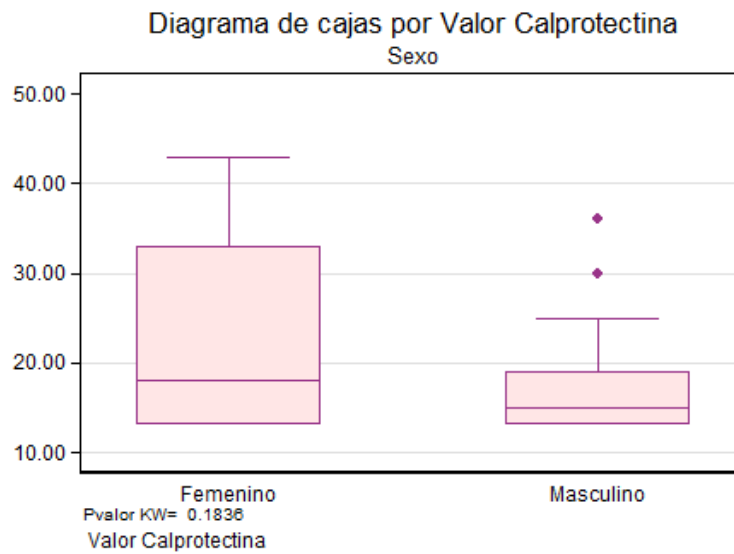
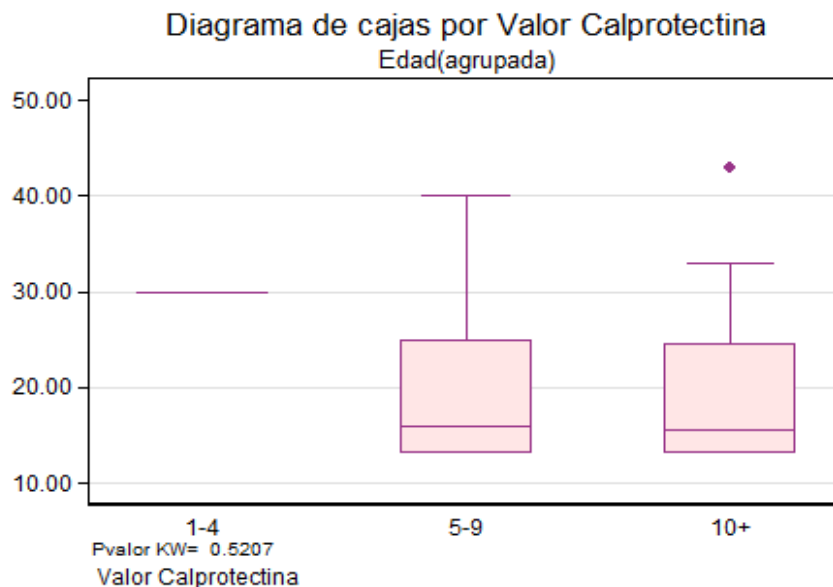


Figura 10. Xifres de CF per edat



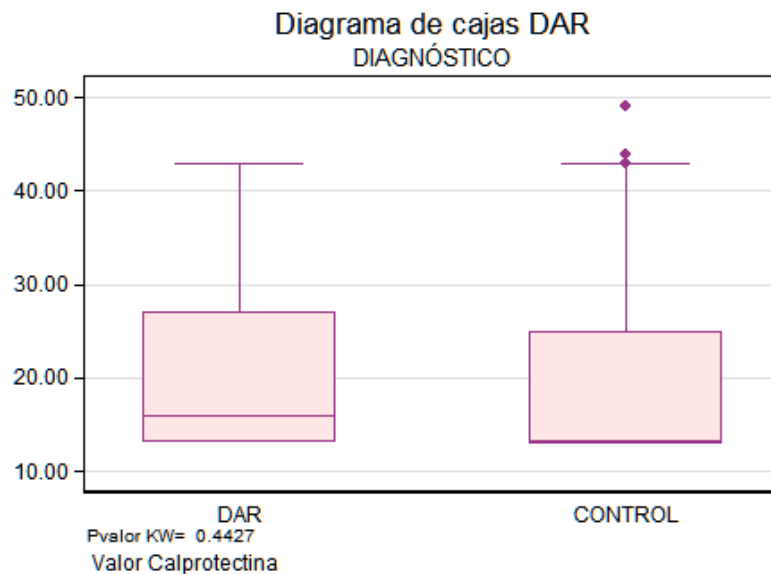
Per sexe, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: femení 22.93 (18) (13 - 33) i masculí 17.65 (15) (13 - 19). Per edat, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: 1 a 4 anys 30 (30) (30 - 30), 5 a 9 anys 20.89 (16) (13 - 25), majors de 10 anys 19.5 (15.5) (13 - 24.5).

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), recollides a la Taula 7, el més interessant seria poder analitzar la presència o absència de diferència significativa entre l'escenari DAR i el nostre propi grup control pediàtric. Aquestes xifres de calprotectina (mcg/g) entre les 2

poblacions, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: Grup control 19.56 (13) (13 - 25) i l'escenari DAR 20.03 (16) (13 - 27) amb una p no significativa de 0.415. Com es pot apreciar a la Figura 11. Els seus valors eren pràcticament iguals posant de manifest un gran solapament en la distribució dels seus valors.

Taula 7. Determinacions de calprotectina en DAR	
· Número de determinacions	31
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	20.03 (9.11) (13 - 43)
PER SEXE	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Femení	22.93 (18) (13 -33)
- Masculí	17.65 (15) (13 -19)
PER EDAT	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Menors de 1 any	0 (0) (0 - 0)
- De 1 a 4 anys	30 (30)(30 - 30)
- De 5 a 9 anys	20.89 (16) (13 - 25)
- Majors de 10 anys	19.5 (15.5) (13 - 24.5)
ESCENARI DAR	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	20.03 (16) (13 -27)
* GRUP CONTROL	
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	19.56 (13) (13 - 25)
Abreviatures: sd, <i>standard deviation</i> ; IQR, <i>interquartile range</i>	

Figura 11. No diferències entre les 2 poblacions



## DISCUSSIÓ

Aquesta fase prospectiva de la nostra recerca, al llarg de 3 anys, amb 31 determinacions, obtingudes de malalts controlats al nostre centre i provinents, ja fos del Servei d'Urgències, com de les nostres pròpies consultes externes de Gastroenterologia, ens va permetre fer un seguit d'observacions i reflexions. I intentar determinar, per una banda, si el grup DAR, en termes de xifres de CF, era equiparable al nostre grup control i, per altra banda, si l'aplicació d'aquest nou biomarcador ens aportava algun tipus de benefici en l'abordatge inicial d'aquesta entitat.

Les xifres de CF globals del grup DAR expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 20.03 (9.11) (13 - 43) eren sensiblement inferiors als valors de normalitat recomanades pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia).

El nostre objectiu, de discriminació, va ser determinar si les xifres de CF del grup DAR eren o no estadísticament diferent respecte al nostre grup de control pediàtric, i confirmar o descartar activitat inflamatòria a nivell del tracte digestiu en aquest escenari.

El DAR constitueix un escenari freqüent i alhora conflictiu en les consultes externes de Gastroenterologia. Sovint, es presenten amb simptomatologia de mesos i/o anys d'evolució, amb un seguit de visites mèdiques, especialitzades i no especialitzades, amb un ventall més o menys ampli d'exploracions realitzades i amb una frustració important per part dels pares i del propi malalt per la no resposta a les demandes de diagnòstic o solució de les manifestacions digestives del seu fill.

Després d'aplicar i assegurar l'acompliment dels criteris de Roma III, vam addicionar la determinació de CF a l'algoritme "clàssic" de discriminació entre patologia inflamatòria i funcional<sup>75,76</sup>. En tots ells es va determinar la CF i, en la majoria, se'ls va realitzar un seguit d'exploracions: estudi en sang (PCR, 100%), en femta (coprocultiu, 87.1%) i d'imatge (ecografia abdominal, 77.4%). El resultat normal de totes les exploracions en ells realitzades posa en entredit el benefici de l'aplicació sistemàtica de les mateixes en els individus que compleixen de forma rigorosa els criteris de Roma III, tant a nivell de cost del sistema sanitari, com a nivell de l'esfera psicològica de l'individu a qui se li realitzen.

Quant a les xifres de CF (mcg/g) expressades en mitjana, mediana i IQR, no vam trobar diferències ni per sexe ni edat. Per edat, només comentar que, en aquest escenari DAR, no vam tenir cap cas menor 1 any i un únic representant menor de 4 anys amb una xifra de CF de 30 mcg/g; una xifra estrictament normal.

L'objectiu principal quant a les xifres de CF (mcg/g) era poder analitzar l'absència de diferència significativa entre el grup DAR i el grup Control. Aquestes xifres expressades en mitjana, mediana i IQR: grup DAR 20.03 (16) (13 -27) i Control 19.56 (13) (13 - 25) van ser molt similars posant en evidència el gran solapament en la distribució dels seus valors i, per tant, la seva absència d'activitat inflamatòria subjacent. Les xifres de CF de la nostra sèrie van ser superposables a les experiències pediàtriques prèvies; del grup noruec d'Olafsdottir et al amb 19 nens al 2.002 i amb una xifra mitjana de CF de 20 mcg/g, i una mica superior a la del grup balear de Bonnin et al amb 47 nens al 2.007 i amb una xifra de CF de 11 mcg/g<sup>24,25</sup>.

Finalment i atenent a les nostres xifres de CF en el grup DAR expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 20.03 (9.11) (13 - 43), sempre inferiors als valors de normalitat recomanades pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia) i amb un seguit d'exploracions complementàries de resultat negatiu, ens hauríem de poder plantejar la possibilitat de, per una banda, reduir les exploracions "inflamatòries" que habitualment realitzem en aquests malalts a nivell hospitalari i substituir-les per una simple determinació de CF i, per altra banda, exportar la realització de la mateixa a l'àmbit de l'Atenció Primària com a eina fàcil i sensible de discriminació entre patologia inflamatòria i funcional com ja s'està fent en el món de l'adult<sup>77</sup>.

## LIMITACIONS

De nou, la gran limitació que hauríem d'assumir d'aquesta fase prospectiva de la nostra recerca seria la N de la mostra. Només 31 determinacions de CF per intentar analitzar els potencials beneficis o capacitat de discriminació respecte a les exploracions històricament realitzades. Tanmateix, com es comentava a la discussió, actualment, les poques experiències pediàtriques publicades de què disposem tampoc van aconseguir arribar a reclutar més de 50 casos.

## CONCLUSIONS

No es van trobar diferències estadísticament significatives entre el grup DAR, que complia tots els criteris de Roma III, i el grup Control.

En pacients amb criteris ben definits de DAR (Roma III), la realització d'una determinació de CF podria ser suficient per descartar altres processos patològics en l'esfera inflamatòria, i evitar així la realització d'un seguit d'exploracions complementàries.

En pacients amb criteris ben definits de DAR (Roma III), la realització d'aquesta determinació de CF podria ser exportada a l'àmbit de l'Atenció Primària com a eina de *screening* inicial entre patologia inflamatòria i funcional.



## ESTUDI PROSPECTIU: ESCENARI REU (procés reumatològic amb clínica digestiva)

## METODOLOGIA

Entre el juny de 2.011 i el juny de 2.014 van ser sol·licitades de forma prospectiva un total de 24 determinacions de CF en l'escenari clínic REU. Els seus objectius específics eren demostrar la utilitat per discriminar la participació del tracte digestiu en processos reumatològics amb simptomatologia digestiva, comparar les xifres de CF del grup REU respecte al grup control pediàtric i intentar evidenciar la presència o absència de correlació de les xifres de CF amb la resta d'exploracions emprades en la praxis clínic habitual, en definitiva, analitzar el possible benefici de la seva aplicació per a la simplificació de l'algoritme d'actuació actual.

Es mostren les mesures descriptives habituals, mitjana (desviació típica), mínim i màxim, mediana i quartils en el grup REU, segons les variables d'agrupació. Es presenten els valor p de les proves de contrast d'igualtat de mitjanes (T-student o Anova) o d'igualtat de distribucions (U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis), segons el nombre de categories sigui 2 o més de 2. S'escull el primer grup de test si la variable és simètrica i normal, segons la prova de Shapiro-Wilks. En el diagrama de caixes es representa la mediana (línia central) i els percentils 25 i 75.

## RESULTATS

Les dades demogràfiques bàsiques dels malalts a qui se'ls va recollir una mostra fecal per a la determinació de CF queden recollides en la Taula 8.

Tots aquests malalts, derivats des de la unitat de Reumatologia pediàtrica i diagnosticats segons les guies nacionals i internacionals de la subespecialitat, presentaven simptomatologia digestiva crònica o de repetició, majoritàriament en forma de dolor abdominal. A més de la determinació de CF, es va dissenyar un protocol prospectiu realitzant un seguit d'exploracions per tal de confirmar o descartar la presència de participació inflamatòria del tracte digestiu dins del ventall de manifestacions sistèmiques del seu procés reumatològic: els nivells plasmàtics IgA i de ATGt IgA (70.8%), la xifra de PCR (100%), un coprocultiu (70.8%), una ecografia abdominal (87.5%), i en 2 casos (8.3%) endoscòpia digestiva alta i baixa.

En 2 casos de formes oligoarticulars d'artritis idiopàtica juvenil (AIJ), l'estudi es va realitzar en coincidència amb un brot inflamatori de la seva malaltia de base. Les xifres de PCR eren de 1 i 3 mg/dL, i les seves CF eren de 13 i 57 mcg/g, respectivament.

En 2 casos, una forma psoriàtica i una relacionada amb entesitis, l'estudi ecogràfic va ser patològic, amb la presència d'adenopaties mesentèriques. En el primer cas, es va considerar una troballa accidental; adenopaties de mida petita amb una PCR de 0.03 mg/dL i una CF de 41 mcg/g. En el segon cas, es va orientar com una enteritis infecciosa, davant la presència de: febre, dolor abdominal, adenopaties captants al eco-doppler abdominal, una PCR de 1.4 mg/dL i una CF de 117 mcg/g.

Taula 8. Dades demogràfiques i característiques clíniques

· Número de determinacions	24
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Homes/Dones	14 (58.3%)/10 (41.7%)
· Edat	
- Menors de 1 any	0 (0%)
- De 1 a 4 anys	0 (0%)
- De 5 a 9 anys	7 (29.2%)
- Majors de 10 anys	17 (70.8%)
· Artritis idiopàtica juvenil	
- Sistèmica	1 (4.2%)
- Oligoarticular	13 (54.1%)
- Poliarticular FR positiu	1 (4.2%)
- Poliarticular FR negatiu	3 (12.5%)
- Psoriàtica	3 (12.5%)
- Artritis relacionada amb entesitis	2 (8.3%)
- Indiferenciada	1 (4.2%)
· Activitat reumatològica de base (N)(%)	2 (8.3%)
· Xifra de PCR (mg/dL) (N) (%) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	24 (100%) (0.07) (0.02 -3)
· Nivells de ATGt IgA (U/mL) (N) (%) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	17 (70.8%) (0.1) (0.04 -7.4)
· Coprocultiu (N)(%)	17 (70.8%)
· Ecografia abdominal (N)(%)	21 (87.5%)
· Endoscòpia digestiva alta i baixa (N)(%)	2 (8.3%)

Abreviatures: FR, factor reumatoide; IgA, Immunoglobulina A; ATGt, antitransglutaminasa tissular ; PCR, proteïna C reactiva

En els 2 casos de formes oligoarticulares en les que es va decidir endoscopiar, aquest estudi va ser rigorosament normal.

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), no vam trobar diferències estadísticament significatives ni per edat ni per sexe (p 0.498 i 0.483, respectivament) com es reflecteix a les Figures 12 i 13.

Figura 12. Xifres de CF per sexe

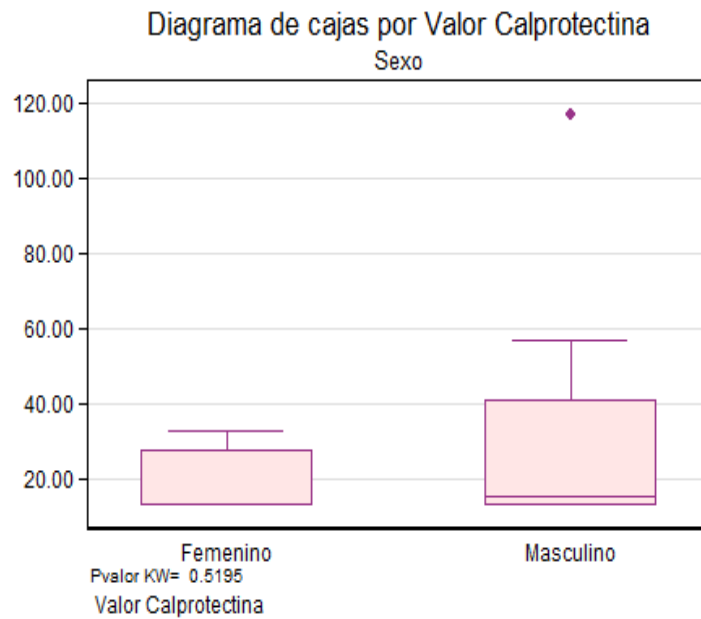
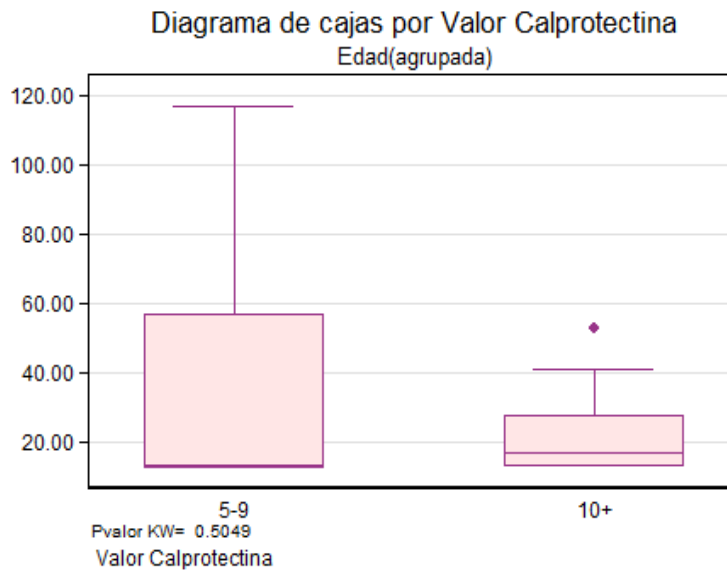


Figura 13. Xifres de CF per edat



Per sexe, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: femení 18.8 (13.5) (13 - 28) i masculí 30.5 (15.5) (13 - 41). Per edat, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: 5 a 9 anys 34.14 (13) (13 - 57), majors de 10 anys 22.12 (17) (13 - 28).

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), recollides a la Taula 9, vam voler analitzar les possibles diferències per la presència/absència d'activitat reumatològica de base, per la presència/absència d'alteracions en la resta d'exploracions realitzades i comparar-ho amb les xifres de CF del nostre grup control pediàtric.

Taula 9. Determinacions de calprotectina en REU

· Número de determinacions	24
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	25.63 (23.39) (3 -117)
PER SEXE	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Femení	18.8 (13.5) (13 -28)
- Masculí	30.5 (15.5) (13 -41)
PER EDAT	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Menors de 1 any	0 (0) (0 - 0)
- De 1 a 4 anys	0 (0) (0 - 0)
- De 5 a 9 anys	34.14 (13) (13 - 57)
- Majors de 10 anys	22.12 (17) (13 - 28)
PER ACTIVITAT DE BASE	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Presència	35 (35) (13 - 57)
- Absència	24.77 (14) (13 - 28)
PER ECOGRAFIA ABDOMINAL (adenopaties mesentèriques)	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Presència	79 (79) (41 -117)
- Absència	21.42 (14) (13 - 28)
ESCENARI REU	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	25.63 (14) (13 -29.5)
* GRUP CONTROL	
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	19.56 (13) (13 - 25)

Abreviatures: sd, *standard deviation*; IQR, *interquartile range*

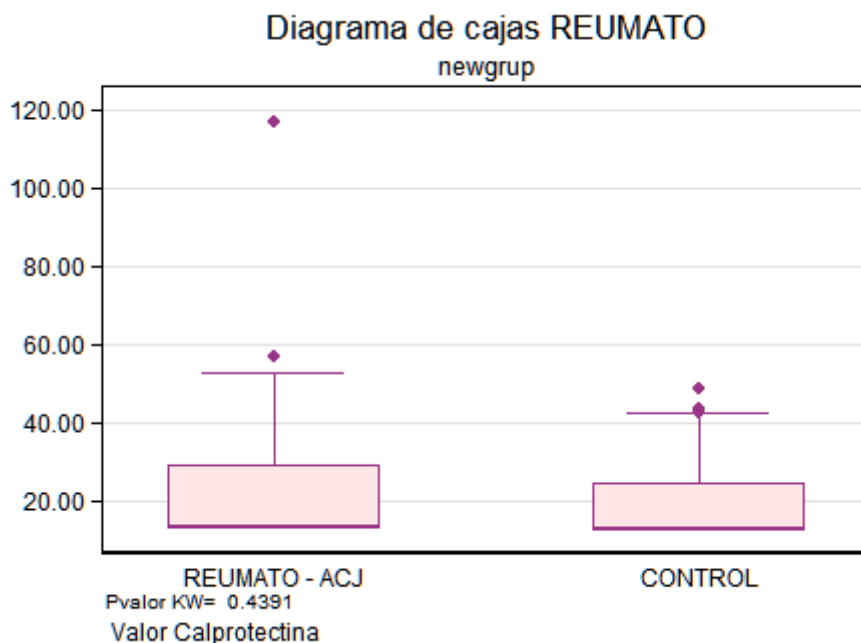
Quant a l'activitat inflamatòria de la malaltia reumatològica de base, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: present 35 (35) (13 - 57) i absent 24.77 (14) (13 - 28) amb una p no significativa de 0.66.

Quant a la resta d'exploracions, la més representativa va ser la troballa d'alteracions a la ecografia abdominal (adenopaties mesentèriques). Vam decidir expressar les xifres de CF en

mitjana, mediana i IQR: present 79 (79) (41 - 117) i absent 21.42 (14) (13 - 28) amb una p significativa de 0.034.

Quant la presència o absència de diferència significativa entre l'escenari REU i el nostre propi grup control pediàtric. Aquestes xifres de calprotectina (mcg/g) entre les 2 poblacions, vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: Grup control 19.56 (13) (13 - 25) i l'escenari REU 25.63 (14) (13 - 29.5) amb una p no significativa de 0.405. Com es pot apreciar a la Figura 14, els seus valors eren pràcticament iguals, posant de manifest un gran solapament en la distribució dels seus valors, i per tant, la seva absència d'activitat inflamatòria subjacent a nivell del tracte digestiu.

Figura 14. No diferències entre les 2 poblacions



## DISCUSSIÓ

Aquesta fase prospectiva de la nostra recerca, al llarg de 3 anys, amb 24 determinacions, obtingudes de malalts controlats al nostre centre i provinents de les consultes externes de Reumatologia, ens va permetre fer un seguit d'observacions i reflexions. I intentar determinar, per una banda, si en el grup REU, la CF era capaç de detectar activitat inflamatòria a nivell intestinal i, per altra banda, si l'aplicació d'aquest nou biomarcador ens aportava algun tipus de benefici en l'abordatge inicial d'aquests malalts.

Les xifres de CF globals del grup REU expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 25.63 (23.39) (3 -117) eren sensiblement inferiors als valors de normalitat recomanades pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia).

El nostre objectiu, de discriminació, va ser determinar si les xifres de CF del grup REU eren o no estadísticament diferents respecte al nostre grup de control pediàtric, i confirmar o descartar la participació d'activitat inflamatòria a nivell del tracte digestiu acompanyant al quadre reumatològic de base.

Amb freqüència, els quadres reumatològics es poden acompanyar de manifestacions digestives, habitualment dolor abdominal, que poden arribar a condicionar de forma important la qualitat de vida d'aquests malalts. Sovint es presenten amb simptomatologia de mesos i /o anys d'evolució, crònica o de repetició, i que tant per pares, malats o facultatius pot provocar confusió o incertesa alhora de valorar l'estat de remissió del procés reumatològic subjacent.

En aquest perfil de malalts, de manera similar a l'escenari DAR, habitualment es realitzen un seguit d'exploracions complementàries orientades a descartar un origen inflamatori d'aquest dolor abdominal. En tots ells es va determinar la CF i, en la majoria, se'ls va realitzar un seguit d'exploracions: estudi en sang (PCR, 100%), en femta (coprocultiu, 70.8%) i d'imatge (ecografia abdominal, 87.5%), i en 2 casos (8.3%) endoscòpia digestiva alta i baixa.

En els 2 casos de AIJ oligoarticular on l'estudi es va realitzar sota brot inflamatori, és a dir, amb activitat inflamatòria d'origen reumatològic, les xifres de PCR van elevar-se a 1 i 3 mg/dL mentre que les xifres de CF es van mantenir en 13 i 57 mcg/g, respectivament. Aquest fet va posar en evidència l'absència d'activitat inflamatòria intestinal coincidint amb la reactivació inflamatòria a nivell articular.

En els 2 casos, una forma psoriàtica i una relacionada amb entesitis, on l'estudi ecogràfic va ser patològic per presència d'adenopaties mesentèriques, la interpretació va ser completament diferent. Un primer cas va ser etiquetat com a troballa accidental davant la presència d'unes adenopaties de mida petita associades a una PCR de 0.03 mg/dL i una CF de 41 mcg/g. Un segon cas etiquetat d'una enteritis infecciosa davant la presència d'una síndrome febril amb dolor abdominal, adenopaties captants al eco-doppler abdominal, una PCR de 1.4 mg/dL i una CF de 117 mcg/g. L'elevació dels RFA plasmàtics i de la CF es va atribuir al procés intestinal i no pas a l'activitat reumatològica, com hagués succeït en qualsevol quadre entèric no reumatològic.

En els 2 casos, formes oligoarticulats, en les que es va decidir endoscopiari, aquest estudi va ser normal. En ambdós casos tant les PCR (0.02 i 0.16 mg/dL) com les xifres de CF (14 i 17 mcg/g) eren rigorosament normals.

L'objectiu principal quant a les xifres de CF (mcg/g) era poder analitzar les possibles diferències per la presència o absència d'activitat reumatològica de base, per la presència o absència d'alteracions en la resta d'exploracions realitzades, i comparar-ho amb les xifres de CF del nostre grup control pediàtric.

Quant a l'activitat inflamatòria de la malaltia reumatològica de base, aquestes xifres expressades en mitjana, mediana i IQR: present 35 (35) (13 - 57) i absent 24.77 (14) (13 - 28) amb una p no significativa posava en evidència el gran solapament en la distribució dels seus valors i, per tant, l'absència d'activitat inflamatòria intestinal significativa subjacent.

Quant a la resta d'exploracions, la més representativa va ser la troballa d'alteracions a l'ecografia abdominal (adenopaties mesentèriques). Les xifres de CF expressades en mitjana, mediana i IQR: present 79 (79) (41 - 117) i absent 21.42 (14) (13 - 28) tot i una p significativa posava en evidència una xifra superior de CF coincidint amb la presència d'adenopaties per una activitat inflamatòria intestinal primària.

En aquests darrers anys, els nivell plasmàtics de calprotectina s'estan intentant obrir camí com a un nou biomarcador d'activitat inflamatòria en el món de la Reumatologia, tant en el món pediàtric com en el món de l'adult<sup>78-80</sup>. Per contra, el seu ús a nivell fecal, és dir, la determinació de CF amb l'objectiu de detectar participació d'activitat inflamatòria intestinal en el context d'un procés reumatològic de base, es va autolimitar a l'experiència de Stoll et al en 26 malalts amb AIJ publicada el 2.011<sup>39</sup>. En realitat, aquest grup va reportar que 1 dels 3 malalts amb simptomatologia digestiva associada a la seva AIJ tenia una determinació de CF de 310 mcg/g i va insinuar la possibilitat que la CF fos útil en aquesta discriminació. Les nostres dades no han corroborat tal impressió i tampoc la literatura mèdica posterior ha reportat una experiència similar.

Les 2 úniques referències de CF en l'esfera reumatològica són els treballs de Andréasson et al del 2.014 i el de Kanik et al del 2.015, on posen en evidència una activitat inflamatòria intestinal acompanyant a 2 entitats diferents a la AIJ: l'esclerosi sistèmica i la púrpura de Henoch-Schönlein, respectivament<sup>81,82</sup>.

Finalment i atenent a les nostres xifres de CF en el grup REU, expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 25.63 (23.39) (3 - 117), sempre inferiors als valors de normalitat recomanades pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia) i amb un seguit d'exploracions complementàries de resultat negatiu, a excepció del cas d'adenitis mesentèrica, ens hauríem de plantejar la possibilitat de reduir les exploracions "inflamatòries" que habitualment realitzem en aquests malalts i substituir-les per una simple determinació de CF.

Impressiona, per les nostres dades, que la participació inflamatòria intestinal en la AIJ és excepcional, per tant, en aquells casos on es consideri, aquesta hauria de poder ser descartada de forma fàcil, ràpida i econòmica a través de la realització d'una simple CF.

## LIMITACIONS

De nou, la gran limitació que hauríem d'assumir d'aquesta fase prospectiva de la nostra recerca seria la N de la mostra. Només 24 determinacions de CF per intentar analitzar la capacitat de discriminació del biomarcador per confirmar o descartar la participació digestiva dins del quadre reumatològic. Tanmateix, com es comentava a la discussió, actualment, la única experiència similar publicada fa referència al treball de Stoll al 2.011 on, de les 26 AIJ valorades, només 3 presentaven manifestacions digestives i només una d'elles va ser capaç d'eleva les xifres de CF fins a 310 mcg/g. Una observació que no ha estat ratificada posteriorment per cap altre autor.

## CONCLUSIONS

No es van trobar diferències estadísticament significatives entre el grup REU, etiquetat segons els criteris de la ILAR (*International League of Associations for Rheumatology*), i el grup Control.

La participació inflamatòria del tracte gastrointestinal en malalts diagnosticats de AIJ amb manifestacions digestives sembla ser excepcional.

En aquells malalts d'AIJ on es vulgui descartar participació inflamatòria intestinal, la realització d'una determinació de CF hauria de poder ser suficient per descartar-la evitant la realització d'altres exploracions complementàries.



## ESTUDI PROSPECTIU: ESCENARI MII (malaltia inflamatòria intestinal)

## METODOLOGIA

Entre el juny de 2.011 i el juny de 2.014 van ser sol·licitades de forma prospectiva un total de 119 determinacions de CF en l'escenari clínic MII. Els seus objectius eren demostrar la utilitat de l'addició de la CF al maneig del seguiment habitual d'aquestes patologies. Demostrar la capacitat de monitorització de l'activitat inflamatòria intestinal per part de la CF al llarg del temps per subtipus de malaltia, per fase de la malaltia, per tractament aplicat... Es va sol·licitar determinació de CF, com a mínim, de forma anual i en coincidència amb canvis rellevants en l'evolució de la malaltia, ja fossin de caire clínic (empitjorament de símptomes), analític (necessitat d'exploracions addicionals) i/o terapèutic (canvis de medicació). En definitiva, analitzar la possible optimització i cost-benefici de la seva aplicació en l'algoritme d'actuació actual.

Es mostren les mesures descriptives habituals, mitjana (desviació típica), mínim i màxim, mediana i quartils en el grup MII, segons les variables d'agrupació. Es presenten els valor p de les proves de contrast d'igualtat de mitjanes (T-student o Anova) o d'igualtat de distribucions (U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis), segons el nombre de categories sigui 2 o més de 2. S'escull el primer grup de test si la variable és simètrica i normal, segons la prova de Shapiro-Wilks. En el diagrama de caixes es representa la mediana (línia central) i els percentils 25 i 75.

## RESULTATS

Les dades demogràfiques bàsiques dels malalts a qui se'ls va recollir una mostra fecal per a la determinació de CF queden recollides en la Taula 10.

Tots aquests malalts afectes de MII, diagnosticats segons els criteris del grup de treball europeu (*Porto criteria*) i controlats regularment a la nostra unitat de Gastroenterologia, són sotmesos a control clínics, analítics, microbiològics i/o d'imatge periòdics, per tal de determinar el grau d'activitat inflamatòria intestinal. Vam decidir dissenyar un protocol prospectiu incorporant la determinació de CF a l'algoritme d'actuació de la nostra praxis clínica habitual. Al llarg del nostre seguiment, a més de les determinacions de CF, també se'ls van sol·licitar: nivells plasmàtics de PCR (100%), coproculius (22.7%), ecografies abdominals (10.9%), RMN intestinals (19.3%) i endoscòpies digestives altes i baixes (32.8%).

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), no vam trobar diferències estadísticament significatives ni per sexe, ni per edat (p 0.939 i p 0.194, respectivament), com es reflecteix a les Figures 15 i 16.

Taula 10. Dades demogràfiques i característiques clíniques

· Número de determinacions	119
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Homes/Dones	80 (67.2%)/39 (32.8%)
· Edat	
- Menors de 1 any	0 (0%)
- De 1 a 4 anys	6 (5.1%)
- De 5 a 9 anys	7 (5.9%)
- Majors de 10 anys	106 (89%)
· Malaltia de Crohn	89 (74.8%)
· Colitis ulcerosa	30 (25.2%)
· Activitat inflamatòria de base (N)(%)	28 (23.5%)
· Sense medicació (N) (%)	15 (12.6%)
· Sota medicació convencional (5-ASA o AZA) (N) (%)	59 (49.6%)
· Sota medicació biològica (IFX o ADA) (N) (%)	45 (37.8%)
· Xifra de PCR (mg/dL) (N) (%) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	119 (100%) (0.1) (0.01 - 13)
· Coprocultiu (N)(%)	27 (22.7%)
· Ecografia abdominal (N)(%)	13 (10.9%)
· Ressonància magnètica nuclear (N) (%)	23 (19.3%)
· Endoscòpia digestiva alta i baixa (N)(%)	39 (32.8%)

Abreviatures: 5-ASA, 5-aminosalicilats; AZA, azatioprina; IFX, infliximab; ADA, adalimumab; PCR, proteïna C reactiva

Figura 15. Xifres de CF per sexe

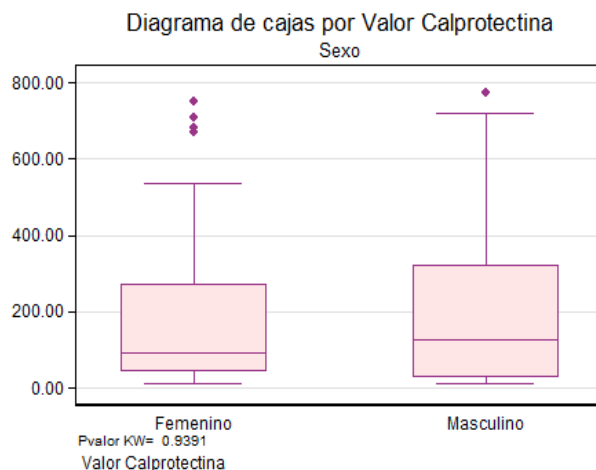
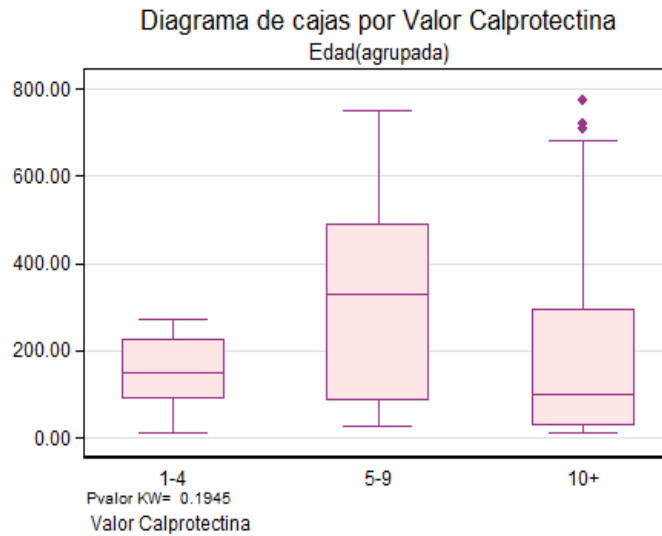


Figura 16. Xifres de CF per edat



Per sexe vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: femení 199.46 (91) (42 - 271) i masculí 196.65 (126.5) (27 - 323.5). Per edat vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: 1 a 4 anys 149.17 (148.5) (89 - 225), 5 a 9 anys 336.57 (331) (85 - 489), majors de 10 anys 191.13 (100.5) (28 - 294).

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), recollides a la Taula 11, vam voler analitzar un seguit de variables: per una banda, les possibles diferències respecte al nostre grup control pediàtric i per subtipus de malaltia (Crohn vs colitis), per tractament emprat i per presència/absència d'activitat inflamatòria de base; per altra banda, la correlació amb la PCR, la RMN intestinal i l'endoscòpia digestiva, els 3 elements clàssicament utilitzats per confirmar/descartar l'activitat inflamatòria intestinal en aquestes entitats.

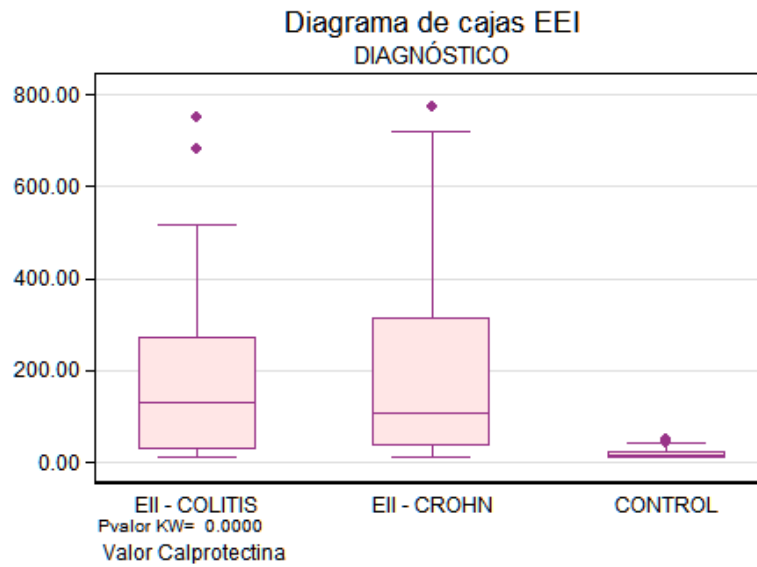
Quant la presència o absència de diferències entre l'escenari MII i el grup control, vam decidir expressar les xifres de calprotectina (mcg/g) entre les 2 poblacions en mitjana, mediana i IQR: Grup control 19.56 (13) (13 - 25) i l'escenari MII 197.57 (107) (29 - 299), com es reflecteix a la Figura 17. Per subtipus diagnòstic, les dades van ser: Crohn 201.69 (107) (35 - 316) i colitis ulcerosa 185.37 (129) (28 - 271). Tant de forma global com per subtipus de malaltia, les xifres de CF van tenir una diferència significativa, amb una  $p < 0.001$ , respecte al nostre grup control.

Taula 11. Determinacions de calprotectina en MII. Part 01

· Número de determinacions	119
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	197.57 (204.19) (13 - 774)
PER SEXE	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Femení	199.46 (91) (42 - 271)
- Masculí	196.65 (126.5) (27 - 323.5)
PER EDAT	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Menors de 1 any	0 (0) (0 - 0)
- De 1 a 4 anys	149.17 (148.5) (89 - 225)
- De 5 a 9 anys	336.57 (331) (85 - 489)
- Majors de 10 anys	191.13 (100.5) (28 - 294)
PER DIAGNOSTIC	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Malaltia de Crohn	201.69 (107) (35 - 316)
- Colitis ulcerosa	185.37 (129) (28 - 271)
PER TRACTAMENT	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Sense medicació	455.4 (429) (316 - 538)
- Sota medicació convencional (5-ASA o AZA)	180.15 (146) (35 - 271)
- Sota medicació biològica (IFX o ADA)	134.47 (80) (16 - 141)

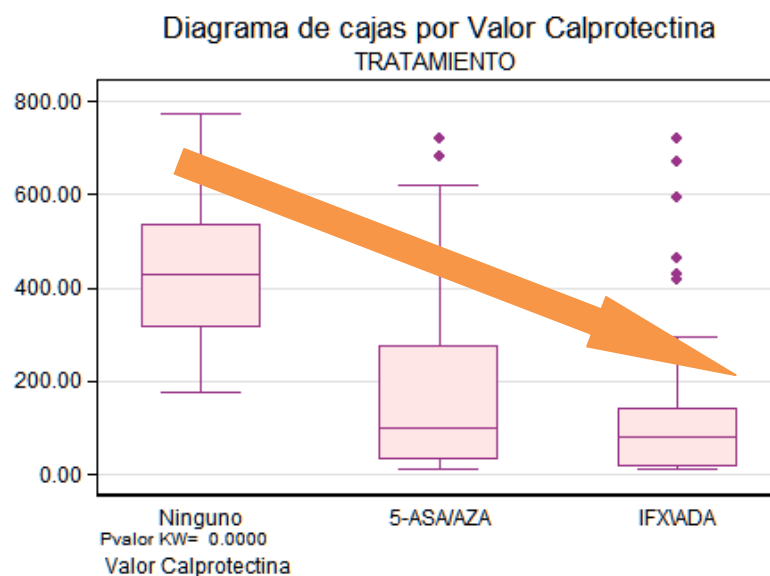
Abreviatures: sd, *standard deviation*; IQR, *interquartile range*; 5-ASA, 5-aminosalicilats; AZA, azatioprina; IFX, infliximab; ADA, adalimumab; PCR, proteïna C reactiva

Figura 17. Diferències entre les 2 poblacions



Quant al tractament de base, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: sense medicació (debut) 455.4 (429) (316 - 538), sota medicació convencional (5-ASA o AZA) 180.15 (146) (35 - 271) i sota medicació biològica (IFX o ADA) 134.47 (80) (16 - 141). Les xifres de CF dels pacients tractats van tenir una diferència significativa, amb una  $p < 0.001$ , respecte al grup de no tractats. Analitzant les xifres de CF per medicació emprada, no vam aconseguir trobar diferències significatives entre tractament convencional i biològics, tanmateix les xifres de CF per IFX/ADA van ser sensiblement inferiors, com es reflecteix a la Figura 18.

Figura 18. Xifres de CF per tractament de base



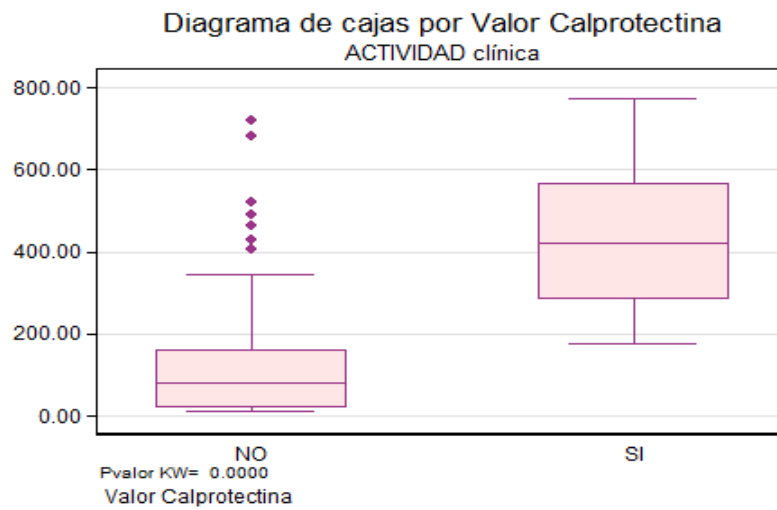
Taula 11. Determinacions de calprotectina en MII. Part 02

· Número de determinacions	119
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	197.57 (204.19) (13 - 774)
PER ACTIVITAT DE BASE (clínica)	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Presència	437.04 (421) (285.5 - 566)
- Absència	123.89 (79) (19 - 162)
PER LESIONS EN LA RADIOLOGIA (RMN)	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Presència	417.58 (424) (243.5 - 529.5)
- Absència	82.18 (38) (13 - 138)
PER LESIONS EN L'ENDOSCOPIA	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Presència	428.1 (423) (281 - 538)
- Absència	66.3 (42.5) (14 - 97)
ESCENARI MII	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	197.57 (107) (29 - 299)
* GRUP CONTROL	
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	19.57 (13) (13 - 25)

Abreviatures: sd, *standard deviation*; IQR, *interquartile range*

Quant a la presència o absència d'activitat inflamatòria en el moment de la determinació de CF, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: presència 437.04 (421) (285.5 - 566) i absència 123.89 (79) (19 - 162), les xifres de CF van tenir una diferència significativa, amb una  $p < 0.001$ , com es reflecteix a la Figura 19.

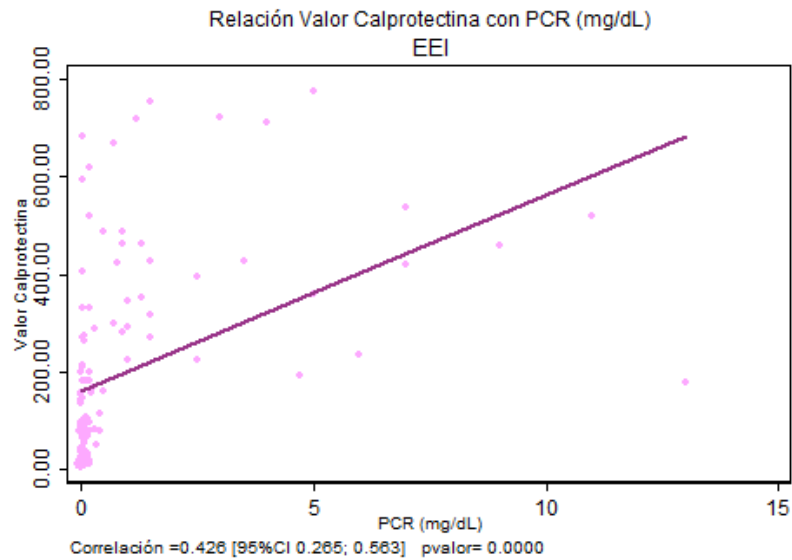
Figura 19. Xifres de CF per activitat inflamatòria



Quant a les exploracions realitzades, les dades més representatives serien la correlació de la determinació de CF amb la PCR, les lesions detectades a la RMN i a l'endoscòpia digestiva.

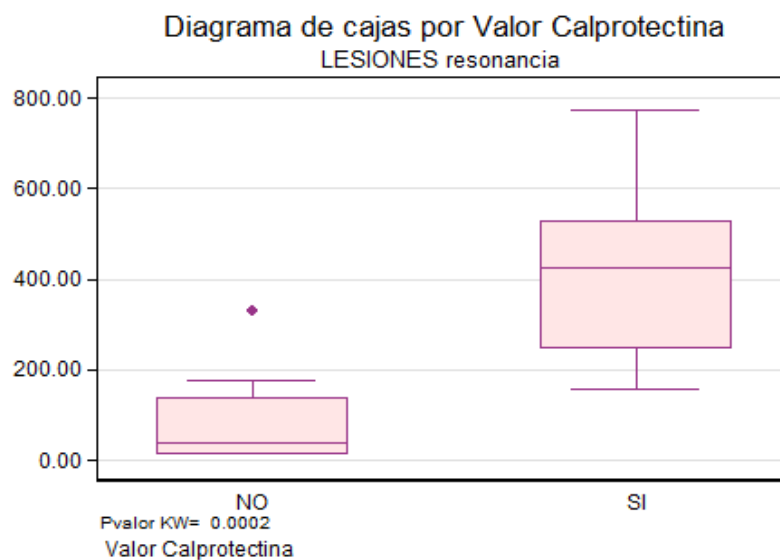
A la Figura 20 es pot observar com les xifres de CF no van tenir una bona correlació amb la PCR plasmàtica, probablement per diferències a nivell de la seva sensibilitat per detectar el procés inflamatori intraluminal. Vam poder evidenciar una correlació de gradació ascendent; una major correlació a mesura que les xifres de PCR i CF augmentaven. Tanmateix, a mesura que la PCR tendeix a 0 es perd la correlació numèrica entre les 2 variables, en altres paraules, ens podem trobar amb un seguit de casos on les xifres de PCR es consideren normals (< 0.5 mg/dL) però les xifres de CF encara són patològiques (< 50 mcg/g). Per contra i de forma didàctica, vam trobar el cas d'un adolescent amb una malaltia de Crohn amb molt poca expressivitat digestiva però amb molta afectació extraintestinal en forma d'artritis on la PCR va elevar-se fins a 13 mg/dL i les xifres de CF només van aconseguir aixecar-se fins els 178 mcg/g.

Figura 20. Relació entre xifres de CF i la PCR



Quant a les xifres de CF i la presència o absència de lesions a nivell de la RMN intestinal, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: presència 417.58 (424) (243.5 - 529.5) i absència 82.18 (38) (13 - 138), les xifres de CF van tenir una diferència significativa, amb una  $p < 0.001$ , com es reflecteix a la Figura 21.

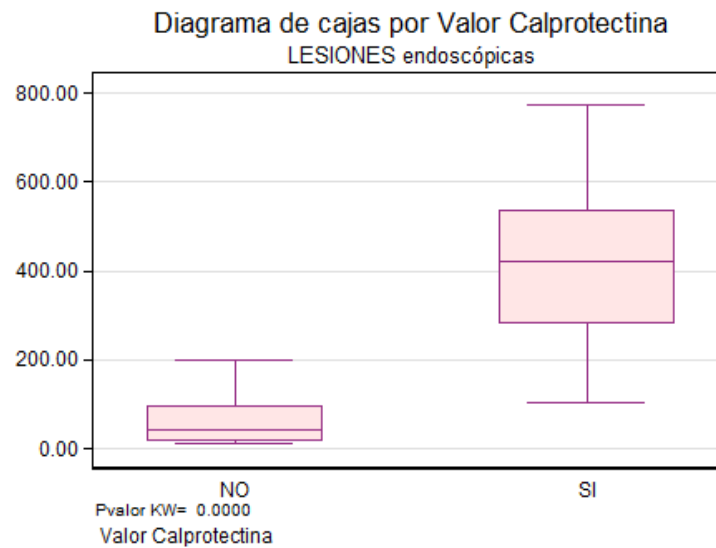
Figura 21. Xifres de CF i lesions en la RMN





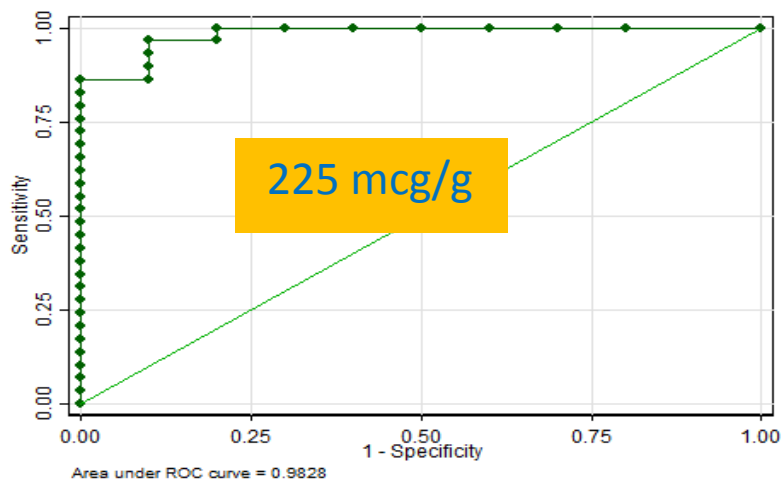
Quant a les xifres de CF i la presència o absència de lesions a nivell de l'endoscòpia digestiva, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: presència 428.1 (423) (281 - 538) i absència 66.3 (42.5) (14 - 97). Les xifres de CF també van tenir una diferència significativa, amb una  $p < 0.001$ , com es reflecteix a la Figura 22.

Figura 22. Xifres de CF i lesions en l'endoscòpia digestiva



Mitjançant les corbes de ROC, la xifra de CF de 225 mcg/g, amb una especificitat del 100% i una sensibilitat del 86.21%, es convertia en la xifra a tenir en compte com a predictor de lesió endoscòpica, com es reflecteix a la Figura 23.

Figura 23. Corba de ROC: xifres de CF i lesions en l'endoscòpia digestiva



## DISCUSSIÓ

Aquesta fase prospectiva de la nostra recerca, al llarg de 3 anys, amb 119 determinacions, obtingudes de malalts controlats a la nostra unitat de Gastroenterologia, ens va permetre fer un seguit d'observacions i reflexions. I intentar determinar, per una banda, si en el grup MII, la CF era no només capaç de detectar sinó de monitoritzar l'activitat inflamatòria a nivell intestinal al llarg del temps i, per altra banda, si l'aplicació d'aquest nou biomarcador ens aportava algun tipus de benefici en l'abordatge d'aquests malalts.

Les xifres de CF globals del grup MII expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 197.57 (204.19) (13 - 774) eren significament superiors als valors de normalitat recomanats pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia), tant de forma absoluta, com per subgrup de malaltia (Crohn o colitis ulcerosa).

El nostre objectiu de monitorització va ser determinar si les xifres de CF del grup MII eren o no estadísticament diferents al llarg del temps i en relació a les diferents variables, exploracions complementàries habitualment emprades i/o situacions clíniques que travessen amb freqüència aquest tipus de malalts.

La MII és una malaltia inflamatòria a nivell del tracte intestinal amb una evolució natural que es caracteritza per una successió de brots inflamatoris de presentació poc previsible. Per aquest motiu, i al llarg del temps, aquests malalts són sotmesos a diferents control clínics, analítics, microbiològics, d'imatge i fins i tot endoscòpics (malgrat ser invasius, cars i incòmodes pels malalts), per tal d'assegurar el perfecte control de la malaltia inflamatòria.

En els darrers anys, i davant d'un millor coneixement de la malaltia, del seu curs evolutiu i dels seus diferents factors pronòstics, s'ha passat d'una exigència clínica a una d'endoscòpica. En altres paraules, fa una dècada l'objectiu terapèutic era aconseguir un control dels símptomes del malalt amb MII. Avui en dia, en evidenciar que una curació mucosa (*mucosal healing*) és predictora de bon curs de la malaltia al llarg termini, s'ha establert com a *gold standard* del objectiu terapèutic actual. Aconseguir una remissió profunda de l'activitat inflamatòria redueix la morbiditat a diferents nivells: complicacions mèdiques, taxes d'hospitalització i/o cirurgia, entre d'altres.

En coincidència amb aquest canvi de mentalitat i amb la necessitat de trobar nous biomarcadors, no invasius i altament sensibles, va néixer la determinació de la CF. Ràpidament va trobar el seu lloc en la discriminació de la MII, però les seves múltiples aplicacions en diferents escenaris de la MII i la seva correlació amb les tècniques endoscòpiques encara estan per determinar de forma exacta.

En tots aquests malalts afectes de MII, diagnosticats segons els criteris del grup de treball europeu (*Porto criteria*) i controlats regularment a la nostra unitat de Gastroenterologia per tal de determinar de grau d'activitat inflamatòria, ja sigui al debut o al llarg del temps, habitualment es realitzen un seguit d'exploracions complementàries. En tots ells es va addicionar la determinació de la CF al protocol de diagnòstic i seguiment habitual de la nostra

unitat: nivells plasmàtics de PCR (100%), coprocultius (22.7%), ecografies abdominals (10.9%), RMN intestinals (19.3%) i endoscòpies digestives altes i baixes (32.8%).

Els objectius principals quant a les xifres de CF (mcg/g) eren poder analitzar les següents variables: la capacitat de discriminació respecte al nostre grup control pediàtric per malaltia i subtipus de malaltia (Crohn vs colitis), per tractament emprat i per presència/absència d'activitat inflamatòria de base, i la capacitat de discriminació o correlació amb els 3 elements clàssicament utilitzats per confirmar/descartar l'activitat inflamatòria intestinal en aquestes entitats, la PCR, la RMN intestinal i l'endoscòpia digestiva.

Com era evident, quant a les xifres de CF (mcg/g) globals per escenari MII, pensant en una malaltia que es defineix a ella mateixa com a malaltia inflamatòria intestinal, vam poder trobar diferències significatives tant per malaltia, com per subtipus de malaltia (Crohn i colitis). A la literatura es descriuen lleugeres diferències a favor de la colitis ulcerosa, amb la hipòtesi de presentar unes lesions més distals, tanmateix no va ser així a la nostra sèrie amb un lleuger predomini a favor del Crohn, en mitjana, mediana i IQR: Crohn 201.69 (107) (35 - 316) i colitis ulcerosa 185.37 (129) (28 - 271)<sup>21</sup>.

Quant a la presència o absència d'activitat inflamatòria en el moment de la determinació de CF, també vam trobar diferències significatives demostrant la capacitat de discriminació de la CF en aquesta primera situació clínica, de la mateixa manera que ho farien altres paràmetres com la PCR, el reactant de fase aguda habitualment usat en la pràctica clínica pediàtrica.

Aquí ens agradaria destacar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR de malalts sense activitat inflamatòria 123.89 (79) (19 - 162); xifres més elevades que les de la població normal i que posarien en evidència una probable subinflamació intestinal sense repercussió clínica. A la literatura es descriu com, tant alguns malalts, com els seus familiars, podrien presentar xifres anormalment elevades respecte a la població normal, manifestant potser activitat inflamatòria anormal en relació a una disbiosi o a una mala tolerància a la seva flora sapròfita<sup>83</sup>.

Quant al tractament de base emprat, evidentment vam poder demostrar diferències significatives entre estar o no sota tractament, però també ens agradaria destacar la potencial capacitat de la CF en discriminar diferents graus de control de malaltia en relació o en funció del tractament emprat. Tot i no arribar a cotes de significació estadística, les xifres de CF dels malalts sota medicació biològica van ser inferiors als malalts sota medicació convencional en mitjana, mediana i IQR: medicació convencional (5-ASA o AZA) 180.15 (146) (35 - 271) i medicació biològica (IFX o ADA) 134.47 (80) (16 - 141). La medicació biològica es reserva per aquells casos on la malaltia és refractària a la medicació convencional. En aquests casos s'ofereixen anticossos monoclonals dirigits contra el TNFalfa, substància clau en la cascada inflamatòria d'aquestes entitats digestives. En els treballs de De Vos i Kolho, tant infliximab com adalimumab, els 2 anticossos monoclonals habitualment usats, han demostrat majors taxes de curació mucosa respecte a la resta de medicacions<sup>84-85</sup>. Les medicacions amb més potència antiinflamatòria i, per tant, amb més capacitat de cicatrització mucosa, serien les que presentarien majors reduccions en les xifres de CF, com deixa entreveure la nostra sèrie.

Quant a les diferents exploracions realitzades, les dades més representatives serien l'intent de buscar correlacions entre la determinació de CF i la PCR, les lesions detectades a la RMN i a l'endoscòpia digestiva.

Quant a la PCR, gràficament vam poder demostrar com les xifres de CF no tenen una bona correlació amb la PCR plasmàtica degudes a les seves diferències de sensibilitat per detectar el procés inflamatori intraluminal. No per un problema de la CF sinó del paràmetre clàssicament usat en aquesta indicació de discriminació, la PCR. La correlació entre CF i PCR és bona per xifres de PCR intermitges o altes, però quan la PCR tendeix a 0 es perd tota correlació. A la literatura sempre s'ha parlat de la colitis ulcerosa o el Crohn amb PCR normal. Ara sabem que hi ha casos on la PCR és normal ( $N < 0.5$  mg/dL), sent incapaç de detectar valors baixos d'activitat inflamatòria intestinal. La CF, per contra, debut a una major sensibilitat, sí seria capaç de detectar tots aquests casos i no infravalorar-ne l'activitat inflamatòria. Ara caldrà determinar quin *cut-off* hauríem de considerar suficient, de rellevància clínica o mèdica, per obligar-nos a emprendre una acció terapèutica proactiva.

Quant a la presència o absència de lesions, tant a nivell de la RMN intestinal, com de l'endoscòpia digestiva, també vam poder demostrar diferències estadísticament significatives evidenciant la seva correlació i el possible ús d'aquest biomarcador per a confirmar/descartar lesions establertes en el tracte digestiu de forma similar als treballs de D'Haens i Molander<sup>86-87</sup>.

Aquí ens agradaria destacar que per mitjà de les corbes de ROC, la xifra de CF de 225 mcg/g en la nostra sèrie constituïria la xifra a tenir en compte com a predictor de lesió endoscòpica. És a dir, la xifra de CF que un cop superada, en un 100% dels casos evidenciaria lesió endoscòpica (Crohn, *Rutgeerts score* mínim de 1 -2 o Colitis, *Mayo score* mínim de 1 -2). Una xifra no massa diferent de la descrita en els treballs de la dra. Lobatón del grup de Bellvitge (272 mcg/g i 250 mcg/g, respectivament)<sup>88-89</sup>.

Com hem pogut evidenciar en la nostra sèrie i en la literatura mèdica recentment publicada, podríem dir que la CF ha fet els deures i els ha passat amb nota. Ha estat capaç de demostrar la seva utilitat, tant en la discriminació de la malaltia, com en la monitorització de les diferents situacions al llarg del temps, i amb una bona correlació amb les tècniques d'imatge i les endoscòpiques.

En relació amb aquestes darreres, definint punts de tall que ens haurien de ser d'utilitat per tal de determinar la necessitat o no de realitzar procediments endoscòpics, estalviant així costos al sistema sanitari i incomoditats als pacients de forma innecessària<sup>90-91</sup>.

En relació amb els paràmetres analítics clàssics (PCR), recordar que la sensibilitat de la CF li permet elevar-se abans que la resta de RFA clàssics, fent-ho fins i tot setmanes abans de l'aparició de l'empitjorament clínic del malalt.

Un cop la CF ha estat capaç de millorar el nostre present, la nostra manera de monitoritzar el procés inflamatori intestinal gràcies a la seva sensibilitat, a on ens dirigim? Quins reptes futurs li podríem plantejar a la CF?

Un possible nou repte, i en coincidència amb la major capacitat i possibilitat d'estudiar tot el nostre microbioma intestinal, seria poder investigar si la determinació de CF presenta

una bona correlació amb patrons de microflora proinflamatoris, és a dir, si la CF tindria la capacitat de predir patologia o risc de patologia abans no apareguin les lesions pròpies de la malaltia en la RMN o en l'endoscòpia. En altres paraules, fer un pas endavant en l'origen de la malaltia i alhora en la recerca dels límits de la capacitat predictiva de la CF<sup>92-94</sup>.

## LIMITACIONS

De nou, la gran limitació que hauríem d'assumir d'aquesta fase prospectiva de la nostra recerca seria la N de la mostra. Només 119 determinacions de CF per intentar analitzar la capacitat, tant de discriminació davant d'un possible debut, com de monitorització del biomarcador al llarg del temps de malalts ja diagnosticats i tractats, i la seva correlació amb les exploracions habitualment emprades.

Tot i haver trobat diferències estadísticament significatives en la majoria de les preguntes plantejades, hagués estat desitjable tenir un percentatge superior d'exploracions radiològiques (enteroRMN) i de procediments endoscòpics; recordem que només va ser possible en un 20% i un 33% de les determinacions, respectivament. Sens dubte, l'estudi de correlació de la CF amb les lesions detectades a la RMN intestinal i la precisió de la corba de ROC amb les lesions endoscòpiques, se n'haguessin pogut beneficiar.

Tanmateix, i en relació amb el nostre *cut-off* obtingut en la corba de ROC amb només 39 procediments endoscòpics, l'experiència de la Dra. Lobatón del grup d'adults de Bellvitge amb un nombre molt superior de procediments endoscòpics (115 Crohns i 146 colitis) no va obtenir uns valors molt diferents respecte a la nostra sèrie.

## CONCLUSIONS

Es van trobar diferències estadísticament significatives entre el grup MII, etiquetat segons els criteris de Porto (*European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*), i el grup Control.

Els nivells de CF van demostrar la seva utilitat, tant en finalitats diagnòstiques (*screening*), com de seguiment (risc de recaigudes i eficàcia terapèutica).

Els diferents tractaments emprats, probablement amb intensitat terapèutica diferent, van condicionar diferents descensos dels valors mitjans de CF.

Els nivells de CF no van presentar uns bons nivells de correlació amb la PCR donades les seves diferències de sensibilitat per captar l'activitat inflamatòria intestinal intraluminal.

A les corbes de ROC, uns nivells de CF de 225 mcg/g eren factors predictors de lesió endoscòpica.

## ESTUDI PROSPECTIU: ESCENARI SIC (síndrome d'intestí curt)

## METODOLOGIA

Entre el Juny de 2.011 i el Juny de 2.014 van ser sol·licitades de forma prospectiva un total de 22 determinacions de CF en l'escenari clínic SIC. Els seus objectius eren demostrar la utilitat de l'addició de la CF al maneig del seguiment habitual d'aquesta patologia. És a dir, demostrar la capacitat de monitorització de l'activitat inflamatòria intestinal per part de la CF al llarg del temps per fase de la malaltia, per tractament aplicat... De forma similar a l'escenari MII, es van sol·licitar determinacions de CF, com a mínim, de forma anual i en coincidència amb canvis rellevants en l'evolució de la malaltia, ja fossin de caire clínic (empitjorament de símptomes), analític (necessitat d'exploracions addicionals) i/o terapèutic (canvis de medicació). En definitiva, per analitzar la possible optimització i cost-benefici de la seva aplicació en l'algoritme d'actuació actual.

Es mostren les mesures descriptives habituals, mitjana (desviació típica), mínim i màxim, mediana i quartils en el grup SIC, segons les variables d'agrupació. Es presenten els valor p de les proves de contrast d'igualtat de mitjanes (T-student o Anova) o d'igualtat de distribucions (U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis), segons el nombre de categories sigui 2 o més de 2. S'escull el primer grup de test si la variable és simètrica i normal, segons la prova de Shapiro-Wilks. En el diagrama de caixes es representa la mediana (línia central) i els percentils 25 i 75.

## RESULTATS

Les dades demogràfiques bàsiques dels malalts a qui se'ls va recollir una mostra fecal per a la determinació de CF queden recollides en la Taula 12.

Tots aquests malalts afectes de SIC, diagnosticats segons les guies nacionals i internacionals de la subespecialitat i controlats regularment a la nostra unitat de Gastroenterologia, són sotmesos a control clínics, analítics, microbiològics i/o d'imatge periòdics per tal de monitoritzar el procés de rehabilitació intestinal. Emulant a l'escenari MII, vam decidir dissenyar un protocol prospectiu incorporant la determinació de CF a l'algoritme d'actuació de la nostra praxis clínica habitual. Al llarg del nostre seguiment, a més de les determinacions de CF també se'ls van sol·licitar: nivells plasmàtics de PCR (100%), coprocultius (100%), fecatest o test de sang oculta en femtes (100%), trànsit intestinal amb bari complet (100%) i endoscòpies digestives altes i baixes (50%) amb evidència d'alteracions en més de la meitat del casos (6/11).

Taula 12. Dades demogràfiques i característiques clíniques

· Número de determinacions	22
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Homes/Dones	16 (72.7%)/4 (27.3%)
· Edat	
- Menors de 1 any	1 (4.6%)
- De 1 a 4 anys	6 (27.3%)
- De 5 a 9 anys	12 (54.5%)
- Majors de 10 anys	3 (13.6%)
· Enterocolitis necrotitzant	14 (63.6%)
· Volvulació intestinal	6 (27.3%)
· Atrèsia intestinal	2 (9.1%)
· Portador de NPD	8 (36.4%)
· Descontaminació intestinal	16 (72.7%)
· Dilatació intestinal	19 (86.4%)
· Intervingut de STEP	6 (27.3%)
· Xifra de PCR (mg/dL) (N) (%) ( <i>median</i> ) ( <i>range</i> )	22 (100%) (0.1) (0.01 - 2.7)
· Fecatest (N)(%)	22 (100%)
· Coprocultiu (N)(%)	22 (100%)
· Trànsit intestinal baritat (N)(%)	22 (100%)
· Endoscòpia digestiva alta i baixa (N)(%)	11 (50%)

Abreviatures: STEP, *serial transverse enteroplasty procedure*; NPD, nutrició parenteral domiciliària; PCR, proteïna C reactiva

Aquest tipus de malalts, per una banda poden ser molt heterogenis degut a la causa responsable, al tipus de cirurgia realitzada, a l'intestí residual, a l'edat de presentació en què apareix condicionant la seva plasticitat, i per altra banda, força homogenis en els canvis que l'intestí experimenta en un intent de buscar/aconseguir la seva autonomia digestiva.

En una primera fase, tots ells es veuen obligats a portar una nutrició parenteral domiciliària (NPD) i una descontaminació intestinal en cas de resecció de la vàlvula ileocecal i/o clínica suggestiva de sobrecreixement bacterià. Al llarg del temps, la norma és la dilatació intestinal progressiva, i quan aquesta compromet el normal peristaltisme, cal oferir tècniques de remodelatge intestinal com el STEP (*serial transverse enteroplasty procedure*).

En la nostra sèrie, amb majoria de casos d'enterocolitis necrotitzant (ECN) (63.6%) on un 36.4% encara requeria de NPD i un 72.7% requeria descontaminació intestinal amb pautes antibiòtiques cíclics, la dilatació va ser evidenciada en el 86.4%, i en un 27.3% dels dilatats es va haver de practicar un STEP.

Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), no vam trobar diferències estadísticament significatives, ni per sexe, ni edat ( $p$  0.712 i  $p$  0.507, respectivament), com es reflecteix a les Figures 24 i 25.

Figura 24. Xifres de CF per sexe

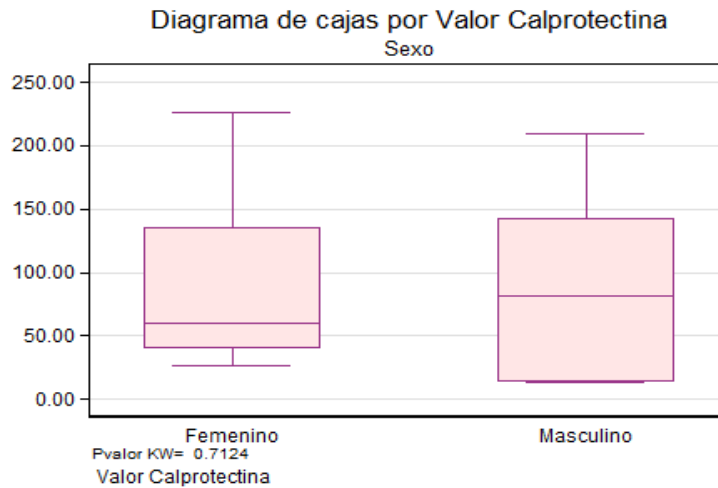
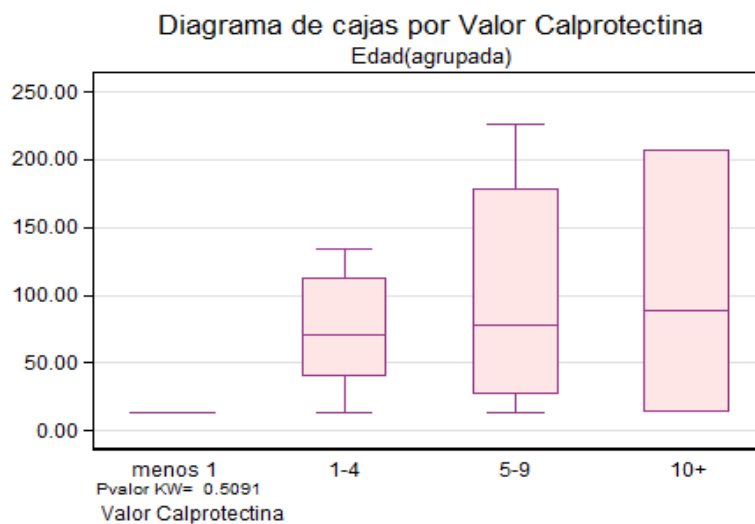


Figura 25. Xifres de CF per edat



Per sexe vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: femení 90.83 (59.5) (39 - 135) i masculí 88.81 (82) (13.5 - 143). Per edat vam decidir expressar-les en mitjana, mediana i IQR: menors d'un any 13 (13) (13 - 13), 1 a 4 anys 73.17 (70.5) (39 - 112), 5 a 9 anys 100.42 (78) (26 - 178), majors de 10 anys 103 (89) (13 - 207).



Quant a les xifres de calprotectina (mcg/g), recollides a la Taula 13, vam voler analitzar un seguit de variables: per una banda, les possibles diferències respecte al nostre grup control pediàtric, per tractament emprat i per presència/absència de dilatació intestinal significativa, i per una altra banda, la correlació amb la PCR, el fecatest i la endoscòpia digestiva, els 3 elements clàssicament utilitzats per confirmar/descartar l'activitat inflamatòria intestinal en aquesta entitat.

Taula 13. Determinacions de calprotectina en SIC. Part 01

· Número de determinacions	22
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	89.36 (73.25) (13 - 226)
PER SEXE	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Femení	90.83 (59.5) (39 - 135)
- Masculí	88.81 (82) (13.5 - 143)
PER EDAT	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Menors de 1 any	13 (13) (13 - 13)
- De 1 a 4 anys	73.17 (70.5) (39 - 112)
- De 5 a 9 anys	100.42 (78) (26 - 178)
- Majors de 10 anys	103 (89) (13 - 207)
PER TRACTAMENT	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Descontaminació intestinal	SI 99.5 (77.5) (33 - 178) / NO 62.33 (50.5) (13 - 112)
- Portador de NPD	SI 68 (40.5) (20 - 100) / NO 101.57 (96) (26 - 152)
- Intervingut STEP	SI 87 (54) (39 - 152) / NO 90.25 (82) (20 - 134.5)
Abreviatures: sd, <i>standard deviation</i> ; IQR, <i>interquartile range</i> ; NPD, <i>nutrició parenteral domiciliària</i> ; STEP, <i>serial transverse enteroplasty procedure</i>	

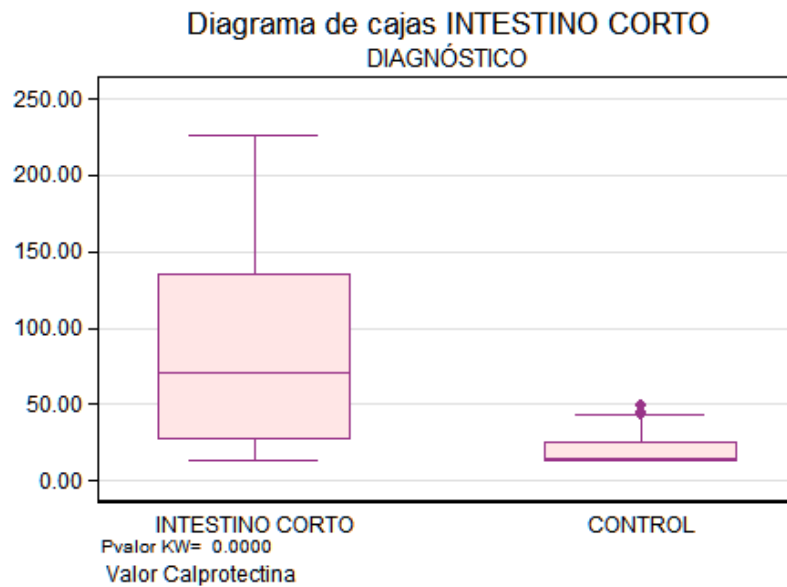
Taula 13. Determinacions de calprotectina en SIC. Part 02

· Número de determinacions	22
· Període	Juny 2.011 - Juny 2.014
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang)	89.36 (73.25) (13 - 226)
<b>PER DILATACIO INTESTINAL</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Present	97.42 (89) (27 - 152)
- Absent	38.33 (26) (14 - 75)
<b>PER FECATEST (sang oculta en femtes)</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Positiu	158.11 (152) (134 - 207)
- Negatiu	41.77 (27) (13 - 53)
<b>PER LESIONS EN LA ENDOSCOPIA</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	
- Presència	169.67 (179.5) (134 - 210)
- Absència	104.8 (103) (66 - 112)
<b>ESCENARI SIC</b>	
· Calprotectina (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	89.36 (70.5) (26 -135)
<b>* GRUP CONTROL</b>	
· Calprotectina global (mcg/g) (mitjana) (mediana) (IQR)	19.57 (13) (13 - 25)

Abreviatures: sd, *standard deviation*; IQR, *interquartile range*

Quant la presència o absència de diferències entre l'escenari SIC i el grup control, vam decidir expressar les xifres de calprotectina (mcg/g) entre les 2 poblacions en mitjana, mediana i IQR: Grup control 19.56 (13) (13 - 25) i l'escenari SIC 89.36 (70.5) (26 - 135), com es reflecteix a la Figura 26. Les xifres de CF van tenir una diferència significativa, amb una  $p < 0.001$ , respecte al nostre grup control pediàtric.

Figura 26. Diferències entre les 2 poblacions



Quant al tractament requerit, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: descontaminació intestinal 99.5 (77.5) (33 - 178), portador de NPD 68 (40.5) (20 - 100) i intervenció de STEP 87 (54) (39 - 152). En cap dels 3 supòsits vam trobar diferències estadísticament significatives ( $p$  0.301,  $p$  0.305 i  $p$  0.97, respectivament) com es reflecteix a les Figures 27, 28 i 29.

Figura 27. Xifres de CF per descontaminació intestinal

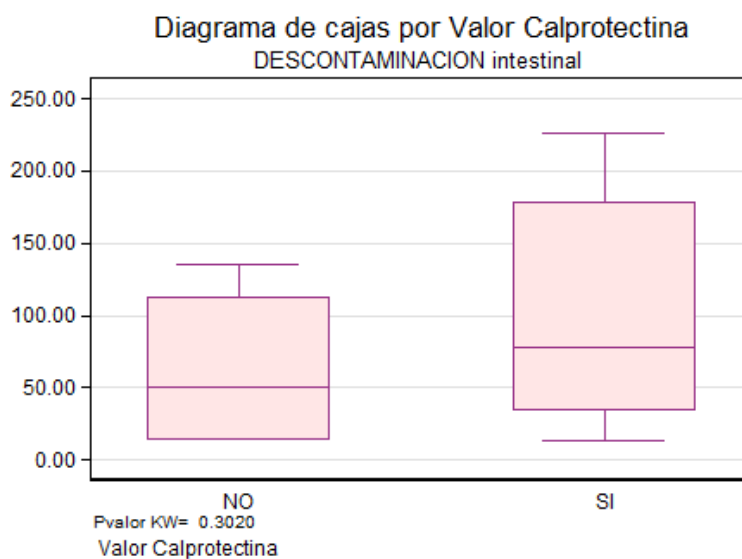


Figura 28. Xifres de CF en portadors de NPD

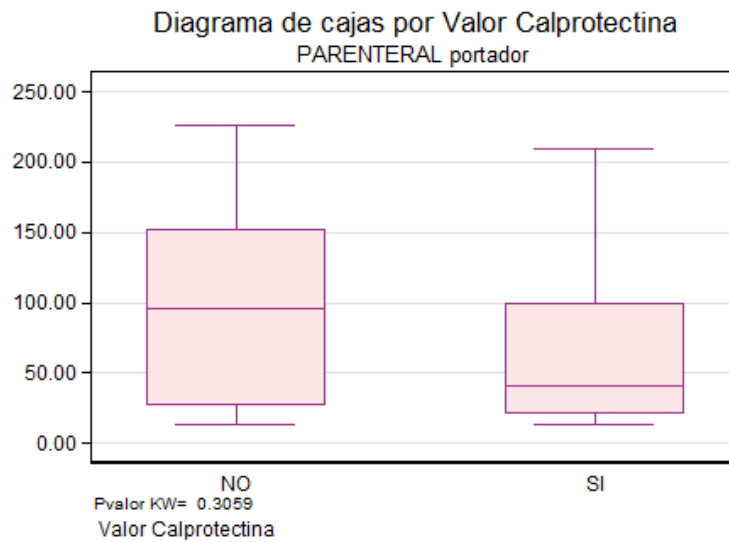
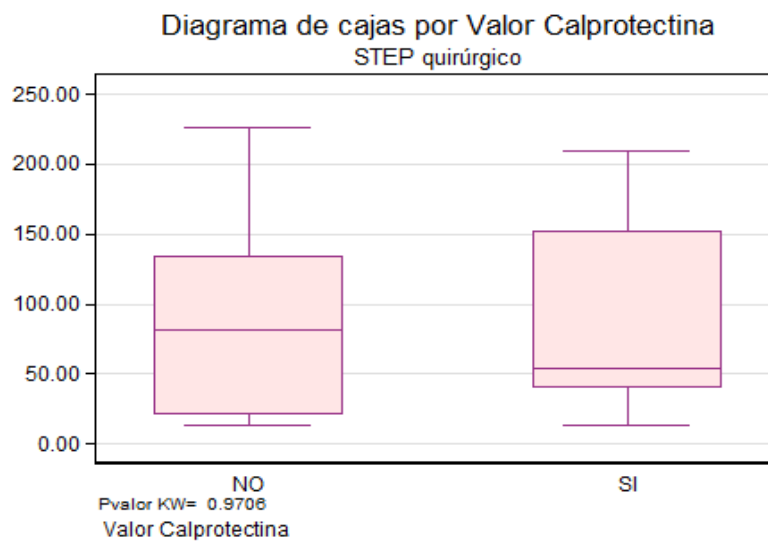
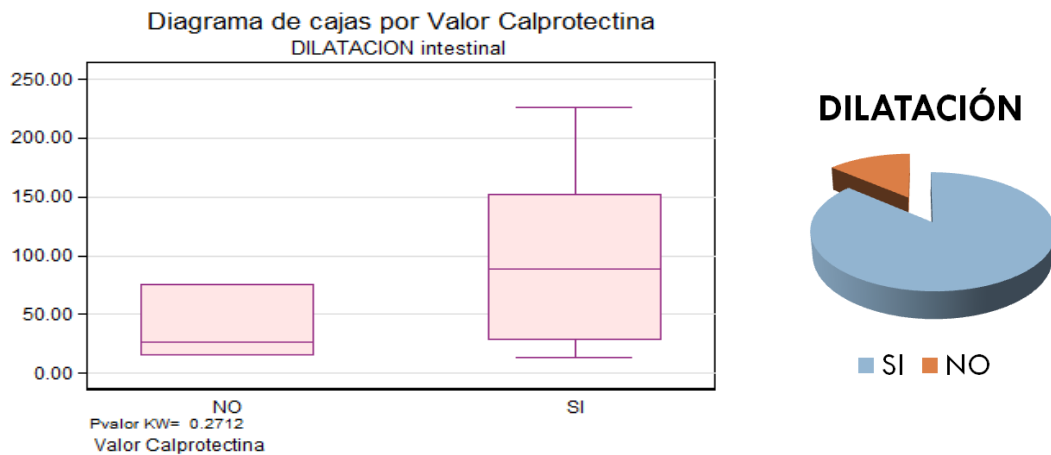


Figura 29. Xifres de CF en intervinguts de STEP



Quant a la presència o absència de dilatació intestinal en el moment de la determinació de CF, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: presència 97.42 (89) (27 - 152) i absència 38.33 (26) (14 - 75), com es reflecteix a la Figura 30. Tot i les aparents diferències reflectides a la Gràfica 30, no vam poder assolir cotes estadísticament significatives (p 0.27).

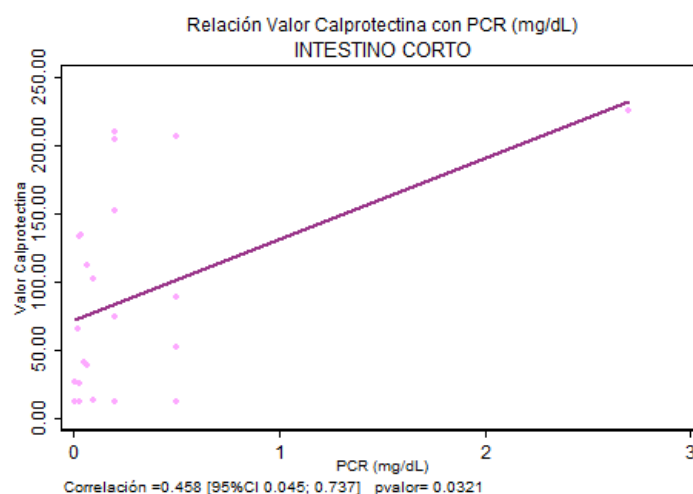
Figura 30. Xifres de CF per dilatació intestinal



Quant a les exploracions realitzades, les dades més representatives serien la correlació de la determinació de CF amb la PCR, el fecatest i les lesions detectades a l'endoscòpia digestiva.

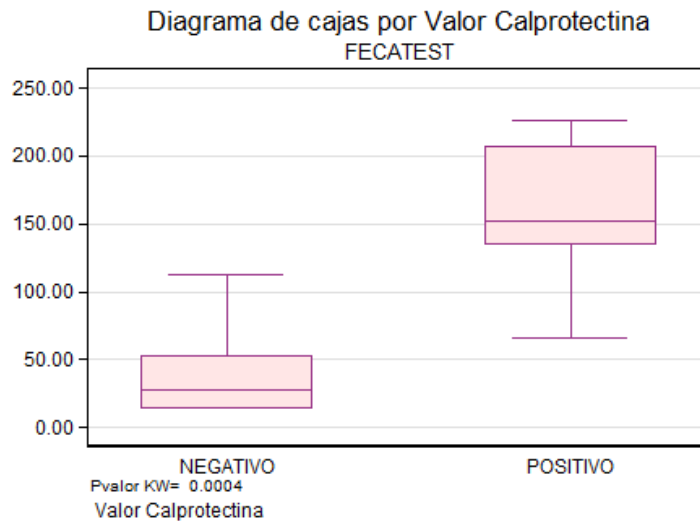
A la Figura 31 es pot apreciar com les xifres de CF no van tenir una bona correlació amb la PCR plasmàtica, probablement per diferències a nivell de la seva sensibilitat per detectar el procés inflamatori intraluminal. De la mateixa manera que va succeir en l'escenari MII, vam poder evidenciar una correlació de gradació ascendent, és a dir, una major correlació a mesura que les xifres de PCR i CF augmentaven. Tanmateix, a mesura que la PCR tendia a 0 es perdia la correlació numèrica entre les 2 variables. La major sensibilitat de la CF li seguia permetent detectar inflamació on la PCR ja no li era possible.

Figura 31. Relació entre xifres de CF i la PCR



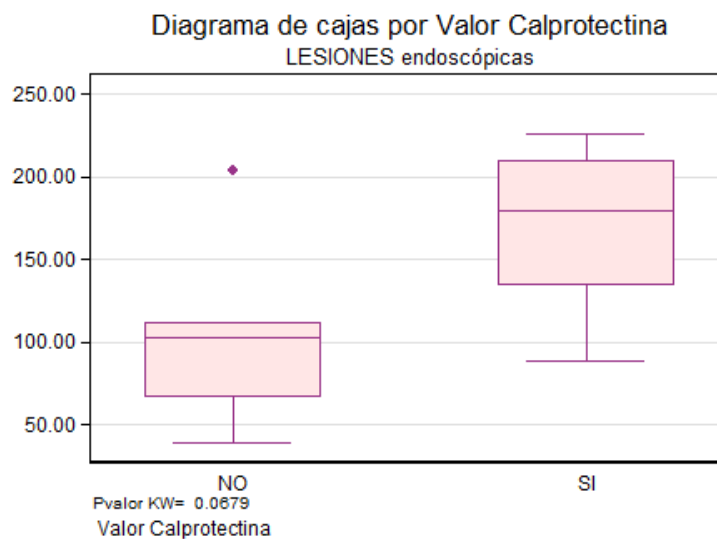
Quant a les xifres de CF i la positivitat en el fecatest o test de sang oculta en femtes, en 41% de les determinacions (9 /22), vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: positiu 158.11 (152) (134 - 207) i negatiu 41.77 (27) (13 - 53), com es reflecteix a la Figura 32, sent les seves diferències significatives, amb una  $p < 0.001$ .

Figura 32. Xifres de CF i test de sang oculta en femtes



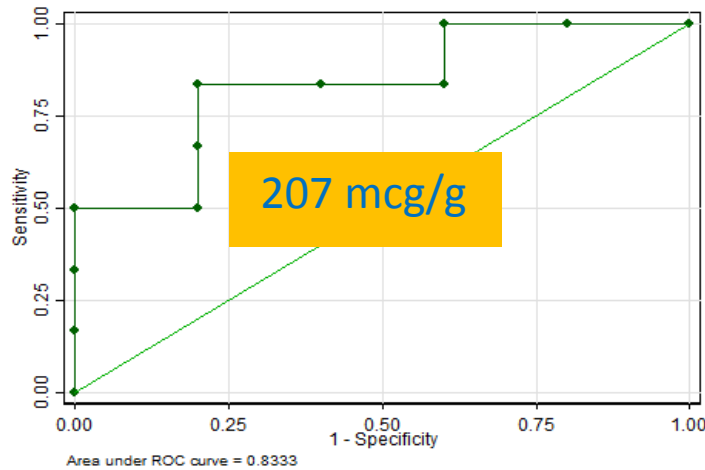
Quant a les xifres de CF i la presència o absència de lesions a nivell de l'endoscòpia digestiva, vam decidir expressar les xifres de CF en mitjana, mediana i IQR: presència 169.67 (179.5) (134 - 210) i absència 104.8 (103) (66 - 112), com es reflecteix a la Figura 33, sent les seves diferències també significatives, amb una  $p < 0.001$ .

Figura 33. Xifres de CF i lesions en l'endoscòpia digestiva



Mitjançant les corbes de ROC, la xifra de CF de 207 mcg/g, amb una especificitat del 100% i una sensibilitat del 50%, es convertia en la xifra a tenir en compte com a predictor de lesió endoscòpica, com es reflecteix a la Figura 34.

Figura 34. Corba de ROC: xifres de CF i lesions en l'endoscòpia digestiva



## DISCUSSIO

Aquesta fase prospectiva de la nostra recerca, al llarg de 3 anys, amb 22 determinacions, obtingudes de malalts controlats a la nostra unitat de Gastroenterologia, ens va permetre fer un seguit d'observacions i reflexions. I intentar determinar si en el grup SIC, la CF era capaç de detectar i monitoritzar l'activitat inflamatòria a nivell intestinal al llarg del procés de adaptació/rehabilitació intestinal que aquests malalts experimenten; si l'aplicació d'aquest nou biomarcador ens aportava algun tipus de benefici en l'abordatge d'aquests malalts.

Les xifres de CF globals del grup SIC expressades en (mcg/g) (mitjana) (sd) (rang) 89.36 (73.25) (13 - 226) van ser significament superiors als valors de normalitat recomanades pel test (50 mcg/g) (Calprest, eurospital, Trieste, Itàlia).

El nostre objectiu de monitorització va ser determinar si les xifres de CF del grup SIC eren o no estadísticament diferents al llarg del temps i en relació a les diferents variables, exploracions complementàries habitualment emprades i/o situacions clíniques que travessen amb freqüència aquests tipus de malalts.

El SIC és una malaltia o situació clínica que estaria inclosa en el concepte de fallida intestinal. Aquesta és una entitat poc freqüent (2 a 5 casos per milió) però que comporta un fort impacte, tant en els nens, com en llurs famílies, i amb unes xifres de morbi-mortalitat no gens menyspreables (mortalitat 15 a 25%)<sup>49</sup>.

La fallida intestinal es podria definir com la incapacitat d'aconseguir un correcte balanç proteic, energètic, hídric, electrolític i de micronutrients, producte d'una reducció de la massa funcional enterocitària que permetria l'adequada digestió i absorció<sup>95</sup>.

Aquesta pot produir-se per 2 grans grups de causes: les anatòmiques, que són les més freqüents a nivell pediàtric, on existeix un compromís de la longitud intestinal secundari a malformacions congènites o reseccions quirúrgiques; i les funcionals, per dismotilitat intestinal o malalties associades a malabsorció<sup>48</sup>. En la nostra sèrie, i de forma coherent amb la literatura pediàtrica al respecte, els casos d'enterocolitis necrotitzant (ECN) (63.6%) van ser els majoritaris, seguits de malformacions congènites: volvulacions (27.3%) i atrèsies intestinals (9.1%).

La característica comú en totes elles serà la necessitat d'una atenció especialitzada i multidisciplinària amb un suport nutricional perllongat, requerint de nutrició parenteral (NP) variable en el temps en funció de causa concreta de la fallida intestinal. En la nostra sèrie, un 36.4% encara requeria de NPD<sup>96</sup>.

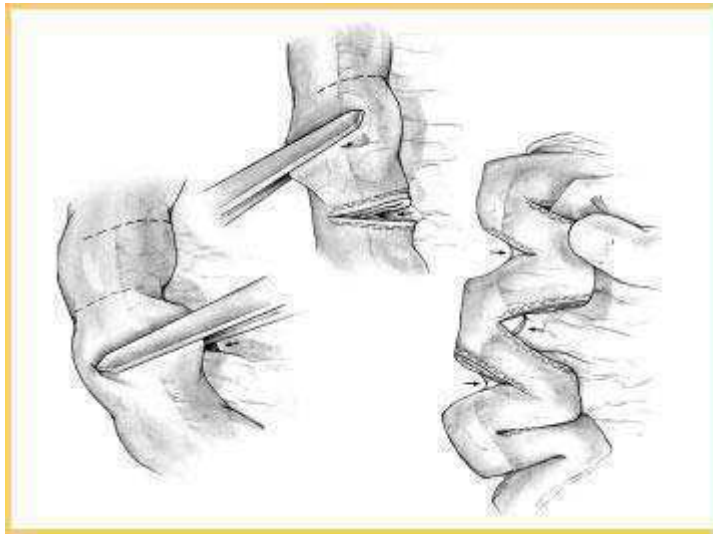
El procés d'adaptació intestinal que el SIC experimenta té com a objectiu restaurar l'absorció normal de macronutrients, micronutrients i aigua. Té un component estructural, amb un increment de l'àrea absorptiva de l'intestí romanent a expenses d'una major profunditat de les criptes, amb hiperplàsia cel·lular i creixement en longitud de les vellositats intestinals, i un altre de funcional, principalment a expenses d'un alentiment del trànsit gastrointestinal. Aquests canvis adaptatius comencen de forma precoç i es mantenen per mesos o anys en funció de la plasticitat de cada individu<sup>50-51</sup>.

Al llarg del temps s'han intentat descriure aquells factors amb major capacitat per predir la probabilitat d'arribar a una autonomia digestiva com serien, entre d'altres: l'ús de la nutrició enteral, l'extensió i qualitat de l'intestí prim residual o romanent, la presència de vàlvula ileo-cecal, l'absència de sobrecreixement bacterià, i la presència de colon i de continuïtat intestinal<sup>97</sup>.

En aquests darrers anys s'han realitzat un seguit d'avenços molt importants en el maneig d'aquests malalts, tant a nivell mèdic, com a nivell quirúrgic. A nivell mèdic hauríem de destacar l'optimització del maneig nutricional, tant l'enteral com el parenteral, el del sobrecreixement, les infeccions dels dispositius de NP i la disfunció associada a la NP perllongada. A nivell quirúrgic, destacaríem la millora tant en les tècniques de rehabilitació intestinal (Bianchi i STEP), com en el propi trasplantament intestinal en aquells malalts on no serà possible aconseguir l'autonomia digestiva<sup>98</sup>.



Figura 35. Esquema de la tècnica STEP



A més de realitzar un conjunt d'exploracions complementàries "clàssiques" per tal de monitoritzar aquest procés de rehabilitació intestinal, en aquests darrers anys s'ha estat treballant en la recerca de biomarcadors no invasius que fossin capaços de reflectir la longitud i/o el funcionament de l'intestí romanent, en definitiva, buscant eines per esbrinar la capacitat o no d'aconseguir l'autonomia digestiva. La citrulina és un aminoàcid no essencial sintetitzat exclusivament a l'enteròcit i que ha demostrat presentar una molt bona correlació amb la massa enterocitària residual i amb la probabilitat de retirada de NP. Unes xifres de citrulina > 15 -20  $\mu\text{mol/L}$  en malalts amb SIC serien bones predictores de retirada de NP<sup>52</sup>.

Tanmateix aquest procés d'adaptació intestinal no l'hauríem de veure com un simple creixement de les estructures vellositàries, sinó que s'acompanya d'un seguit de canvis a nivell del microbioma i de la resposta immunològica corresponent per part de l'individu. Resposta inicialment fisiològica, però que pot acabar sent patològica si el sobrecreixement bacterià es descontrola<sup>99</sup>. Aquest sobrecreixement condicionarà una inflamació intestinal que es manifestarà en forma de: diarrea i pèrdua de la capacitat absorbent, acidosi D-làctica i clínica neurològica, o una espècie de malaltia inflamatòria intestinal o *IBD-like*.

Aquesta forma *IBD-like*, una de les més freqüents, faria referència a la presència de lesions endoscòpiques que imiten a les pròpies d'una MII. El sobrecreixement de soques amb capacitat d'adherència a la paret intestinal acaba condicionant una inflamació crònica que condueix a l'aparició d'ulceracions de caràcter progressiu que, fent servir els índexs endoscòpics aplicats a la MII, podrien ser catalogades com a lleus, moderades o greus<sup>58</sup>.

De la mateixa manera que la citrulina ha permès predir massa enterocitària, les similituds a nivell fisiopatològic amb la MII, amb la disbiosi com a iniciador de la cascada inflamatòria, ens van fer pensar en la possibilitat d'introduir la determinació de CF amb les mateixes finalitats que en la MII: com a possible paràmetre que permetés la discriminació i monitorització de la inflamació intestinal al llarg de l'evolució natural del seu procés adaptatiu.

Tots aquests malalts afectes de SIC, diagnosticats segons les guies nacionals i internacionals de la subespecialitat i controlats regularment a la nostra unitat de Gastroenterologia, són sotmesos a control clínics, analítics, microbiològics i/o d'imatge periòdics per tal de monitoritzar el procés de rehabilitació intestinal. Emulant a l'escenari MII, vam decidir addicionar la determinació de la CF al protocol de seguiment habitual de la nostra unitat: nivells plasmàtics de PCR (100%), coprocultius (100%), fecatest o test de sang oculta en femtes (100%), trànsit intestinal amb bari complert (100%) i endoscòpies digestives altes i baixes (50%), amb evidència d'alteracions en més de la meitat del casos (6/11).

Els objectius principals quant a les xifres de CF (mcg/g) eren poder analitzar les següents variables: les diferències respecte al nostre grup control pediàtric, per tractament emprat i per presència/absència de dilatació intestinal, i la correlació amb els 3 elements clàssicament utilitzats per confirmar/descartar l'activitat inflamatòria intestinal en aquestes entitats, la PCR, el fecatest i l'endoscòpia digestiva.

Quant a les xifres de CF (mcg/g) globals per escenari SIC, expressades en mitjana, mediana i IQR: 89.36 (70.5) (26 - 135), i pensant en un procés que presenta o potencialment pot presentar una certa activitat inflamatòria intraluminal al llarg del seu procés d'adaptació intestinal, van ser suficientment elevades per poder trobar diferències significatives respecte al nostre grup control, posant en evidència que la presència d'una activitat inflamatòria pot esdevenir un important factor pronòstic a tenir compte en el futur assoliment de l'autonomia digestiva.

Quant als tractaments mèdics i quirúrgics més rellevants requerits: descontaminació intestinal (72.7%), portador de NPD (36.4%) i intervenció de STEP (27.3%), en cap dels 3 supòsits vam aconseguir trobar diferències estadísticament significatives com es reflecteix a les Figures 27, 28 i 29.

Quant a la presència o absència de dilatació intestinal en el moment de la determinació de CF, xifres expressades en mitjana, mediana i IQR: presència 97.42 (89) (27 - 152) i absència 38.33 (26) (14 - 75), tot i les aparents diferències, no van poder assolir cotes de significació estadística ( $p$  0.27), probablement per una  $N$  insuficient. Semblaria raonable pensar que la dilatació intestinal, molt comuna al llarg del procés d'adaptació intestinal i present en el 86.4% dels nostres malalts, acaba condicionant un diàmetre intestinal crític que compromet el normal peristaltisme, agreuja el sobrecreixement bacterià subjacent i inicia i/o perpetua la cascada inflamatòria intraluminal.

Quant a les exploracions realitzades, les dades més representatives serien la correlació de la determinació de CF amb la PCR, el fecatest i les lesions detectades a l'endoscòpia digestiva.

Quant a la PCR, de la mateixa manera que succeïa en l'escenari MII, gràficament vam poder demostrar com les xifres de CF no tenen una bona correlació amb la PCR plasmàtica degudes a les seves diferències de sensibilitat per detectar el procés inflamatori intraluminal; no per un problema de la CF, sinó del paràmetre clàssicament usat en aquesta indicació de discriminació, la PCR. La correlació entre CF i PCR és bona per xifres de PCR intermitges o altes però quan la PCR tendeix a 0 es perd tota correlació.

Quant a les xifres de CF i la positivitat en el fecatest o test de sang oculta en femtes, vam trobar una bona correlació entre ambdós paràmetres amb diferències estadísticament significatives, amb una  $p < 0.001$ . En altres paraules, la presència de fecatest positiu sempre s'acompanyava de xifres elevades de CF.

Quant a les xifres de CF i la presència de lesions a nivell de l'endoscòpia digestiva, també vam trobar una bona correlació entre ambdós paràmetres amb diferències estadísticament significatives, amb una  $p < 0.001$ . En altres paraules, la presència de lesions endoscòpiques sempre s'acompanyava de xifres elevades de CF.

Aquí, emulant a l'escenari MII i fent servir els seus *scores* endoscòpics, ens agradaria destacar que per mitjà de les corbes de ROC, la xifra de CF de 207 mcg/g en la nostra sèrie, constituïria la xifra a tenir en compte com a predictor de lesió endoscòpica. És a dir, la xifra de CF en què un cop superada, en un 100% dels casos evidenciaria lesió endoscòpica, una xifra no massa diferent de la descrita en el nostre escenari MII (225 mcg/g).

De nou, com hem pogut evidenciar en la nostra sèrie, podríem dir que la CF hauria fet els deures i hauria estat capaç de demostrar la seva utilitat, tant en la detecció, com en la monitorització de l'activitat inflamatòria intraluminal que potencialment pot aparèixer al llarg del procés d'adaptació intestinal d'aquests malalts afectes de SIC.

Presenta una bona correlació amb la positivitat en el fecatest i amb la presència de lesions endoscòpiques. Tanmateix, aquests 2 paràmetres els hauríem de considerar tardans, i són la demostració d'una inflamació i lesió a la mucosa intestinal ja establerta.

En relació amb els paràmetres analítics clàssics (PCR), cal recordar que la sensibilitat de la CF li permet elevar-se abans que la resta de RFA clàssics, i fins i tot setmanes abans de l'aparició de l'empitjorament clínic en el malalt amb MII.

Aplicant els coneixements adquirits en l'escenari MII. A on ens hauríem de dirigir? Quins reptes futurs li hauríem de plantejar a la CF en l'escenari SIC?

Novament, i en coincidència amb la major capacitat i possibilitat d'estudiar tot el nostre microbioma intestinal, ens podríem plantejar si la determinació de CF presenta una bona correlació amb patrons de microflora proinflamatoris, és a dir, si la CF tindria la capacitat de predir patologia o risc de patologia abans no apareguin les lesions detectades en el fecatest i/o en l'endoscòpia<sup>100-102</sup>.

En aquest escenari SIC, un altre pas endavant seria la possible administració de prebiòtics, probiòtics i/o simbiòtics en fases incipients del procés d'adaptació intestinal del SIC i analitzar-ne les potencials modificacions de la microflora, com s'ha fet en malalts amb fibrosi quística, i la seva repercussió en l'evolució natural, en un intent de reduir activitat inflamatòria i permetent accelerar l'assoliment de la desitjada autonomia digestiva<sup>103,104</sup>.

## LIMITACIONS

De nou, la gran limitació que hauríem d'assumir d'aquesta fase prospectiva de la nostra recerca seria la N de la mostra. La baixa incidència del SIC va condicionar tenir només 22 determinacions de CF per intentar analitzar la capacitat de discriminació de l'activitat inflamatòria intraluminal, de monitorització de la mateixa al llarg del temps d'adaptació intestinal i la seva correlació amb les exploracions habitualment emprades.

Creiem que per un problema de mida de mostra, la tendència numèrica a l'alça de la variable clínica dilatació intestinal no va aconseguir cotes estadísticament significatives .

Tot i haver trobat diferències estadísticament significatives en la resta de la majoria de les preguntes plantejades, hagués estat desitjable un percentatge superior de procediments endoscòpics; recordem que només va ser possible en un 50% de les determinacions. Sens dubte, l'estudi de correlació de la CF amb les lesions endoscòpiques i la precisió de la corba de ROC se n'haguessin pogut beneficiar.

Tanmateix, i en relació amb el *cut-off* obtingut en la corba de ROC amb només 11 procediments endoscòpics, no es van obtenir uns valors molt diferents a la del nostre escenari MII.

## CONCLUSIONS

Es van trobar diferències estadísticament significatives entre el grup SIC, etiquetat segons les guies nacionals i internacionals de la subespecialitat, i el grup Control.

Els nivells de CF van demostrar la seva utilitat per detectar i monitoritzar el grau d'activitat inflamatòria intestinal present al llarg del procés d'adaptació intestinal.

Els nivells de CF no van presentar uns bons nivells de correlació amb la PCR donades les seves diferències de sensibilitat per captar l'activitat inflamatòria intestinal intraluminal.

Els nivells de CF van presentar una bona correlació amb el fecatest i amb les lesions presents a l'endoscòpia digestiva.

A les corbes de ROC, uns nivells de CF de 207 mcg/g eren factors predictors de lesió endoscòpica.

## DISCUSSIÓ GLOBAL



## DISCUSSIÓ GLOBAL

· La demostració que la determinació de CF és un bon biomarcador no invasiu i econòmic per discriminar l'activitat inflamatòria intraluminal en un moment donat, i que alhora té una bona correlació amb les altres proves "clàssicament" emprades, més costoses i molestes per detectar-la com, per exemple, una analítica de sang (PCR), una ecografia abdominal o una endoscòpia digestiva, hauria de plantejar la possibilitat d'aplicar la CF, tant a Atenció Primària, com a nivell intrahospitalari, ja sigui en cas de DAR, AIJ o en qualsevol altre procés o situació on sigui necessari descartar la participació digestiva en el mateix.

· La demostració que la determinació de CF és un bon biomarcador no invasiu i econòmic per monitoritzar l'activitat inflamatòria intraluminal en els diferents escenaris que una MII pot anar experimentant al llarg del temps (remissions i recaigudes), i que alhora té una bona correlació amb les altres proves "clàssicament" emprades, més costoses i molestes per detectar-la com, per exemple, una analítica de sang (PCR), una enteroRMN o una endoscòpia digestiva, hauria de plantejar la possibilitat d'aplicar la CF, en unes ocasions, de forma complementària (sumant informació), i en d'altres, substitutiva (estalviant la realització de certes exploracions), en funció de cada cas i/o situació.

· La demostració que la determinació de CF és un bon biomarcador no invasiu i econòmic per monitoritzar la potencial activitat inflamatòria intraluminal que pot aparèixer en un SIC al llarg del seu període d'adaptació intestinal (dilatació progressiva i sobrecreixement bacterià), i que alhora té una bona correlació amb les altres proves "clàssicament" emprades, més costoses i molestes per detectar-la com, per exemple, una analítica de sang (PCR), un fecatest, un trànsit intestinal baritat o una endoscòpia digestiva, hauria de plantejar la possibilitat d'aplicar la CF, en unes ocasions, de forma complementària (sumant informació) i en d'altres, substitutiva (estalviant la realització de certes exploracions), en funció de cada cas i/o situació.

· La constatació que la determinació de CF té, per una banda, una sensibilitat molt superior per detectar activitat inflamatòria intraluminal en relació als paràmetres analítics clàssics, com la PCR, que li permet elevar-se fins i tot setmanes abans de l'aparició de l'empitjorament clínic en el malalt amb MII i, per altra banda, una bona correlació amb la positivitats en el fecatest i amb la presència de lesions endoscòpiques, 2 paràmetres tardans i que reflecteixen una inflamació amb lesió a la mucosa intestinal en el SIC, hauria de plantejar la possibilitat de seguir explorant les capacitats predictives de la CF.

En aquest sentit, caldria valorar la potencialitat de la CF en estadis més incipients de la fisiopatologia, tant de la MII com del SIC, a nivell del microbioma, analitzant la disbiosi desencadenant de la cascada inflamatòria d'aquests processos i estudiant si diferents patrons proinflamatoris o canvis a nivell de la microflora podrien ser detectats de forma precoç per la CF. Si això fos possible, es podria plantejar emprendre accions proactives, terapèutiques i/o profilàctiques, abans que apareguessin les lesions endoscòpiques pròpies d'ambdós escenaris.





## CONCLUSIONS



### CONCLUSIONS ESPECÍFIQUES

Aquestes conclusions específiques donarien resposta al conjunt de preguntes que ens vàrem plantejar en els objectius específics d'aquest projecte de recerca:

- En malalts amb criteris ben definits de DAR (Roma III), la realització d'una determinació de CF podria ser suficient per descartar altres processos patològics en l'esfera inflamatòria i evitar així la realització de tot un seguit d'exploracions complementàries.

- En malalts amb criteris ben definits d'AIJ (*International League of Associations for Rheumatology*), la realització d'una determinació de CF hauria de poder ser suficient per descartar la participació inflamatòria del tracte gastrointestinal i evitar així la realització de tot un seguit d'exploracions complementàries.

- En els malalts amb MII la realització de determinacions seriades de CF ens permet diagnosticar i monitoritzar el procés inflamatori intraluminal al llarg del temps. La major sensibilitat de la CF respecte a la PCR permet detectar de manera més precoç qualsevol tipus d'activitat inflamatòria incipient. A les corbes de ROC, un nivell de CF de 225 mcg/g seria un factor predictor de lesió endoscòpica.

- En els malalts amb SIC la realització de determinacions seriades de CF ens permet diagnosticar i monitoritzar l'activitat inflamatòria intraluminal que apareix al llarg del procés d'adaptació intestinal. La major sensibilitat de la CF respecte a la PCR permet detectar de manera més precoç qualsevol tipus d'activitat inflamatòria incipient. A les corbes de ROC, un nivell de CF de 207 mcg/g seria un factor predictor de lesió endoscòpica.

### CONCLUSIÓ GLOBAL

- La determinació de CF presenta una alta sensibilitat per detectar activitat inflamatòria a nivell del tracte digestiu pediàtric i, ben aplicada i interpretada, podria ser d'utilitat, tant en escenaris de discriminació, com de monitorització de possibles processos inflamatoris digestius aguts o crònics.



## BIBLIOGRAFIA



1. Bjerke K, Halstensen TS, Jahnsen F, Pulford K, Brandtzaeg P. Distribution of macrophages and granulocytes expressing L1 protein (calprotectin) in human Peyer's patches compared with normal ileal lamina propria and mesenteric lymph nodes. *Gut* 1993; 34: 1357-63.
2. Røseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjønsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces: a methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 793-8.
3. Bunn SK, Bisset WM, Main MJ, Golden BE. Fecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32: 171-7.
4. Fagerberg UL, Löf L, Merzoug RD, Hansson LO, Finkel Y. Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 468-72.
5. Bunn SK, Bisset WM, Main MJ, Gray ES, Olson S, Golden BE. Fecal calprotectin: validation as a non-invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel diseases. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 14-22.
6. Summerton CB, Longlands MG, Wiener K, Shreeve DR. Faecal calprotectin: A marker of inflammation throughout the intestinal tract. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 841-5.
7. Roseth AG, Schmidt PN, Fagerhol MK. Correlation between faecal excretion of indium-111-labeled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 50-4.
8. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, Derrieux S, Aubert-Jacquin C, Barbot L, et al. High fecal calprotectin concentrations in newborn infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89: F353-F354.
9. Papadopoulou A, Koletzko S, Heuschkel R, Dias JA, Allen KJ, Murch SH, Chong S et al. ESPGHAN Eosinophilic Esophagitis Working Group and the Gastroenterology Committee. Management guidelines of eosinophilic esophagitis in childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Jan;58(1):107-18.
10. Ruemmele FM, Veres G, Kolho KL, Griffiths A, Levine A, Escher JC, Amil Dias J, et al. ECCO/ESPGHAN. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2014 Oct 1;8(10):1179-207.
11. Berni Canani R, Rapacciuolo L, Romano MT, Tanturri de Horatio L, Terrin G, Manguso F, et al. Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice. *Dig Liver Dis* 2004;36:467-70.
12. Fagerberg UL, Loof L, Myrdal U, Hansson LO, Finkel Y. Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40:450-5.

13. Kolho KL, Raivio T, Lindahl H, Savilahti E. Fecal calprotectin remains high during glucocorticoid therapy in children with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:720–5.
14. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: Useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006; 55: 426-31.
15. Gisbert JP, González-Lama Y, Maté J. Utilidad de los marcadores biológicos en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol* 2007; 30: 117-29.
16. Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006 Jun;12(6):524-34.
17. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Forgacs I, Bjarnason I. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 450-60.
18. Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clin Chem* 2003; 49 (6 Pt 1): 861-7.
19. 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.
20. Pardi DS, Sandborn WJ. Predicting relapse in patients with inflammatory bowel disease: what is the role of biomarkers? *Gut* 2005;54:321–2.
21. Gisbert JP, McNicholl AG. Questions and answers on the role of faecal calprotectin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis*. 2009 Jan;41(1):56-66.
22. Ton H, Brandsnes, Dale S, Holtlund J, Skuibina E, Schjonsby H, et al. Improved assay for fecal calprotectin. *Clin Chim Acta* 2000;292:41–54.
23. Casellas F, Borrueal N, Antolin M, Varela E, Torrejon A, Armadans L, et al. Fecal excretion of deoxyribonucleic acid in long-term followup of patients with inactive ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:386–90.
24. Bonnin Tomás A, Vila Vidal M, Rosell Camps A. Calprotectina fecal como marcador diferencial entre patología gastrointestinal orgánica y funcional. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 689-93.
25. Olafsdottir E, Aksnes L et al. Faecal calprotectin levels in infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatr* 2002; 1:45-50.



26. Garcia Sanchez Mdel V, Gonzalez R, Iglesias Flores E, Gomez Camacho F, Casais Juanena L, Cerezo Ruiz A, et al. Diagnostic value of fecal calprotectin in predicting an abnormal colonoscopy. *Med Clin (Barc)* 2006;127:41–6.
27. Rugtveit J, Fagerhol MK. Age-Dependent Variations in Fecal Calprotectin Concentrations in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 34:323-327.
28. von Roon AC, Karamountzos L, Purkayastha S, Reese GE, Darzi AW, Teare JP, et al. Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol* 2007;102:803–13.
29. Thjodleifsson B, Sigthorsson G, Cariglia N, Reynisdottir I, Gudbjartsson DF, Kristjansson K, et al. Subclinical intestinal inflammation: an inherited abnormality inherited abnormality in Crohn's disease relatives? *Gastroenterology* 2003;124:1728–37.
30. Montalto M, Curigliano V, Santoro L, Armuzzi A, Cammarota G, Covino M, et al. Fecal calprotectin in first-degree relatives of patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2007;102:132–6.
31. AAP Subcommittee and NASPGHAN Committee on chronic abdominal pain. Chronic abdominal pain in children: a technical report of the American Academy of Pediatrics and the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenter Nutr* 2005; 40: 249-61.
32. Apley J, Naish N. Recurrent abdominal pains: a field survey of 1000 school children. *Arch Dis Child* 1958; 33: 165-70.
33. Rasquin A, di Lorenzo C, Forbes D, Guiraldes E, Hyams JS, Staiano A et al. Childhood functional gastrointestinal disorders: child/adolescent. *Gastroenterology* 2006; 130: 1527-37.
34. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, Maertens M, et al. Gut inflammation in children with late onset pauciarticular juvenile chronic arthritis and evolution to adult spondyloarthropathy--a prospective study. *J Rheumatol.* 1993; 20(9):1567–72.
35. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, et al. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. III. Relation between gut and joint. *J Rheumatol.* 1995; 22(12):2279–84.
36. Su CG, Judge TA, Lichtenstein GR. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002 Mar;31(1):307-27.
37. Jose FA, Heyman MB. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008 Feb;46(2):124-33.

38. Hammer HB, Odegard S, Fagerhol MK, Landewé R, van der Heijde D, Uhlig T, Mowinckel P, Kvien TK. Calprotectin (a major leucocyte protein) is strongly and independently correlated with joint inflammation and damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007 Aug;66(8):1093-7.
39. Stoll ML, Punaro M, Patel AS. Fecal calprotectin in children with the enthesitis-related arthritis subtype of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol.* 2011 Oct;38(10):2274-5.
40. Monteleone G, Peluso I, Fina D, Caruso R, Andrei F, Tosti C, Pallone F. Bacteria and mucosal immunity. *Dig Liver Dis.* 2006 Dec;38 Suppl 2:S256-60.
41. Fantini MC, Monteleone G, Macdonald TT. New players in the cytokine orchestra of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007 Nov;13(11):1419-23.
42. Turner D, Levine A, Escher JC, Griffiths AM, Russell RK, Dignass A, Dias JA et al. European Crohn's and Colitis Organization; European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Management of pediatric ulcerative colitis: joint ECCO and ESPGHAN evidence-based consensus guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012 Sep;55(3):340-61.
43. IBD Working Group of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis--the Porto criteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005 Jul;41(1):1-7.
44. Griffiths AM. Specificities of inflammatory bowel disease in childhood. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004 Jun;18(3):509-23.
45. D'Haens G. Mucosal healing in pediatric Crohn's disease: the goal of medical treatment. *Inflamm Bowel Dis.* 2004 Jul;10(4):479-80.
46. Pineton de Chambrun G, Peyrin-Biroulet L, Lémann M, Colombel JF. Clinical implications of mucosal healing for the management of IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010 Jan;7(1):15-29.
47. Sipponen T, Savilahti E, Kärkkäinen P, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M. Fecal calprotectin, lactoferrin, and endoscopic disease activity in monitoring anti-TNF-alpha therapy for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2008 Oct;14(10):1392-8.
48. Buchman AL. Etiology and initial management of short bowel syndrome. *Gastroenterology.* 2006 Feb;130(2 Suppl 1):S5-S15.
49. Goulet O, Ruemmele F. Causes and management of intestinal failure in children. *Gastroenterology.* 2006 Feb;130(2 Suppl 1):S16-28.

50. DiBaise JK, Young RJ, Vanderhoof JA. Intestinal rehabilitation and the short bowel syndrome: part 2. *Am J Gastroenterol*. 2004 Sep;99(9):1823-32.
51. DiBaise JK, Young RJ, Vanderhoof JA. Intestinal rehabilitation and the short bowel syndrome: part 1. *Am J Gastroenterol*. 2004 Jul;99(7):1386-95.
52. Bailly-Botuha C, Colomb V, Thioulouse E, Berthe MC, Garcette K, Dubern B, Goulet O et al. Plasma citrulline concentration reflects enterocyte mass in children with short bowel syndrome. *Pediatr Res*. 2009 May;65(5):559-63.
53. Goulet O, Sauvat F. Short bowel syndrome and intestinal transplantation in children. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006 May;9(3):304-13.
54. Jeejeebhoy KN. Management of short bowel syndrome: avoidance of total parenteral nutrition. *Gastroenterology*. 2006 Feb;130(2 Suppl 1):S60-6.
55. Kelly DA. Intestinal failure-associated liver disease: what do we know today? *Gastroenterology*. 2006 Feb;130(2 Suppl 1):S70-7.
56. DiBaise JK, Young RJ, Vanderhoof JA. Enteric microbial flora, bacterial overgrowth, and short-bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Jan;4(1):11-20.
57. O'Keefe SJ. Bacterial overgrowth and liver complications in short bowel intestinal failure patients. *Gastroenterology*. 2006 Feb;130(2 Suppl 1):S67-9.
58. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 2005 Dec 8;353(23):2462-76.
59. Seksik P, Sokol H, Lepage P, Vasquez N, Manichanh C, Mangin I, Pochart P et al. Review article: the role of bacteria in onset and perpetuation of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 Oct;24 Suppl 3:11-8.
60. Kaur N, Chen CC, Luther J, Kao JY. Intestinal dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*. 2011 Jul-Aug;2(4):211-6.
61. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, He X, Maldonado-Cocco J et al. International League of Associations for Rheumatology. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol*. 2004 Feb;31(2):390-2.
62. Yalçinkaya F, Ozen S, Ozçakar ZB, Aktay N, Cakar N, Düzova A, Kasapçopur O et al. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Apr;48(4):395-8.

63. Wallace CA, Giannini EH, Huang B, Itert L, Ruperto N; Childhood Arthritis Rheumatology Research Alliance; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group; Paediatric Rheumatology International Trials Organisation. American College of Rheumatology provisional criteria for defining clinical inactive disease in select categories of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011 Jul;63(7):929-36.
64. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewé R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M et al. The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jan;70(1):25-31.
65. Kapel N, Campeotto F, Kalach N, Baldassare M, Butel MJ, Dupont C. Faecal calprotectin in term and preterm neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010 Nov;51(5):542-7.
66. Fundarò C, Fantacci C, Ansuini V, Giorgio V, Filoni S, Barbaro F, Gasbarrini A, Rossi C. Fecal calprotectin concentration in children affected by SIBO. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011 Nov;15(11):1328-35.
67. Aydemir G, Cekmez F, Tanju IA, Canpolat FE, Genc FA, Yildirim S, Tunc T, Sarici SU. Increased fecal calprotectin in preterm infants with necrotizing enterocolitis. *Clin Lab*. 2012;58(7-8):841-4.
68. Rodriguez-Otero P, Porcher R, Peffault de Latour R, Contreras M, Bouhnik Y, Xhaard A et al. Fecal calprotectin and alpha-1 antitrypsin predict severity and response to corticosteroids in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Blood*. 2012 Jun 14;119(24):5909-17.
69. F, Ma J, Geng S, Wang J, Liu J, Zhang J, Sheng X. Fecal calprotectin concentrations in healthy children aged 1-18 months. *PLoS One*. 2015 Mar 5;10(3):e0119574.
70. Vaos G, Kostakis ID, Zavras N, Chatzemichael A. The role of calprotectin in pediatric disease. *Biomed Res Int*. 2013;2013:542363.
71. Degraeuwe PL, Beld MP, Ashorn M, Canani RB, Day AS, Diamanti A, Fagerberg UL, Henderson P, Kolho KL, Van de Vijver E, van Rheenen PF, Wilson DC, Kessels AG. Faecal calprotectin in suspected paediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015 Mar;60(3):339-46. PubMed PMID: 25373864.
72. Rumman N, Sultan M, El-Chammas K, Goh V, Salzman N, Quintero D, Werlin S. Calprotectin in cystic fibrosis. *BMC Pediatr*. 2014 May 29;14:133.
73. Sipponen T, Kolho KL. Faecal calprotectin in children with clinically quiescent inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2010 Aug;45(7-8):872-7. PubMed PMID: 20377469.

74. Balamtekin N, Baysoy G, Uslu N, Orhan D, Akçören Z, Özen H, et al. Faecal calprotectin concentration is increased in children with celiac disease: relation with histopathological findings. *Turk J Gastroenterol*. 2012;23(5):503-8.
75. Drossman DA, Dumitrascu DL. Rome III: New standard for functional gastrointestinal disorders. *J Gastrointest Liver Dis*. 2006 Sep;15(3):237-41.
76. Rome Foundation. Guidelines--Rome III Diagnostic Criteria for Functional Gastrointestinal Disorders. *J Gastrointest Liver Dis*. 2006 Sep;15(3):307-12.
77. Pavlidis P, Chedgy FJ, Tibble JA. Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms in primary care. *Scand J Gastroenterol*. 2013 Sep;48(9):1048-54.
78. Gerss J, Roth J, Holzinger D, Ruperto N, Wittkowski H, Frosch M, et al. Paediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO). Phagocyte-specific S100 proteins and high-sensitivity C reactive protein as biomarkers for a risk-adapted treatment to maintain remission in juvenile idiopathic arthritis: a comparative study. *Ann Rheum Dis*. 2012 Dec;71(12):1991-7.
79. Turina MC, Yeremenko N, Paramarta JE, De Rycke L, Baeten D. Calprotectin (S100A8/9) as serum biomarker for clinical response in proof-of-concept trials in axial and peripheral spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2014 Aug 19;16(4):413.
80. Mariani A, Marsili M, Nozzi M, Faricelli R, Chiarelli F, Breda L. Serum calprotectin: review of its usefulness and validity in paediatric rheumatic diseases. *Clin Exp Rheumatol*. 2015 Jan-Feb;33(1):109-14.
81. Andréasson K, Saxne T, Scheja A, Bartosik I, Mandl T, Hesselstrand R. Faecal levels of calprotectin in systemic sclerosis are stable over time and are higher compared to primary Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2014 Feb 6;16(1):R46.
82. Kanik A, Baran M, Ince FD, Cebeci O, Bozkurt M, Cavusoglu D, Eliacik K, Yavascan O, Helvacı M, Aksu N. Faecal calprotectin levels in children with Henoch-Schönlein purpura: is this a new marker for gastrointestinal involvement? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2015 Mar;27(3):254-8.
83. Sipponen T, Kolho KL. Faecal calprotectin in children with clinically quiescent inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2010 Aug;45(7-8):872-7.
84. De Vos M, Dewit O, D'Haens G, Baert F, Fontaine F, Vermeire S, Franchimont D et al. Fast and sharp decrease in calprotectin predicts remission by infliximab in anti-TNF naïve patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2012 Jun;6(5):557-62.

85. Kolho KL, Sipponen T. The long-term outcome of anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  therapy related to fecal calprotectin values during induction therapy in pediatric inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2014 Apr;49(4):434-41.
86. D'Haens G, Ferrante M, Vermeire S, Baert F, Noman M, Moortgat L, Geens P, Iwens D, Aerden I, Van Assche G, Van Olmen G, Rutgeerts P. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012 Dec;18(12):2218-24.
87. Molander P, Sipponen T, Kempainen H, Jussila A, Blomster T, Koskela R, Nissinen M, Rautiainen H, Kuisma J, Kolho KL, Färkkilä M. Achievement of deep remission during scheduled maintenance therapy with TNF $\alpha$ -blocking agents in IBD. *J Crohns Colitis*. 2013 Oct;7(9):730-5.
88. Lobatón T, Rodríguez-Moranta F, Lopez A, Sánchez E, Rodríguez-Alonso L, Guardiola J. A new rapid quantitative test for fecal calprotectin predicts endoscopic activity in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Apr;19(5):1034-42.
89. Lobatón T, López-García A, Rodríguez-Moranta F, Ruiz A, Rodríguez L, Guardiola J. A new rapid test for fecal calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2013 Dec;7(12):e641-51.
90. Mindemark M, Larsson A. Ruling out IBD: estimation of the possible economic effects of pre-endoscopic screening with F-calprotectin. *Clin Biochem*. 2012 May;45(7-8):552-5.
91. Heida A, Holtman GA, Lisman-van Leeuwen Y, Berger MY, van Rheenen PF. Avoid Endoscopy in Children With Suspected Inflammatory Bowel Disease Who Have Normal Calprotectin Levels. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016 Jan;62(1):47-9.
92. Papa E, Docktor M, Smillie C, Weber S, Preheim SP, Gevers D, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Ingram J, Schauer DB, Ward DV, Korzenik JR, Xavier RJ, Bousvaros A, Alm EJ. Non-invasive mapping of the gastrointestinal microbiota identifies children with inflammatory bowel disease. *PLoS One*. 2012;7(6):e39242.
93. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, Schwager E et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe*. 2014 Mar 12;15(3):382-92.
94. Lewis JD, Chen EZ, Baldassano RN, Otley AR, Griffiths AM, Lee D et al. Inflammation, Antibiotics, and Diet as Environmental Stressors of the Gut Microbiome in Pediatric Crohn's Disease. *Cell Host Microbe*. 2015 Oct 14;18(4):489-500.
95. O'Keefe SJ, Buchman AL, Fishbein TM, Jeejeebhoy KN, Jeppesen PB, Shaffer J. Short bowel syndrome and intestinal failure: consensus definitions and overview. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Jan;4(1):6-10.

96. D'Antiga L, Goulet O. Intestinal failure in children: the European view. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013 Feb;56(2):118-26.
97. Khan FA, Squires RH, Litman HJ, Balint J, Carter BA, Fisher JG, Horslen SP et al. Pediatric Intestinal Failure Consortium. Predictors of Enteral Autonomy in Children with Intestinal Failure: A Multicenter Cohort Study. *J Pediatr.* 2015 Jul;167(1):29-34.
98. Peterson J, Kerner JA Jr. New advances in the management of children with intestinal failure. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2012 Jan;36(1 Suppl):36S-42S.
99. Fundarò C, Fantacci C, Ansuini V, Giorgio V, Filoni S, Barbaro F, Gasbarrini A, Rossi C. Fecal calprotectin concentration in children affected by SIBO. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011 Nov;15(11):1328-35.
100. Davidovics ZH, Carter BA, Luna RA, Hollister EB, Shulman RJ, Versalovic J. The Fecal Microbiome in Pediatric Patients With Short Bowel Syndrome. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2015 Jun 9. pii: 0148607115591216. [Epub ahead of print]
101. Engstrand Lilja H, Wefer H, Nyström N, Finkel Y, Engstrand L. Intestinal dysbiosis in children with short bowel syndrome is associated with impaired outcome. *Microbiome.* 2015 May 4;3:18.
102. Kolho KL, Korpela K, Jaakkola T, Pichai MV, Zoetendal EG, Salonen A, de Vos WM. Fecal Microbiota in Pediatric Inflammatory Bowel Disease and Its Relation to Inflammation. *Am J Gastroenterol.* 2015 Jun;110(6):921-30.
- 103 Fallahi G, Motamed F, Yousefi A, Shafieyoun A, Najafi M, Khodadad A, Farhmand F, Ahmadvand A, Rezaei N. The effect of probiotics on fecal calprotectin in patients with cystic fibrosis. *Turk J Pediatr.* 2013 Sep-Oct;55(5):475-8.
104. Bruzzese E, Callegari ML, Raia V, Viscovo S, Scotto R, Ferrari S, Morelli L, Buccigrossi V, Lo Vecchio A, Ruberto E, Guarino A. Disrupted intestinal microbiota and intestinal inflammation in children with cystic fibrosis and its restoration with *Lactobacillus GG*: a randomised clinical trial. *PLoS One.* 2014 Feb 19;9(2):e87796.





# PUBLICACIONS I COMUNICACIONS



PUBLICACIONES I COMUNICACIONES A CONGRESSOS RELACIONATS AMB EL PROJECTE DE LA TESI

COMUNICACIONES

· NIVELES DE CALPROTECTINA FECAL Y SÍNDROME DE INTESTINO CORTO. ¿SON ÚTILES PARA EL SEGUIMIENTO DEL “SUFRIMIENTO” DIGESTIVO?

O. Segarra, S. Redecillas, M. Álvarez, J. Quintero, J. Juampérez, A. Muntaner, J. Bueno.

XXII Congreso de la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Murcia, 21 al 23 de maig de 2015.

Publicació: Revista Española de Pediatría V71 N3. Mayo-Junio 2015