

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Dissertação - Artigo de Revisão Bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina

BIOMARCADORES NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL

Marcos Miranda da Silva

Orientador: Doutor Fernando Manuel de Castro Poças



BIOMARCADORES NA DOENÇA INTESTINAL INFLAMATÓRIA

Dissertação de candidatura ao grau de mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

Autor: Marcos Miranda da Silva

Categoria: 6º Ano do Mestrado Integrado em Medicina

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto

Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313, Porto

E-mail: marcosmrdsilva@gmail.com

Orientador: Doutor Fernando Manuel de Castro Poças

Categoria: Professor Auxiliar Convidado no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Assistente Hospitalar Graduado de Gastrenterologia, Centro Hospitalar do Porto.

Agradeço ao Doutor Castro Poças pela disponibilidade e orientação.

Índice

Lista de Abreviaturas	4
Resumo.....	6
Abstract.....	7
1. Introdução	8
2. Marcadores sorológicos de resposta aguda à inflamação	10
2.1 PCR no diagnóstico de DII e diferenciação DC <i>versus</i> CU	10
2.2 PCR na avaliação de doentes com DII	11
3. Marcadores sorológicos - Anticorpos	13
3.1 Anticorpos contra agentes microbianos.....	13
3.2 Auto-anticorpos	14
3.3 Utilidade no diagnóstico das DII	15
3.4 Distinção entre DC e CU.....	16
3.5 Utilidade na estratificação fenotípica, prognóstico e resposta à terapia	18
4. Outros marcadores sorológicos	20
5. Marcadores Fecais	21
5.1 Calprotectina.....	21
5.2 Lactoferrina	22
5.3 S100A12.....	22
5.4 M2-PK.....	23
5.5 Utilidade na diferenciação entre DII e doenças gastrointestinais não-DII.....	23
5.6 Utilidade na avaliação da atividade da doença.....	25
5.7 Utilidade na avaliação à resposta terapêutica e da cicatrização da mucosa	26
5.8 Utilidade na previsão de recorrência da DII	28
6. Biomarcadores do futuro	29
6.1 Estudos metabólicos	29
6.2 Perfis de expressão genética	30
6.3 Análises proteómicas	30
7. Conclusão	32
8. Bibliografia	34
9. Anexos.....	49

Lista de Abreviaturas

5-ASA – 5-Aminossalicilatos

ACCA – Anti-Chitobioside Carbohydrate Antibody

AINE – Anti-Inflamatório Não-Esteróide

ALCA – Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antibody

AMCA – Anti-Mannobioside Carbohydrate Antibody

ANCA – Anticorpo anti-citoplasma de neutrófilos

Anti-A4-Fla2 – Anticorpo anti-flagelina bacteriana A4-Fla2

Anti-C – Anticorpo anti-quitina

Anti-CBir1 – Anticorpo anti-flagelina bacteriana CBir1

Anti-Fla-X – Anticorpo anti-flagelina bacteriana X

Anti-I2 – Anticorpo anti-sequência I2 associada à *Pseudomonas fluorescens*

Anti-L – Anticorpo anti-laminarina

Anti-OmpC – Anticorpo anti-porina C da membrana da *Escherichia coli*

ARN – Ácido Ribonucleico

ASCA – Anticorpo anti-*Saccharomyces cerevisiae*

CD14 – Cluster de Diferenciação 14

CI – Colite Indeterminada

CU – Colite Ulcerosa

DII – Doenças Inflamatórias Intestinais

DC – Doença de Crohn

ECP – Proteína Catiónica Eosinofílica

ELISA – Ensaio Imunoenzimático

EN-RAGE – Recetor Extracelular para Produtos Finais de Glicosilação Avançada

EPX – Proteína X Eosinofílica

GAB – Anticorpo anti-células caliciformes

GP2 – Glicoproteína 2

HMG-1 – Proteína de alta mobilidade do grupo 1

HMG-2 – Proteína de alta mobilidade do grupo 2

IBP – Inibidor da Bomba de Protões

ICAM – Molécula de adesão intercelular

IDO1 – Enzima Indolamina 2,3 Dioxigenase-1

IL - Interleucina

LBP – Proteína ligante de lipopolissacarídeos

M2-PK – Piruvato-quinase dimérica

PAB – Anticorpo anti-pâncreas exócrino

pANCA – Anticorpo anti-citoplasma de neutrófilos com padrão perinuclear

PCR – Proteína C-reativa

PCR-as – Proteína C-reativa de alta sensibilidade

RAGE – Recetor para produtos finais de glicosilação avançada

TNF – Fator de Necrose Tumoral

uPa – Ativador do plasminogénio tipo uroquinase

VCAM – Molécula de adesão celular vascular

VSE – Velocidade de Sedimentação Eritrocitária

Resumo

A Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU) são as 2 principais entidades clínicas englobadas nas Doenças Inflamatórias Intestinais crônicas idiopáticas. A Doença Inflamatória Intestinal (DII) não classificável é o diagnóstico de exclusão que cobre a zona cinzenta deixada pela incerteza diagnóstica entre a DC e a CU. O diagnóstico deste grupo de patologias baseia-se atualmente na análise de dados clínicos, radiológicos, laboratoriais, endoscópicos e histológicos mas esta abordagem apresenta algumas limitações, especialmente em casos com presença simultânea de características referentes a DC e CU. Marcadores sorológicos e fecais, já presentes na prática clínica, conseguem fornecer ferramentas quantitativas e reprodutíveis que complementam a avaliação clínica por forma a auxiliarem no diagnóstico e gestão das DII. A Proteína C-reativa tem demonstrado valor na avaliação dos processos inflamatórios, na monitorização da atividade da doença e na previsão da progressão da doença. Os marcadores fecais têm sido estudados pela sua capacidade de identificação de pacientes com DII, monitorização da atividade da doença e na previsão de recorrência. A vigente evidência sugere que painéis sorológicos de múltiplos anticorpos poderão ser úteis no diagnóstico diferencial dos subtipos de DII e valiosos na estratificação do risco de complicações em função do fenótipo da doença. Avanços na tecnologia de estudos genómicos, metabolómicos e proteómicos têm facilitado o desenvolvimento de novos biomarcadores para as DII. A descoberta de novos biomarcadores e o seu uso em combinação com os atualmente disponíveis na prática clínica poderá melhorar significativamente a avaliação dos pacientes com DII. Este artigo revê a utilidade e as limitações do biomarcadores atualmente disponíveis e destaca os recentes avanços na descoberta de novos biomarcadores.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal, Doença de Crohn, Colite Ulcerosa, biomarcador, anticorpos, marcadores fecais, Calprotectina, marcadores sorológicos, testes genéticos.

Abstract

Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) represent the two main forms of the idiopathic chronic inflammatory bowel diseases (IBD). IBD-unclassified (IBD-U) is a diagnosis that covers the "grey" zone of diagnostic uncertainty between UC and CD. Current diagnosis of IBD relies on clinical, endoscopic, radiological, histological and biochemical features, but this approach has shortcomings, especially in cases of overlapping symptoms of CD and UC. Currently available blood and stool based biomarkers can provide reproducible, quantitative tools and complement clinical assessment in order to aid clinicians in IBD diagnosis and management. C-reactive protein has been used to assess inflammatory processes and predict the course of IBD progression. Fecal markers have been studied for their ability to identify patients with IBD, assess disease activity, and predict relapse. Current evidence suggests that serologic panels of multiple antibodies are useful in differential diagnosis of IBD subtypes and can be of value in stratifying patients according to disease phenotype and risk of complications. Advances in genomic, proteomic and metabolomic array based technologies are facilitating the development of new biomarkers for IBD. The discovery of novel biomarkers and its use in combination with the currently used in clinical care has the potential to significantly improve patient care. This article reviews the uses and limitations of currently available biomarkers and highlights recent advances in IBD biomarker discovery.

Keywords: Inflammatory bowel disease, Crohn's disease, Ulcerative colitis, Biomarker, antibodies, fecal markers, Calprotectin, serological markers, genetic testing

1. Introdução

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) são doenças crônicas que envolvem predominantemente o aparelho digestivo e cuja etiopatogenia continua incompletamente elucidada.^{1,2} As DII incluem a Colite Ulcerosa (CU) e a Doença de Crohn (DC), duas entidades clínicas cujo diagnóstico se baseia na análise de dados clínicos, radiológicos, laboratoriais, endoscópicos e histopatológicos.³

Sendo a experiência clínica fulcral no diagnóstico, este é, na maioria dos casos, apenas confirmado à luz dos achados endoscópicos e histopatológicos.⁴

Apesar destas ferramentas diagnósticas convencionais, em cerca de 5% a 15% dos casos não é possível, inicialmente, esta diferenciação, estabelecendo-se o diagnóstico de Colite Indeterminada (CI) ou DII não classificável.^{3,4}

Ainda que, à posteriori, 50% a 80% destes casos sejam incluídos na DC ou CU, verifica-se que há um conjunto de pacientes que não é abrangido pelo alcance destes métodos convencionais e que colocam várias pontos de interrogação aos clínicos.⁵⁻⁷

Mais a mais, a capacidade de previsão do comportamento e curso da doença bem como de identificação de pacientes em risco de rápida progressão para complicações associadas com necessidade de terapias mais agressivas precocemente assentam, atualmente, apenas na identificação de características clínicas de prognóstico adverso.^{8,9}

Além disso, o recurso frequente a estes métodos, nomeadamente os de caráter mais invasivo, quer no estabelecimento do diagnóstico quer pela necessidade de monitorização frequente da atividade da doença e avaliação de possíveis complicações, comporta elevados recursos económicos, é mal tolerado por parte dos pacientes e, por vezes, até impossível de ser realizado em certos grupos, especialmente o pediátrico.¹⁰

Um outro problema prende-se com o tempo necessário ao estabelecimento do diagnóstico. Ainda que, em geral, este ocorra ao fim de um mês, uma porção considerável dos pacientes experiencia períodos bem mais alargados (>12 meses), especialmente pacientes com DC.¹¹ Nas crianças, este aspeto ganha maior relevância, uma vez que as DII podem afetar o crescimento e a maturação sexual.¹²

A tentativa de ultrapassar estas limitações mas também a ideia da possível existência de testes simples, rápidos, não-invasivos e de baixo custo monetário com semelhante ou melhor capacidade diagnóstica, de previsão do curso da doença e sua monitorização, e capaz de permitir a adoção de estratégias terapêuticas

individualizadas dirigiu o foco de atenção da comunidade científica para os biomarcadores.

Por biomarcador entende-se qualquer substância passível de ser medida biologicamente e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, patogénicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica.¹³

Na abordagem clínica de pacientes com DII, os biomarcadores usados atualmente, em conjunto com os métodos convencionais, incluem vários marcadores sorológicos e fecais.¹⁴

A sua comprovada utilidade na DII inclui o suporte no estabelecimento do diagnóstico de DII, diferenciação entre DC e CU, determinação da atividade da doença, estratificação do risco para a gravidade do curso da doença e na previsão da resposta à terapêutica farmacológica.

Contudo, o biomarcador ideal para a DII não existe e é provável que o recurso ao estudo de painéis de vários biomarcadores em simultâneo, ao invés do estudo isolado, seja mais vantajoso e preciso, algo que se tornou num recente foco de investigação.¹⁵

De facto, dado todo o potencial benéfico associado ao uso destes instrumentos, tem-se verificado uma intensa e profícua investigação neste tópico, não apenas na verificação da aplicabilidade dos biomarcadores existentes nos vários domínios da prática clínica, mas também no desenvolvimento de novos biomarcadores através dos avanços tecnológicos em estudos imunológicos, metabólicos, proteómicos e de expressão genética.

Nesse sentido, o intento desta dissertação funda-se na importância e necessidade de uma revisão da vasta literatura disponível, acumulada principalmente ao longo desta última década, por forma a atualizar o papel desempenhado pelos biomarcadores nas DII.

2. Marcadores sorológicos de resposta aguda à inflamação

A rápida reação do organismo a processos inflamatórios pode ser avaliada através da análise a alterações sorológicas.¹⁶ A proteína C-reativa (PCR) e Velocidade de Sedimentação Eritrocitária (VSE) são as mais comumente avaliadas no espectro das DII.¹⁷

A PCR é uma proteína produzida pelo fígado em resposta a uma variedade de estados inflamatórios crónicos e agudos. Citocinas associadas a DII ativa (IL-6, TNF α e IL-1 β) estimulam a sua produção pelos hepatócitos acima dos valores normais, tipicamente inferiores a 1mg/L.¹⁸ Durante a fase ativa da DII, estes níveis podem variar entre os 5-200 mg/L dependendo da gravidade da doença e da capacidade individual de produção da proteína. Contudo, não é específica da DII, uma vez que estes níveis podem ser verificados em várias infeções víricas e bacterianas, doenças auto-imunes, doenças oncológicas e outras condições que resultem em necrose tecidual.¹⁹

Uma vez que é rapidamente e fielmente medida em qualquer laboratório e apresenta uma semivida de 19 horas, determinada mais pela síntese do que pela sua degradação, constitui um bom marcador.²⁰

A VSE fornece também uma rápida verificação da resposta inflamatória aguda. Vários fatores influenciam este marcador, incluindo a idade, o género, a presença de anemia, discrasias sanguíneas e a gravidez.¹⁷

No entanto, comparada com a PCR, os valores da VS atingem mais lentamente o seu pico máximo em resposta à inflamação e apresentam um menor grau de alteração tornando-a menos indicada para o estudo das alterações da atividade da DII.¹⁷

Dito isto, este trabalho focar-se-á mais em pormenor na utilidade clínica da PCR, uma vez que é o marcador de resposta inflamatória aguda mais estudado na DII.

2.1 PCR no diagnóstico de DII e diferenciação DC versus CU

A PCR é o biomarcador melhor estabelecido na DII.²¹ Níveis elevados desta proteína em pacientes com sintomas gastrointestinais crónicos devem conduzir ao início de investigações que permitam a definitiva exclusão do diagnóstico de DII.²²

Estudos referentes aos anos 90 identificaram valores aumentados de PCR em quase 100% dos pacientes com DC e aproximadamente 50% dos pacientes com CU.²²⁻²⁴ Contudo, outros estudos reportaram aumento dos valores de PCR (> 5 mg/L) em pacientes com DC em remissão clínica e até valores normais em pacientes com

doença clinicamente ativa,²⁵⁻²⁷ concluindo que as sensibilidades e especificidades verificadas nos primeiros estudos poderiam ter sido sobrestimadas.²⁸ Deve ser referido que se tem verificado um largo espectro de valores de PCR usados como cut-off [5, 8 (Sonic), 10 (Precise II, Charm), ou 20 mg/L] e que, até hoje, nenhum foi comprovado como o indicado.²⁹⁻³¹

Ainda assim, a maioria dos estudos respeitantes a este assunto indicam que as elevações de PCR parecem ser menos prevalentes e de menor magnitude em pacientes com CU ativa do que em DC ativa.²³

Possíveis explicações para esta diferença incluem a maior profundidade de inflamação (transmural) e maiores níveis de IL-6 verificados na DC em comparação com a CU bem como a existência de polimorfismos da região promotora da expressão genética da PCR.^{16,32,33} Valores elevados da VS também parecem ser menos fidedignos na CU, com, pelo menos, um estudo indicando que não prediz com precisão a recorrência de CU.³⁴

2.2 PCR na avaliação de doentes com DII

Mais do que diferenciar entre DII e outras doenças gastrointestinais não-inflamatórias ou entre DC e CU, a grande virtude da PCR prender-se-á com a sua boa correlação com a atividade da doença estabelecida.

Um estudo retrospectivo da *Mayo Clinic* revelou a associação entre PCR elevada e moderada/elevada gravidade clínica da DC, doença ativa em colonoscopia e inflamação grave histologicamente.³⁵

Num estudo de follow-up subsequente, a PCR correlacionou-se com achados radiológicos de inflamação peri-entérica mas não com inflamação do intestino delgado,³⁶ contrariando os dados até aí vigentes de falta de associação entre valores de PCR e localização da doença.

Em pacientes com sintomas de DC ativa e elevados valores de PCR, 86% exibiam evidências de inflamação à colonoscopia, sugerindo que, em associação com a avaliação clínica, poderá ser suficiente para prever a inflamação ativa da mucosa intestinal.³⁵

No entanto, em pacientes com DC que exibam valores persistentemente normais de PCR, esta poderá não ser útil na avaliação da atividade da doença. Neste caso, outros marcadores e estudos poderão ser úteis, nomeadamente os biomarcadores fecais.³⁵

O mesmo estudo indicou que 51% dos pacientes com CU ativa à colonoscopia apresentavam valores elevados de PCR.³⁵ Langhorst *et al*, recentemente, propuseram

que um índice de atividade baseado na combinação de biomarcadores fecais, PCR e um índice de atividade clínica específico da CU, poderia aumentar a capacidade diagnóstica em relação à inflamação verificada em colonoscopia para a referida doença.³⁷

Quando comparada com os biomarcadores fecais, contudo, a PCR apresenta menor sensibilidade, especificidade e menor correlação com inflamação da mucosa à colonoscopia.^{35,38-41}

Em pacientes com DC, ainda que não muito sensível, vários estudos revelaram a associação entre valores elevados de PCR com recorrência da doença.^{25-27,42-46}

Um estudo do grupo IBSEN revelou que a avaliação dos valores da PCR aquando do diagnóstico ou durante o follow-up era preditiva do resultado a longo-prazo medido pela necessidade de colectomia ou cirurgia ressectiva.²⁵

Recentemente, Kiss *et al*, demonstraram que elevados valores de PCR de alta sensibilidade (PCR-as), avaliados aquando do diagnóstico de DC, correlacionaram-se com a previsão de recorrência clínica da doença durante o follow-up prospetivo de pacientes em remissão clínica, doença confinada ao colón ou ileocólica, fenótipo agressivo da doença e necessidade de terapia biológica durante o curso da doença.²⁷ Florin *et al*, revelou uma maior proporção de DC ileal no subgrupo de pacientes com valores iniciais de PCR inferiores a 10 mg/L.⁴⁷

Kiss *et al*, num diferente estudo, reportaram também que, para além da resposta clínica precoce, a normalização dos valores de PCR será o melhor preditor da eficácia clínica a médio-prazo e da cicatrização da mucosa durante a terapia com adalimumab,⁴⁸ corroborando a conclusão proposta anteriormente pelo grupo Leuven em relação à terapia com infliximab em pacientes com DC.⁴⁹

Relativamente à CU, existe menos informação relativamente à associação entre PCR e recorrência da doença. Bitton *et al* examinaram 74 pacientes em remissão clínica e endoscópica sem ter conseguido estabelecer relação entre elevados valores de PCR e ocorrência de recorrência.⁵⁰

Em contraste com a PCR, avaliações da VS resultaram em resultados díspares no que à capacidade de prever recorrências diz respeito.^{43,45}

3. Marcadores sorológicos - Anticorpos

A procura por anticorpos nas DII data de 1959 com o achado de anticorpos contra células epiteliais do cólon em pacientes com CU.⁵¹ Desde então o crescente acumular de evidências sugerem que as DII evoluíram como resultado de uma resposta imune aberrante e crônica do organismo contra a microflora luminal comensal num hospedeiro geneticamente predisposto.⁵²⁻⁵⁶ Marcadores imunológicos têm sido usados, quer individualmente quer englobados em painéis de anticorpos.¹⁴

Por um lado, a presença de anticorpos contra componentes de agentes microbianos (ASCA, ACCA, ALCA, AMCA, Anti-L, Anti-C, Omp-C, CBir1, A4-Fla2, Fla-X e anti-I2) sugere a flora comensal ou um antígeno dietético como fator desencadeante.⁴ Por outro, a corrente autoimune baseia-se na presença de manifestações extra-intestinais autoimunes, na verificação dos resultados da terapia imunossupressora e na variedade de auto-anticorpos encontrados, incluindo anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA), anti-pâncreas exócrino (PAB) e anti-células calciformes (GAB).^{17,57}

3.1 Anticorpos contra agentes microbianos

Anticorpos anti-glicanos são dirigidos contra polissacarídeos da parede celular de agentes microbianos como fungos, leveduras e bactérias.⁵⁸ Anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) são dirigidos contra um polímero de manose da levedura *Saccharomyces* homólogo de bactérias intestinais e são bem mais prevalentes na DC.⁵⁹

Numa tentativa de identificar novos anticorpos associados com a DII, Dotan *et al*, encontraram anticorpos dirigidos a polissacarídeos, ou glicanos, a partir do soro de pacientes diagnosticados com DC ou CU.⁵⁸ Foram então identificados o ALCA (anti-laminaribioside carbohydrate IgG antibody), o ACCA (anti-chitobioside carbohydrate IgA antibody) e o AMCA (anti-mannobioside carbohydrate IgG antibody).³ Recentemente, 2 novos anticorpos anti-glicanos foram descobertos: o anti-L (anti-laminarin) e o anti-C (anti-chitin).⁶⁰ Todos eles parecem ser significativamente mais prevalentes na DC do que na CU (Tabela I).

O anticorpo anti-OmpC é dirigido contra uma proteína presente na membrana externa de bactéria, a porina C, primeiramente isolada a partir da *Escherichia Coli*. Encontrada nas lesões ileais da DC estas bactérias revelaram necessitar desta proteína para florescer no trato gastrointestinal.⁶¹

I2 é um fragmento ADN bacteriano, derivado da *Pseudomonas fluorescens*, homólogo de uma família de factores de transcrição bacterianos.^{62,63}

De entre os antigénios bacterianos, as flagelinas são interessantes candidatas a desempenhar um papel na resposta imune da mucosa pois são proteínas integrantes das bactérias flageladas comensais e bastante antigénicas. A CBir1 é uma delas e foi identificada por ter induzido colite em ratos imunoincompetentes.⁶⁴

Estes 3 anticorpos apresentam uma prevalência de aproximadamente 50% na DC, sendo bem menos prevalentes na CU, (Tabela I).

Recentemente, Duck *et al*, isolaram e caracterizaram várias bactérias flageladas a partir do cluster XIVa de *Clostridium*, das quais a flagelina X e a A4-Fla2 apresentaram elevada seroreactividade em pacientes com DC.⁶⁵

3.2 Auto-anticorpos

Os ANCA (*Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*) são auto-anticorpos dirigidos contra constituintes dos grânulos de neutrófilos.³ São encontrados numa variedade de patologias imunes, como a Granulomatose de Wegener ou a Artrite Reumatóide, bem como na DII. Existem 3 tipos de ANCAs, citoplasmáticos (cANCA), perinucleares (pANCA) e pANCA atípico, baseados no padrão de coloração dos neutrófilos à imunofluorescência e, de entre eles, o último parece estar mais associado à doença inflamatória crónica intestinal sendo bastante mais prevalente na CU.⁴

Vários antigénios do pANCA atípico têm sido intensivamente estudados em pacientes com DII.⁶⁶⁻⁶⁹ Em geral, a maioria dos estudos apoia a conclusão de os antigénios específicos do pANCA associados à DII não estão localizados nos grânulos citoplasmáticos dos neutrófilos mas antes no núcleo destes.⁶⁶⁻⁶⁹ Vidrich *et al* demonstraram a perda do padrão de coloração do pANCA associado à CU após digestão de substratos de células com ADNase, sugerindo que o epítipo reconhecido por este grupo de anticorpos será um complexo proteína-ADN ou que a presença de ADN intacto é necessário para a manutenção da integridade do epítipo.⁶⁷ É provável que o antigénio-alvo do pANCA atípico associado à CU seja um complexo composto por proteínas nucleares, histona H1, HMG-1 e HMG-2,⁶⁸ Recentemente, a lactoferrina foi sugerida como um antigénio-alvo do pANCA na CU.⁷⁰

Os anticorpos anti-pâncreas exócrino (PAB) são dirigidos contra o tecido pancreático exócrino.⁴ A glicoproteína de membrana major dos grânulos de zimogénio, a GP2, foi identificada como o autoantigénio principal destes anticorpos em pacientes com DC.⁷¹ Roggenbuck *et al* demonstraram que a expressão desta glicoproteína a

partir de biópsias de cólon de pacientes com DC era significativamente maior do que em pacientes com CU.⁷¹

As células caliciformes, como células epiteliais intestinais especializadas, regulam a produção de muco e fatores que contribuem para a reparação epitelial e regulação inflamatória.⁵² Auto-anticorpos dirigidos a estas células foram detetados primariamente em pacientes adultos com CU com uma prevalência a variar entre os 15% e 47%, enquanto que em pacientes com DC esta variava entre 1,4% e 33%.^{57, 72,73}

Anticorpos adicionais como anti-espermatozóides,⁷⁴ anti-catepsina G,⁷⁵ anti-células endoteliais,⁷⁶ anti-células epiteliais do cólon,⁷⁷ têm sido reportados numa minoria de pacientes com DII. Estes anticorpos não apresentam, actualmente, um papel claro no diagnóstico, diferenciação ou estratificação da doença.

As prevalências individuais dos anticorpos referidos neste trabalho na DC, CU, em outras doenças gastrointestinais e em indivíduos saudáveis são demonstradas na tabela I.

3.3 Utilidade no diagnóstico das DII

A avaliação dos anticorpos associados às DII actualmente conhecidos revela que estes ainda não ultrapassam a capacidade diagnóstica dos métodos convencionais.⁴

ASCA apresenta a melhor combinação sensibilidade/especificidade (41%-45% / 91%-98%) na distinção entre DII e outras patologias gastrointestinais não-DII.^{78,79} pANCA, por seu lado, apresenta uma sensibilidade entre 17,2%-71% e especificidade de 90%-98% na mesma distinção.^{57,78}

Uma meta-análise de 60 estudos (3841 pacientes com CU e 4019 pacientes com DC) verificou a utilidade dos dois anticorpos nas DII. A presença de qualquer um deles foi capaz de diferenciar DII de não-DII com uma sensibilidade de apenas 63% e especificidade de 93%, com pequena heterogeneidade entre os estudos.⁸⁰

A opinião corrente indica que painéis de anticorpos, com a adição, por exemplo, de anticorpos anti-glicanos aos já estabelecidos pANCA e ASCA, podem ser bem mais valiosos no diagnóstico de DII, ao invés da utilização individualizada.^{58,78,81}

A adição de anti-OmpC, anti-CBir1 e anti-I2 a ASCA e pANCA constitui um dos primeiros painéis serológicos disponíveis no mercado (Serology 7, Prometheus, San Diego, CA).⁸² Contudo, num estudo com 300 crianças, referidas para avaliação de DII, este painel demonstrou apenas sensibilidade de 67% e especificidade de 76% no seu diagnóstico.⁸³

Um outro aspeto a salientar é o de que ainda que a maioria dos estudos tenha confirmado a alta especificidade dos anticorpos associados à DII, 75%-90% (tabela I), precaução deve ser levada à cabo na consideração dos grupos de controlo das patologias gastrointestinais não-DII.³ Nomeadamente o ASCA, considerado como um anticorpo altamente específico para a DC, foi observado, num estudo, em 30% a 59% de pacientes com doença celíaca.⁸³

Assim sendo, atualmente, nenhum anticorpo, individualmente ou em combinação com outros, apresenta sensibilidade ou especificidade suficientes para substituir os métodos convencionais (colonoscopia, histologia e imagiologia) no diagnóstico de DII.³ Podem, no entanto, ser úteis nos dilemas diagnósticos.⁴

3.4 Distinção entre DC e CU

A maior parte da informação respeitante à utilidade dos anticorpos na distinção entre DC e CU refere-se ao uso de ASCA e pANCA.^{60,73,78-81,84-90}

Uma revisão de Prideaux *et al*, refere que o ASCA apresenta a melhor combinação sensibilidade/especificidade para a DC e pANCA para a CU.³ A meta-análise de Kaul *et al* concluiu que, de entre todos os anticorpos disponíveis, ASCA apresenta a melhor sensibilidade, 56%, enquanto anti-L apresenta a melhor especificidade na distinção DC vs CU.⁸⁶

Contudo, tem sido demonstrado que as combinações ou perfis imunológicos ASCA+/pANCA- e pANCA+/ASCA- aumentam a especificidade e o valor preditivo positivo para esta diferenciação, em comparação com a análise individualizada, (Tabela II).

Alguns estudos reportaram pouca ou nenhuma melhoria nesta diferenciação ao adicionar anticorpos anti-glicanos^{78,91}, enquanto outros^{58,60,81,84,85} indicaram significativa melhoria na capacidade discriminatória de DC e CU, principalmente devido ao aumento da sensibilidade do teste.

Dotan *et al* declararam que a adição de, pelo menos, 2 dos 3 anticorpos ALCA, ACCA ou AMCA ao anticorpo ASCA aumentaria a sensibilidade na diferenciação de DC e CU (85%-99%) ainda que com uma significativa queda na especificidade (66% para 27%).⁸⁴ Seow *et al* verificaram que a discriminação mais eficiente entre DC e CU foi atingida pela adição de anti-L e anti-C à combinação ASCA/pANCA, enquanto que a adição de apenas anti-L à mesma combinação melhorou a diferenciação entre CD cólica e CU.⁶⁰

Em contraste, a adição de anti-OmpC e anti-CBir1 parece não fornecer nenhuma melhoria nesta diferenciação.^{78,85,92}

Anti-A4-Fla2 e anti-Fla-X podem ser úteis nesta temática, uma vez que a sua prevalência é quase exclusiva dos DC (50-60%) em comparação com a CU (6%).⁹³

Um aspeto importante no uso dos painéis de anticorpos é assinalado pelo facto de até 56% da população de pacientes com DC e seroreatividade negativa para o ASCA poder ser identificada com recurso a anticorpos anti-glicanos.^{78,84,91,94} De forma semelhante, os anticorpos anti-CBir1, este em cerca de 50%, Anti-OmpC e anti-I2 revelaram-se positivos no mesmo subgrupo de pacientes.^{95,96} Estes diferentes perfis imunológicos, verificados neste subgrupo de pacientes, suportam a teoria da existência de diferentes subtipos de DC.⁹¹

O anticorpo anti-GP2 foi confirmado em vários estudos como sendo altamente específico para a DC, ainda que com baixa sensibilidade.^{57,97-99} A sua grande utilidade poderá ser levada a cabo, então, onde as dificuldades clínicas residem, na diferenciação de DC cólica e CU.⁹⁸ A combinação PAB/pANCA/ASCA melhorou a diferenciação entre DC e CU, particularmente na DC cólica, quando comparada com a associação pANCA/ASCA.^{98,100} Outros sugerem que a deteção deste anticorpo pode apenas ser útil em pacientes com elevada suspeita para DC mas ASCA-negativos.⁹⁷

Relativamente aos anticorpos anti-células caliciformes (GAB), vários estudos reportaram alta especificidade na distinção DC *versus* CU, mas devido à baixa sensibilidade, principalmente na população pediátrica, ainda é pouco usado nesta temática.^{72,73,98,100} Contudo, num estudo recente de Homsak *et al*, foi possível identificar a maioria dos pacientes com CU ao combinar pANCA+/GAB+/PAB-.⁵⁷

Outro aspeto importante no uso dos vários anticorpos na diferenciação dos diferentes subtipos de DII prende-se com a existência de 10% a 15% de pacientes com DII não classificável.¹⁰¹

Dois estudos prospetivos de pacientes com DII não classificável, com a duração de 6 e 10 anos, verificaram que cerca de 50% dos pacientes apresentaram uma combinação ASCA-/pANCA- e que nestes o diagnóstico se mantinha inalterado no fim dos estudos.^{87,102} Surge então a teoria de que esta combinação pANCA-/ASCA- poderá estar associada a este subtipo de DII como uma entidade patológica diferenciada.⁸⁷

A adição de anti-OmpC e anti-I2 a anticorpos ASCA e pANCA apenas gerou uma pequena melhoria no diagnóstico de DC ou CU em pacientes com DII não classificável.¹⁰⁰

Ainda que demonstrem um papel limitado no diagnóstico da DII e não poderem substituir os métodos convencionais nesse capítulo, apresentam, por outro lado, considerável valor na diferenciação entre DC, CU e DII não classificável.³

O desempenho dos vários anticorpos, individualmente ou em combinação com outros, na diferenciação entre DC e CU é demonstrado na tabela II.

3.5 Utilidade na estratificação fenotípica, prognóstico e resposta à terapia

A estratificação da doença, atualmente, assenta nos fatores de risco clínicos e nos achados endoscópicos.³

Existe crescente evidência de um elo entre a seroreatividade e fenótipos específicos na DII. A capacidade dos anticorpos preverem o comportamento e progressão da doença bem como a resposta ao tratamento farmacológico poderia ajudar na estratificação de pacientes em grupos de alto e baixo riscos.

Na DC, 50% dos pacientes desenvolvem complicações estenosantes ou perforantes nos primeiros 20 anos e requerem cirurgia nos primeiros 6 meses.¹¹⁰

Numerosos estudos examinaram a presença dos diferentes anticorpos associados à DII e o comportamento da DC.^{3,17,58,60,73,78,79,81,84,85,88,90-93,95,96,98,100,104-114}

A associação positiva entre a maioria dos anticorpos anti-microbianos, especialmente os anti-glicanos, com um fenótipo mais agressivo e uma maior frequência de cirurgias abdominais associadas à DC têm sido consistentemente demonstradas, (Tabela III). Esta associação é tão mais forte com a positividade de múltiplos anticorpos e com maiores concentrações destes.⁴

Resultados semelhantes foram obtidos na população pediátrica. Amre *et al* demonstraram que elevados valores de ASCA precocemente detetados nesta população se correlacionavam com um risco aumentado de progressão para complicações precoces.¹¹¹

Dubinsky *et al* verificaram maior frequência de doença estenosante e/ou perforante e uma mais rápida progressão para complicações com maior diversidade da resposta imune anti-I2, anti-OmpC, anti-CBir1 e ASCA em pacientes pediátricos com DC, especialmente nos pacientes com positividade para todos os 4 anticorpos.^{92,112}

A associação entre a presença de PAB e o fenótipo da DC é algo conflituosa. Lakatos *et al* reportaram a sua associação com doença perianal, manifestações extraintestinais e complicações perforantes.⁷³ Pelo contrário, outros estudos concluíram não existir qualquer utilidade deste anticorpo na discriminação de fenótipos da doença.^{113,114}

Na CU, a maioria dos estudos não mostraram correlação entre pANCA e duração,^{115,116} atividade,^{105,115-117} localização,¹¹⁶ extensão,¹¹⁸ ou tratamento da doença,¹¹⁶ bem como necessidade de colectomia.^{116,118}

Contudo, outros estudos reportaram uma diminuição dos níveis de pANCA ao longo do tempo com doença em remissão,¹¹⁹ e pós-colectomia.¹²⁰ No mesmo sentido, mais estudos relataram níveis mais elevados de pANCA com doença ativa,¹²¹ doença severa confinada ao lado esquerdo resistente ao tratamento,¹²² recorrência da doença,¹²³ e um curso da doença mais agressivo requerendo colectomia precoce.^{122,124}

Além disso, Papp *et al* não encontrou qualquer associação entre fenótipo da CU e anticorpos anti-glicanos.⁸⁵ Outros anticorpos têm sido alvo de pouca pesquisa na CU.

Poucos estudos têm monitorizado longitudinalmente se a presença e/ou a magnitude dos anticorpos altera com tratamento farmacológico, com ou sem resposta. É geralmente aceite que as concentrações de anticorpos permanecem estáveis durante a terapia em pacientes com DC.^{85,94,96,118}

Teml *et al* demonstraram que os níveis de ASCA não se alteraram significativamente aos 2 e 9 meses após terapia com corticoesteroides ou mesalazina.¹¹⁸ Papp *et al* reportaram que as concentrações de ASCA, ALCA, ACCA e AMCA, avaliadas às 8 semanas, permaneceram estáveis após indução com infliximab.⁸⁵ Landers *et al* concluíram que os níveis de ASCA, anti-OmpC e anti-I2 permaneceram estáveis 6 meses pós-tratamento com infliximab.⁹⁴ Targan *et al* evidenciaram a mesma estabilidade nos níveis de anti-CBir1 após 4 meses pós-infliximab.⁹⁶

Sandborn *et al*, já no caso da CU, mostraram uma maior frequência de pANCA na doença limitada ao cólon esquerdo e resistente ao tratamento.¹²⁴ Dubinsky *et al* também demonstraram que a seroreatividade ao pANCA em crianças estava independentemente associada com falta de resposta à terapia anti-TNF α .¹²⁵ Isto é apoiado pelo relato da seronegatividade ao pANCA ser um preditor positivo independente para a resposta à terapia com infliximab em pacientes com CU.¹²⁶ Além disso, pacientes com uma combinação pANCA+/ASCA- demonstraram uma pior resposta clínica ao infliximab.¹²⁷

4. Outros marcadores sorológicos

Ao longo dos anos um vasto número de restantes biomarcadores sorológicos têm vindo a ser testados incluindo a α 1-glicoproteína ácida, a proteína amilóide A, α 2-globulina, lactoferrina, trombopoietina, procalcitonina e até a contagem de plaquetas, mas estes têm demonstrado menor validação em relação à PCR.^{128,129}

Recentemente, novos marcadores têm vindo a ser propostos. Entre eles incluem-se as metaloproteinases da matriz,¹³⁰ marcadores de peroxidação lipídica,¹³¹ citocinas como a IL-17A, 23 ou 12,¹³² a glicoproteína α 2 rica em leucina,¹³³ eosinófilos ativados (ECP e EPX),¹³⁴ o ativador de plasminogénio tipo uroquinase (uPa)¹³⁵ ou a proteína ligante de lipopolissacarídeos (LBP) e CD14 solúvel.¹³⁶ Os 2 últimos aliás foram, muito recentemente, reportados como marcadores com capacidade diagnóstica semelhante à PCR-as e preditores fiáveis de recorrência da DC.¹³⁶ Contudo, e apesar de os estudos preliminares apontarem para conclusões positivas, mais serão precisos para estabelecer o papel destes novos marcadores no contexto global da DII.

5. Marcadores Fecais

Os marcadores fecais são valiosos na DII face à sua especificidade ao trato gastrointestinal.¹⁴ Sob a instalação da inflamação mucosa intestinal, proteínas inflamatórias, produtos leucocitários e os próprios leucócitos são libertados a partir da mucosa permeável para o lúmen intestinal.¹⁷

O 'gold standard' atual para a identificação do caráter inflamatório intestinal passa pela identificação de leucócitos radiomarcados nas fezes, modalidade esta que se apresenta bastante cara para a prática clínica diária, além dos perigos associadas à exposição da radiação e a demora de 3 dias para colheita de fezes.¹³⁷ Assim sendo, nasceu a necessidade de encontrar marcadores mais fáceis e rápidos de avaliar. Hoje, os mais usados marcadores fecais são a Calprotectina e Lactoferrina.³⁸ Assim o são devido à sua utilidade no diagnóstico de DII, avaliação da atividade da doença, previsão da recorrência bem como resposta à terapia, além do seu reduzido custo.³⁸

Outros marcadores fecais têm sido investigados para uso clínico na DII ao longo dos anos. Entre eles incluem-se a lisozima, esterase leucocitária, mieloperoxidase, TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-10, α 1 anti-tripsina, α 2-macroglobulina, óxido nítrico retal, proteína eosinófila X, metaloproteinases da matriz.^{17,38,138,139} De entre todos eles, a M2-piruvato cinase e a S100A12 parecem ser os mais promissores.¹⁴⁰

5.1 Calprotectina

A calprotectina é uma proteína citosólica ligante do cálcio encontrada principalmente em neutrófilos e em menor quantidade em monócitos e macrófagos reativos.¹⁴¹ Está presente em condições inflamatórias agudas e crônicas bem como patologias oncológicas,¹⁴² sendo abundante em vários fluidos corporais na mesma proporção que o grau de inflamação.¹⁴³ Nas fezes permanece estável até 7 dias à temperatura ambiente devido à resistência à degradação bacteriana¹⁴⁴ e apresenta distribuição homogênea, propriedades que permitem a sua identificação em pequenas amostras fecais e pode ser rapidamente quantificada usando ELISA.¹⁴⁵

Recentemente, point-of-care testing ou testes à beira do leito da calprotectina fecal que, por permitirem resultados em menos de 30 minutos, se podem tornar bastante vantajosos na prática clínica, especialmente em cuidados primários, tornaram-se disponíveis.¹⁴⁶ Foi demonstrada, em estudos iniciais recentes, correlação significativa entre concentrações de calprotectina fecal medida a partir de ELISA e estes testes.¹⁴⁷

Contudo, elevadas concentrações de calprotectina fecal não são específicas da DII. Estas podem ser encontradas também em neoplasias, na presença de pólipos, na

enteropatia por AINEs, com o aumentar da idade, na doença celíaca, na colite microscópica e/ou alérgica e infeções.^{145,148} O uso de AINEs e IBPs têm sido também associados a elevações significativas deste biomarcador.^{149,150} A excreção deste biomarcador tem mostrado uma boa correlação com a excreção de leucócitos radiomarcados.¹⁴⁸

5.2 Lactoferrina

A lactoferrina é uma glicoproteína ligante do ferro identificada em secreções presentes na maioria das superfícies mucosas que interagem diretamente com patógenos externos, incluindo a saliva, lágrimas, secreções vaginais, fezes, fluido sinovial e leite materno.^{151,152} É um componente *major* dos grânulos secundários dos neutrófilos e parece ser um fator primário na resposta inflamatória aguda.¹⁵² No lúmen intestinal, as concentrações de lactoferrina aumentam rapidamente com o influxo de neutrófilos durante a inflamação¹⁴⁰ e é proporcional em relação ao nível de recrutamento neutrófilo para o trato gastrointestinal.¹⁵²

Apresenta atividade antibacteriana e é resistente à proteólise nas fezes,¹⁵³ podendo permanecer estável nas fezes até 5 dias.¹⁵⁴ Armazenadas a temperatura ambiente durante 48 horas, as concentrações fecais deste biomarcador eram 90% dos níveis iniciais, enquanto as de calprotectina eram 82%.¹⁵⁵ Investigações prévias demonstraram que a lactoferrina fecal é altamente sensível na deteção da infiltração neutrofílica.¹⁵⁴

5.3 S100A12

Também conhecido como EN-RAGE (extracellular, newly identified receptor for advanced glycation end-products) ou calgranulina C, esta proteína, como membro da família proteica S100, é uma proteína citoplasmática presente nos neutrófilos e apresenta propriedades pro-inflamatórias incluindo potente atividade quimiotática.¹⁵⁶

Como ligando do recetor RAGE, ativa a via de transdução de sinal através do fator nuclear kB conduzindo à produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β) e à expressão aumentada de moléculas de adesão (ICAM-1 e VCAM-1).¹⁵⁷ Isto pode sugerir que esta proteína contribui para o processo inflamatório intestinal e as suas concentrações poderão refletir a presença e gravidade da inflamação intestinal.¹⁵⁸

O RAGE solúvel (sRAGE) corresponde ao domínio extracelular deste recetor e que apresenta a mesma especificidade de ligação. Consequentemente, pode ligar-se à proteína S100A12 prevenindo assim a ligação ao recetor RAGE de membrana. De

facto, sRAGE foi demonstrado em níveis elevados num estudo de pacientes com DII.¹⁵⁹

Os níveis serológicos correlacionam-se bem com as concentrações fecais.¹⁶⁰ Mais a mais, esta proteína aparece igualmente distribuída nas amostras fecais e permanece estável por 7 dias. Como acontece com a calprotectina, não parecem existir diferenças entre géneros nas concentrações de S100A12 fecal.¹⁵⁸

5.4 M2-PK

A piruvato cinase (PK) é uma enzima chave na via glicolítica e é expressa por toda as células, em isoformas diméricas ou tetraméricas.¹⁶¹ A última (M1) tem sido encontrada no músculo esquelético, coração e cérebro, enquanto a isoforma dimérica (M2) está presente em tecidos proliferativos e indiferenciados sendo detetada no plasma e nas fezes.^{161,162} A atividade aumentada desta enzima nos neutrófilos é encontrada em pacientes politraumatizados,¹⁶³ insuficientes cardíacos,¹⁶² em tumores gastrointestinais,¹⁶⁴ e, mais recentemente, na inflamação da bolsa ileal.¹⁶⁵ M2-PK foi também detetado em fezes de pacientes com cancro colo-rectal e proposto como potencial marcador de rastreio para esta patologia.¹⁶⁴ Uma vez que a DII ativa está intrinsecamente relacionada com a rápida divisão e renovação celular (esta retorna ao normal uma vez a inflamação resolvida¹⁶⁶), foi postulado que as concentrações fecais desta enzima poderiam estar aumentadas em pacientes com DII.¹⁶¹

5.5 Utilidade na diferenciação entre DII e doenças gastrointestinais não-DII

Concentrações significativamente maiores de calprotectina fecal têm sido reportadas nos pacientes com DII, adultos e pediátricos, em comparação com pacientes com SII ou indivíduos saudáveis.^{142,167-181}

Gisbert *et al* calcularam uma sensibilidade e especificidade combinada de 80% e 76%, respetivamente, na identificação de DII a partir de informação recolhida de 754 pacientes e uma ligeira maior capacidade diagnóstica para DC (sensibilidade de 83%, especificidade de 85%) do que para a CU (sensibilidade de 72%, especificidade de 74%).¹⁶⁸ No mesmo sentido, outros estudos reportaram maiores concentrações de calprotectina fecal em DC do que na CU, mas a valor clínico desta conclusão parece questionável na medida em que os valores variaram bastante entre pacientes e estudos.^{169,170}

Numa recente meta-análise, von Roon *et al* sumariaram dados de 30 estudos que incluíam 5983 pacientes. A calprotectina fecal demonstrou sensibilidade e especificidade combinadas de 95% e 91%, respetivamente, nesta distinção.¹⁴²

Van Rheenen *et al*, em outra meta-análise, calcularam valores similares na população adulta mas valores significativamente menores na pediátrica, 76%, mas mais significativo foi o cálculo da redução em 67% no número de colonoscopias necessárias com o uso da calprotectina fecal como teste diagnóstico em pacientes com suspeita de DII.¹⁷¹

Kostakis *et al*, numa recente revisão sistemática de 34 estudos pediátricos verificaram que em pacientes recém-diagnosticados com DII, a sensibilidade para a calprotectina fecal variou entre 73,5%-100% (95,8%–100% para cut-off de 50 µg/g e 73,5%–100% para 100 µg/g); enquanto a especificidade variou entre 65,9%–100% (65,9%–92,9% para um valor de cut-off de 50 µg/g e 69,2%–100% para 100 µg/g).¹⁷²

Entre a literatura disponível, as concentrações usadas para cut-off na calprotectina fecal variam entre os 18,6 e 250 µg/g.^{169,181} Atualmente, o valor de cut-off mais usado e referenciado é o de 50 µg/g.¹⁸²

A lactoferrina fecal tem uma sensibilidade e especificidade de 80% e 82%, respetivamente, tendo em conta uma média ponderada calculada a partir de 19 estudos incluindo 1001 pacientes, onde pacientes com DII foram comparados com pacientes com SII, outras doenças do cólon e indivíduos saudáveis.¹⁸³

As precisões diagnósticas da calprotectina e lactoferrina parecem ser similares e superiores relativamente a marcadores agudos de inflamação como a PCR e o VSE ou anticorpos como pANCA ou ASCA.^{175,178,179} Os 2 biomarcadores fecais mostraram diferenciar DII ativa de inativa e pacientes com SII em 80% dos casos comparando com 74% para a elastase leucocitária e 64% para a PCR.¹⁷⁸ Mesmo com a junção de marcadores fecais e anticorpos, a precisão diagnóstica melhorou apenas ligeiramente quando comparada com a utilização apenas da calprotectina.¹⁷⁹

Num estudo de de Jong *et al*, S100A12 distinguiu pacientes pediátricos com DII de indivíduos saudáveis com uma sensibilidade de 96% e especificidade de 92% usando um valor de cut-off de 10mg/kg.¹⁵⁸

Valores similares foram demonstrados por Sidler *et al* num estudo prospetivo de 61 crianças com sintomas intestinais e avaliadas com S100A12 e calprotectina fecais, usando o mesmo valor de cut-off (10mg/kg).¹⁸⁰

Contudo, num posterior estudo, Manolakis *et al* calcularam que um valor de cut-off de 54,4 ng/ml poderia distinguir entre DII e SII mas apenas com sensibilidade de 66,7% e especificidade de 64,4%.¹⁶⁰

No que diz respeito à M2-PK, um estudo de Chung-Faye *et al* demonstrou concentrações médias desta enzima significativamente elevadas na CU, DC e no cancro colo-rectal comparados com o SII e uma forte correlação linear com os valores de calprotectina demonstrados.¹⁶¹

Um estudo mais recente de Jeffery *et al*, com 105 pacientes, usando um valor de cut-off de 4 U/mL para a M2-PK, obtiveram valores de sensibilidade e especificidade de 67% e 88%, respetivamente, para a distinção entre DII e SII.¹⁸⁴

Conclui-se, então, que, apesar de exibir um potencial valor como marcador de inflamação gastrointestinal, a M2-PK apresenta pior desempenho do que a calprotectina. Já o S100A12 parece apresentar um desempenho semelhante.

5.6 Utilidade na avaliação da atividade da doença

Em anos recentes crescente interesse no valor dos marcadores fecais na monitorização da DII conduziu a numerosos estudos investigativos da sua correlação com o grau de atividade da doença, medido através da histologia e endoscopia.

Estudos recentes comparando a calprotectina e a lactoferrina sugerem que ambos os marcadores são igualmente úteis na avaliação da atividade da doença.^{140,185}

Ambos os marcadores demonstraram diferenciar doença ativa da inativa ou remissiva em pacientes, quer em pacientes com DC quer em pacientes com CU.^{152,173,175,177-179,186-191}

Esta correlação tende a ser maior com a atividade inflamatória avaliada histo e endoscopicamente do que com os índices clínicos^{40,174,185,187,189-191} e, por exemplo, alguns estudos não verificaram sequer qualquer associação entre a calprotectina fecal e índices clínicos.^{39,186,192} Além disso, os marcadores fecais parecem ser os que melhor se correlacionam com a atividade inflamatória à colonoscopia comparativamente com outros biomarcadores ou índices clínicos.^{40,185,189-191}

Curiosamente, alguns estudos concluíram que ambos os marcadores associaram-se melhor com a inflamação demonstrada à análise histológica do que com a demonstrada através de achados endoscópicos sugerindo que podem ser mais sensíveis à inflamação do que esta modalidade na avaliação da atividade da doença.^{173,175} Assim sendo, estes marcadores podem detetar atividade inflamatória residual em pacientes com presumível doença quiescente.

Em geral, ambos os marcadores parecem associar-se melhor com a DC limitada ao cólon do que com a doença ileocólica ou ileal^{40,176,187,191-195} e com um fenótipo inflamatório por oposição com um fenótipo estenosante e/ou perfurante.^{40,189}

De facto, na DC limitada ao íleo a calprotectina e a lactoferrina não se correlacionaram com a atividade inflamatória à colonoscopia.^{187,189}

Na CU Ricianek *et al* demonstraram que a concentração média da calprotectina fecal era maior em pacientes com doença extensiva do cólon esquerdo comparada com a proctite.¹⁹⁶ A correlação entre índices clínicos e atividade inflamatória à colonoscopia, virtualmente não existente na DC, parece existir na CU.^{14,197}

Ambos os marcadores parecem também estar mais associados com o grau de inflamação do que com a extensão da doença.³⁹

A sensibilidade para estes marcadores em identificar doença ativa baseada no estudo endoscópico varia entre 70% a 100% com especificidade entre 44% a 100%.³⁸

Os valores de cut-off para a lactoferrina variam entre 7,5 e 10 µg/g.³⁸ Já para a calprotectina os valores de cut-off publicados variam entre os 18,6 e os 250 µg/g.^{169,181}

Foell *et al* demonstraram correlações entre as concentrações elevadas de S100A12 e a doença ativa.¹⁵⁶ Kaiser *et al* concluíram que S100A12 apresentaria a melhor correlação com o score inflamatório incorporando achados histológicos e endoscópicos relativamente a outros biomarcadores.¹⁶⁷

Chung-Faye *et al*, por sua vez, enquanto investigavam a utilidade da M2-PK na DII revelaram que os seus níveis (U/mL) mostraram-se significativamente elevados na doença ativa quando comparada com a doença remissiva.¹⁶¹ Também na população pediátrica isso foi demonstrado com a concentração fecal desta enzima a diminuir significativamente com a remissão da CU.¹⁹⁸

5.7 Utilidade na avaliação à resposta terapêutica e da cicatrização da mucosa

O sucesso terapêutico na DII, avaliado através dos índices clínicos tende a refletir o bem-estar do paciente e a sua qualidade de vida em vez do grau de inflamação da mucosa.^{39,148} Existe evidência de que, tanto na DC como na CU, a cicatrização da mucosa está associada com a remissão sustentada da atividade da doença e reduzida necessidade de cirurgia, tornando-se o seu atingimento o novo objetivo do tratamento da DII.^{199,200}

A confirmação rotineira da remissão por via endoscópica e histológica não é realista e marcadores biológicos capazes de a estimarem indiretamente são necessários.¹⁸³ As concentrações dos marcadores fecais parecem estar altamente correlacionadas com a atividade inflamatória à colonoscopia e histologia e, por isso, têm sido sugeridos como potenciais avaliadores da resposta á terapêutica.¹⁸³

Røseth *et al* provaram que a normalização dos valores de calprotectina fecal correspondia à cicatrização da mucosa avaliada endoscopicamente quando verificaram que apenas 1 dos 35 pacientes com DII em remissão clínica apresentava inflamação ativa da mucosa à colonoscopia com concentração de calprotectina inferior a 50 µg/g.²⁰¹

Wagner *et al* investigaram 38 pacientes com DII ativa (11 DC, 27 CU) tratados com 5-ASA ou várias combinações de 5-ASA, prednisolona e azatriopina. Após 8 semanas, 82% dos pacientes apresentavam resultados normais de colonoscopia e a normalização dos valores de calprotectina fecal era 100% preditiva de resposta completa ao tratamento.²⁰²

Tem sido demonstrado que em pacientes com remissão clínica induzida por corticosteróides, os valores de calprotectina fecal permanecem elevados.^{174,203} Este achado está em linha com estudos prévios que demonstram cicatrização da mucosa incompleta em pacientes tratados com este grupo de fármacos.^{204,205}

Sipponen *et al* provaram que os valores de calprotectina e lactoferrina fecais normalizaram em pacientes com DC que atingiram remissão endoscópica após tratamento com anti-TNFα.^{204,205}

A lactoferrina fecal também mostrou utilidade na monitorização de pacientes sob terapia com infliximab.²⁰⁶

Foell *et al* reportaram correlações entre os valores de S100A12 e a atividade da DII mas também que os valores desta proteína diminuía após intervenção com infliximab.¹⁵⁶

Sendo um, relativamente novo, candidato a marcador para avaliar a atividade da DII, não foram ainda conduzidos muitos estudos que tenham avaliado o valor clínico da M2-PK à resposta terapêutica.

Recentemente, Turner e seus colegas revelaram a primeira comparação sistemática entre a utilidade de calprotectina, lactoferrina, S100A12 e M2-PK numa crise severa de CU em pacientes pediátricos.²⁰⁷ Das 101 crianças, 26 eventualmente mostraram-se não responsivas ao tratamento com corticosteróides e nenhum dos marcadores foi capaz de medir a resposta ao tratamento. Curiosamente, contudo, o M2-PK demonstrou apresentar um bom valor preditivo positivo, o melhor entre os 4, na identificação dos casos refratários ao tratamento intravenoso com corticosteróides, sugerindo a sua possível utilidade como medidor objetivo da previsão do resultado da terapêutica no caso de crises severas da CU.

5.8 Utilidade na previsão de recorrência da DII

A maioria dos pacientes em remissão clínica parece apresentar algum grau de inflamação residual da mucosa e a recorrência sintomática provavelmente ocorre apenas quando o processo inflamatório atinge uma intensidade crítica.²⁰⁸ Como o processo inflamatório é contínuo, a estimativa do seu grau de atividade usando um biomarcador pode fornecer uma medida quantitativa pré-sintomática do risco iminente de recorrência.²⁰⁸ Elevados valores de marcadores fecais têm sido detetados em pacientes em remissão clínica.¹⁹³

Vários estudos demonstraram que os valores de calprotectina fecal podem prever a recorrência em 12 meses.^{164,168,193,194,209-212}

Gisbert *et al* incluíram 163 pacientes com DII em remissão clínica no seu estudo.¹⁶⁸ 16 deles (9,8%) experienciaram recorrência clínica num follow-up de 12 meses e os valores de calprotectina fecal destes eram, ao início do estudo, maiores do que aqueles em que a recorrência ocorreu após este período de tempo. O risco de recorrência era cerca de 30% se os valores superavam os 150 µg/g e 7% se inferiores a este valor.¹⁶⁸

Um estudo de 79 pacientes com DII de Costa *et al* demonstrou que a calprotectina fecal correlaciona-se melhor com a recorrência na CU do que na DC.²⁰⁹

Os valores de calprotectina fecal inferiores a 150 µg/g parecem indicar uma remissão da doença com menor risco de recorrência e um aumento deste marcador precocemente durante a remissão clínica pode ser um bom preditor de recorrência.^{38,193,194}

O mesmo estudo de Gisbert *et al* estabeleceu a conclusão de que a determinação dos valores de lactoferrina fecal pode ser útil na previsão da recorrência clínica, especialmente durante os primeiros 3 meses, em ambos os subtipos.¹⁶⁸

Em outro estudo, pacientes que experienciaram um *flare* clínico em 2 meses após a colheita das fezes demonstraram maiores concentrações de lactoferrina do que aqueles que permanecerem em remissão clínica.¹⁸³

Relativamente ao papel do S100A12 e M2-PK como marcadores de futura recorrência, estes ainda não foram considerados em estudos pediátricos ou de adultos.^{140,160}

6. Biomarcadores do futuro

A descoberta de novos biomarcadores é uma área de pesquisa ativa e os métodos atualmente usados neste campo incluem abordagens baseadas nas plataformas tecnológicas existentes que permitem explorar e identificar diferenças nos estudos genéticos, proteicos e metabólicos.

6.1 Estudos metabólicos

Análises comparativas dos perfis metabólicos nos pacientes com DII e em modelos animais representam uma área de profícua investigação que tem revelado vários potenciais alvos para avaliação da DII.²¹³

Alguns estudos têm estudado metabolitos específicos ao passo que outros recorrem a análises metabolómicas totais. Fezes, urina, tecido intestinal e plasma têm constituído o substrato para estes estudos. Porquanto a variabilidade entre estudos exista, vias metabólicas que incluam aminoácidos e produtos metabólicos associados ligados à inflamação intestinal ou a bactérias comensais têm sido bastante elucidados.

Estudos recentes identificaram um papel na inflamação intestinal e na DII associado à enzima indolamina 2,3 dioxigenase (IDO1) que age como o primeiro e limitante passo no catabolismo do triptofano ao longo da via da quinurenina.^{214,215}

Gupta *et al* descobriram que os níveis plasmáticos de triptofano correlacionavam-se com a gravidade da atividade da DC bem como com os reagentes de fase aguda VS e PCR.²¹⁴ Concluíram também que o ratio Q/T (Quinurenina/Triptofano) era útil na identificação de pacientes com doença ativa cólica, ileocólica e ileal e à medida que a remissão se instalava, os níveis de triptofano aumentavam, enquanto que os de quinurenina e, por conseguinte, o ratio Q/T diminuía. Mais a mais, a normalização da expressão de IDO1 mucosa após tratamento da DC com infliximab também foi reportado.²¹⁶

Williams *et al*, por seu lado, usando perfis metabólicos a partir de análises à urina focaram-se em metabolitos associados a bactérias comensais.²¹⁷ Em pacientes com DC *versus* controlos ou pacientes com CU, valores de hipurato e sulfato de cresol-4 eram significativamente menores contrapondo com valores de formato significativamente maiores.

Um outro aminoácido, L-arginina, tem sido recentemente investigado na DII. Hong *et al* demonstraram valores plasmáticos aumentados em pacientes com CU e correlacionados com a gravidade da inflamação à histologia.²¹⁸

Maior standardização das técnicas e amostras analisadas devem melhorar a precisão desta modalidade.

6.2 Perfis de expressão genética

Perfis de expressão genética têm sido examinados como biomarcadores preditivos na DII humana. Uma vez que todos os subtipos desta patologia são disfunções multi-genéticas com patofisiologias complexas, é mais provável que painéis, ao invés de um único biomarcador, possam ser mais capazes de os distinguir.

Decorrem atualmente estudos com micro-arranjos de ADN, capazes de testar cerca de 100 mutações genéticas associadas à DII, com o intuito de estimar a sua utilidade como preditores da evolução clínica, do surgimento de complicações e de resposta a certas farmacoterapias.²¹⁹ Arijs *et al* demonstraram o valor preditivo de perfis de expressão de genes epiteliais na resposta ao infliximab em pacientes com DC e CU, apesar de requererem colonoscopia para obtenção de biópsias.^{220,221}

Um recente estudo de Burakoff *et al* concluiu que um painel de 4 genes distintos foi capaz de diferenciar com precisão pacientes com DC, CU e controlos com diarreia.²²²

Uma modalidade também recente assenta na diferença de padrões de expressão de miARNs (microARNs) como diferenciadora dos diferentes subtipos de DII. MicroARNs são pequenos ARNs não-codificantes que agem como reguladores negativos da expressão genética e apresentam um alto papel na regulação imune.²²³ Estudos recentes conseguiram identificar vários miARNs especificamente associados a cada um dos subtipos da DII, capazes de os distinguir com elevada precisão.^{223,224}

Estes e outros resultados promissores necessitam de avaliações consequentes em maiores amostras e com níveis variáveis de atividade de doença para determinarem a sua utilidade clínica.

6.3 Análises proteómicas

Proteómica é a ciência da área de biotecnologia que estuda o conjunto de proteínas e das suas isoformas contidas numa amostra biológica. O estudo do proteoma (conjunto completo de proteínas e isoformas numa célula), é um método direto usado para identificar, quantificar e estudar as modificações pós-traducionais das proteínas numa célula.

Significativos avanços na tecnologia usada para a identificação de perfis proteómicos despertaram o interesse no uso desta modalidade na avaliação da DII. Abordagens atuais incluem também análises subproteómicas que analisam diferenças nos compartimentos e organelos celulares bem como nos fluidos biológicos. Na DII, estas têm-se revelado prometedores na identificação da doença ativa, na

diferenciação dos seus subtipos e na previsão da resposta à terapia anti-TNF α e em providenciar esclarecimentos sobre a sua patofisiologia.²²⁵⁻²²⁹

7. Conclusão

O diagnóstico e o acompanhamento dos pacientes com DC e CU dependem, essencialmente, de parâmetros clínicos, endoscópicos e histológicos. A análise radiológica e laboratorial parece ser aditiva e acessória. Contudo, existem algumas limitações inerentes ao uso destes métodos convencionais devido essencialmente à presença de casos com DII não classificável, ao carácter oneroso e invasivo do repetido uso do método endoscópico e à falta de ferramentas de previsão do curso da doença.

Os biomarcadores parecem poder dar resposta a estas limitações na medida em que fornecem dados reprodutíveis, quantitativos, rápidos e, preferencialmente, menos dispendiosos sendo já usados na prática clínica na assessoria do diagnóstico das DII, diferenciação entre os seus subtipos, avaliação da atividade da doença e previsão de recorrência.

Apesar de ser o marcador sorológico melhor estabelecido e mais usado em termos históricos nas DII, a PCR apresenta, pelo facto de ser um marcador de inflamação sistémica, limitada utilidade no diagnóstico e na diferenciação entre os subtipos da DII. Contudo, a presença de elevados valores de PCR-as aquando do diagnóstico, principalmente da DC, correlacionam-se com maior probabilidade de recorrência clínica, fenótipo agressivo e necessidade de terapia biológica. Devido à rapidez da obtenção da sua análise, pode, em conjunto com a avaliação clínica, ser suficiente para prever inflamação ativa da mucosa.

Devido à falta de sensibilidade, os anticorpos não são aconselháveis para o uso no estabelecimento do diagnóstico de DII mas antes na diferenciação dos seus subtipos, particularmente com o uso de painéis de anticorpos. De acordo com a crescente evidência da associação entre a magnitude da seroreatividade aos anticorpos e fenótipos clínicos específicos, talvez a importância maior da utilidade destes marcadores seja a estratificação de pacientes de acordo com o risco para fenótipos agressivos da doença e complicações associadas, especialmente na DC. Tal score de risco que integre marcadores da resposta imune, características clínicas e também genéticas poderia permitir a aplicação de estratégias terapêuticas personalizadas e melhor monitorização dos pacientes em risco. Contudo, há evidência insuficiente na sua utilidade na monitorização do tratamento.

Os marcadores fecais pela sua especificidade ao trato gastrointestinal revelam-se altamente úteis, especialmente a calprotectina e lactoferrina, na diferenciação entre DII e doenças gastrointestinais não inflamatórias com clara superioridade em relação a todos os outros biomarcadores neste aspeto. Ainda que não substituam a capacidade diagnóstica da colonoscopia, a criação de um algoritmo com valores de cut-off

validados poderiam intervir na redução de colonoscopias necessárias para o estabelecimento de DII. Demonstram também uma melhor correlação na avaliação da inflamação da mucosa do que todos os outros marcadores e até índices clínicos e ainda que a colonoscopia com biópsia da mucosa se apresente como gold-standard na avaliação da extensão e gravidade da atividade da doença, os marcadores fecais podem permitir uma avaliação não-invasiva da monitorização da atividade da doença e avaliação à resposta terapêutica, especialmente quando uma dinâmica de avaliações repetidas se impõe. A elevação dos valores de marcadores fecais aquando do diagnóstico e até em pacientes em remissão clínica estão fortemente associados com um alto risco de recorrência num follow-up de 12 meses, indicando que avaliações repetidas podem ser bastante úteis na previsão de recorrências. Neste aspeto, os marcadores S100A12 e M2-PK carecem ainda de mais estudos.

Melhorias nos estudos genómicos, proteómicos e metabolómicos têm facilitado a descoberta de novos biomarcadores. Metabolitos como o triptofano ou a L-arginina, perfis de expressão genética ou miARNs associados a DC ou UC ou até componentes proteicos celulares e subcelulares parecem bastante promissores na identificação da doença ativa, na diferenciação dos subtipos da DII e na previsão da resposta à terapia e podem abrir um novo caminho na etiopatogénese destas doenças com consequente melhoria dos cuidados.

8. Bibliografia

1. Funayama B, Orsatti GM, Roberto CV. Pesquisa de anticorpos anticitoplasma de neutrófilos no soro de doentes com doenças inflamatórias intestinais. *Rev Bras Reumatol* 2001;41(6):347-353.
2. Kasper DL, Braunwold E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jamesom JL. *Harrison's – Principles of Internal Medicine*. 16 ed.; 2005; p.1776-1789
3. Prideaux L, De Cruz P, Ng SC, Kamm MA. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:1340-55
4. Kuna A. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Biochemia Medica* 2013;23(1):28-42
5. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002;347:417-29.
6. Mokrowiecka A, Kumor A, Jakubczyk E, Pietruczuk M, Malecka-Panas E. The application of Montreal classification in different clinical and serological IBD subtypes. *Hepatogastroenterology* 2010;57:787-93.
7. Arai R. Serologic markers: impact on early diagnosis and disease stratification in inflammatory bowel disease. *Postgrad Med* 2010;122:177-85
8. Beaugerie L, Seksik P, Nion-Larmurier I, Gendre JP, Cosnes J. Predictors of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2006;130:650–656.
9. Freeman HJ. Inflammatory bowel diseases in Indo-Canadians with and without antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Canadian Journal Of Gastroenterology*. 2000;14:21–26.
10. Angriman I, Scarpa M, D'Inca R, Basso D, Ruffolo C, Polese L et al. Enzymes in feces: useful markers of chronic inflammatory bowel disease. *Clin Chim Acta*. 2007;381:63–68.
11. Vavricka SR, Spigaglia SM, Rogler G, Pittet V, Michetti P, Felley C, et al. Systematic evaluation of risk factors for diagnostic delay in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011.
12. Canani RB, de Horatio LT, Terrin G, Romano MT, Miele E, Staiano A, et al. Combined use of noninvasive tests is useful in the initial diagnostic approach to a child with suspected inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006;42(1):9–15.
13. Biomarkers Definition Working Group Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Therapeutics*. 2001;69:89–95.
14. Iskandar N, Ciorba MA. Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease: Current Practices and Recent Advances. *Transl Res*. 2012 April ; 159(4): 313–325.
15. Plevy S, Silverberg MS, Lockton S, Stockfisch T, Croner L, Stachelski J et al. Combined Serological, Genetic, and Inflammatory Markers Differentiate Non-IBD, Crohn's Disease, and Ulcerative Colitis Patients. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 May;19(6):1139-48.
16. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut*. 2006 Mar; 55(3):426–31.
17. Mendoza JL, Abreu MT. Biological markers in inflammatory bowel disease: practical consideration for clinicians. *Gastroenterol Clin Biol*. 2009 Jun; 33 (Suppl 3):S158–73.

18. Darlington GJ, Wilson DR, Lachman LB. Monocyte-conditioned medium, interleukin-1, and tumor necrosis factor stimulate the acute phase response in human hepatoma cells in vitro. *J Cell Biol.* 1986 Sep; 103(3):787–93.
19. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *Journal of Clinical Investigation [Article].* 2003 Jun; 111(12):1805–12.
20. Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest.* 1993 Apr; 91(4):1351–7.
21. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2004 Sep;10(5)661–5.
22. Poullis AP, Zar S, Sundaram KK, Moodie SJ, Risley P, Theodossi A et al. A new, highly sensitive assay for C-reactive protein can aid the differentiation of inflammatory bowel disorders from constipation- and diarrhoea-predominant functional bowel disorders. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002 Apr;14(4):409 –12.
23. Beattie RM, Walker-Smith JA, Murch SH. Indications for investigation of chronic gastrointestinal symptoms. *Arch Dis Child* 1995;73:354–355.
24. Shine B, Berghouse L, Jones JE, Landon J. C-reactive protein as an aid in the differentiation of functional and inflammatory bowel disorders. *Clin Chim Acta* 1985;148:105–109.
25. Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, Stray N, Sauar J, Vatn MH et al. C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study. *Gut.* 2008;57;1518–1523.
26. Boirivant M, Leoni M, Tariciotti D, Fais S, Squarcia O, Pallone F. The clinical significance of serum C reactive protein levels in Crohn's disease. Results of a prospective longitudinal study. *J Clin Gastroenterol.* 1988;10:401–405
27. Kiss LS, Papp M, Lovasz B, Vegh Z, Golovics P, Janka E et al. High-sensitivity C-reactive Protein for identification of disease phenotype, active disease, and clinical relapses in Crohn's Disease: A marker for patient classification? *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:1647–1654.
28. Lewis JD. C-reactive protein: anti-placebo or predictor of response. *Gastroenterology* 2005;129:1114–1116.
29. Schreiber S, Khaliq-Kareemi M, Lawrance IC, Thomsen OØ, Hanauer SB, McColm J et al. Maintenance therapy with certolizumab pegol for Crohn's disease. *N Engl J Med.* 2007;357:239–250.
30. Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R et al. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology.* 2007;132:52–65.
31. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Eng J Med.* 2010;362:1383–1395.
32. Gross V, Andus T, Caesar I, Roth M, Scholmerich J. Evidence for continuous stimulation of interleukin-6 production in Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1992 Feb; 102(2):514–9.
33. Carlson CS, Aldred SF, Lee PK, Tracy RP, Schwartz SM, Rieder M et al. Polymorphisms within the C-reactive protein (CRP) promoter region are associated with plasma CRP levels. *Am J Hum Genet.* 2005 Jul; 77(1):64–77.

34. Bitton A, Peppercorn MA, Antonioli DA, Niles JL, Shah S, Bousvaros A et al. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2001 Jan;120(1):13–20.
35. Solem CA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2005 Aug; 11(8):707–12.
36. Colombel JF, Solem CA, Sandborn WJ, Booya F, Loftus EV Jr, Harmsen WS et al. Quantitative measurement and visual assessment of ileal Crohn's disease activity by computed tomography enterography: correlation with endoscopic severity and C reactive protein. *Gut*. 2006 Nov; 55(11):1561–7.
37. Langhorst J, Eisenbruch S, Koelzer J, Rueffer A, Michalsen A, Dobos GJ. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, PMN-elastase, CRP and clinical indices. *Am J Gastroenterol*. 2008 Jan;103(1):162-9
38. Lewis JD. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011 May; 140(6):1817–26.
39. Jones J, Loftus EV Jr, Panaccione R, Chen LS, Peterson S, McConnell J et al. Relationships between disease activity and serum and fecal biomarkers in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:1218–1224.
40. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, et al. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *Am J Gastroenterol* 2010;105:162–169.
41. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, et al. Ulcerative colitis: correlation of the Rachmilewitz endoscopic activity index with fecal calprotectin, clinical activity, C-reactive protein, and blood leukocytes. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:1851–1858.
42. Consigny Y, Modigliani R, Colombel JF, et al. A simple biological score for predicting low risk of short-term relapse in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:551–557.
43. Brignola C, Campieri M, Bazzocchi G, et al. A laboratory index for predicting relapse in asymptomatic patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1986;91:1490–1494.
44. Oussalah A, Chevaux JB, Fay R, et al. Predictors of infliximab failure after azathioprine withdrawal in Crohn's disease treated with combination therapy. *Am J Gastroenterol* 105:1142–1149.
45. Bitton A, Dobkin PL, Edwardes MD, et al. Predicting relapse in Crohn's disease: a biopsychosocial model. *Gut* 2008;57:1386–1392.
46. Papi C, Festa V, Leandro G, et al. Long-term outcome of Crohn's disease following corticosteroid-induced remission. *Am J Gastroenterol* 2007;102:814–819.
47. Florin TH, Paterson EW, Fowler EV, et al. Clinically active Crohn's disease in the presence of a low C-reactive protein. *Scand J Gastroenterol*.2006;41:306–311.
48. Kiss LS, Szamosi T, Molnar T, et al. Early clinical remission and normalization of CRP are the strongest predictors of efficacy, mucosal healing, and dose escalation during the first year of adalimumab therapy in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34:911–922.
49. Jürgens M, Mahachie John JM, et al. Levels of C-reactive protein are associated with response to infliximab therapy in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011;9:421–427.

50. Bitton A, Peppercorn MA, Antonioli DA, et al. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2001;120:13–20.
51. Broberger O, Perlmann P. Autoantibodies in human ulcerative colitis. *J Exp Med*. 1959;110:657–74.
52. Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009;361:2066-78.
53. Tsianos EV, Katsanos K. Do we really understand what immunological disturbances in inflammatory bowel disease mean? *World J Gastroenterol* 2009;15:521-55
54. Hart AL, Ng SC, Mann E, Al-Hassi HO, Bernardo D, Knight SC. Homing of immune cells: Role in homeostasis and intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:1969–77.
55. Mudter J. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2011;17:3178-83.
56. Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2006;12:4807-12.
57. Homsak E, Micetic-Turk D, Bozic B. Autoantibodies pANCA, GAB and PAB in inflammatory bowel disease: prevalence, characteristics and diagnostic value. *Wien Klin Wochenschr* 2010;122(Suppl 2):19-25.
58. Dotan N, Altstock RT, Schwarz M, Dukler A. Anti-glycan antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis. *Lupus*. 2006;15:442–450.
59. Harrer M, Reinisch W, Dejaco C, Kratzer V, Gmeiner M, Miehsler W et al. Do high serum levels of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies result from a leakiness of the gut barrier in Crohn's disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15:1281–1285.
60. Seow CH, Stempak JM, Xu W, Stat P, Lan H, Griffiths AM, et al. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *Am J Gastroenterol* 2009;104:1426-34.
61. Barnich N, Carvalho FA, Glasser AL, et al. CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive E. coli, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J Clin Invest*. 2007 Jun; 117(6):1566–74.
62. Wei B, Huang T, Dalwadi H, Sutton CL, Bruckner D, Braun J. Pseudomonas fluorescens encodes the Crohn's disease-associated I2 sequence and T-cell superantigen. *Infect Immun* 2002;70:6567–75.
63. Sutton CL, Kim J, Yamane A, Dalwadi H, Wei B, Landers C, et al. Identification of a novel bacterial sequence associated with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000;119:23-31.
64. Lodes MJ, Cong Y, Elson CO, Mohamath R, Landers CJ, Targan SR, et al. Bacterial flagellin is a dominant antigen in Crohn's disease. *J Clin Invest* 2004; 113:1296–306.
65. Duck LW, Walter MR, Novak J, Kelly D, Tomasi M, Cong Y, Elson CO. Isolation of flagellated bacteria implicated in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2007 Oct;13(10):1191-201.
66. Billing P, Tahir S, Cifin B, Gagne G, Cobb L, Targan SR, et al. Nuclear localization of the antigen detected by ulcerative colitis-associated perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Am J Pathol* 1995;147:979-87.
67. Vidrich A, Lee J, James E, Cobb L, Targan S. Segregation of pANCA antigenic recognition by DNase treatment of neutrophils: ulcerative colitis, type I autoimmune hepatitis, and primary sclerosing cholangitis. *J Clin Immunol* 1995;15:293–299.

68. Eggena M, Cohavy O, Parseghian MH, Hamkalo BA, Clemens D, Targan SR et al. Identification of histone H1 as a cognate antigen of the ulcerative colitis-associated marker antibody pANCA. *J Autoimmun.* 2000;14:83–97.
69. Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan S. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;86:202–210.
70. Teegen B, Niemann S, Probst C, Schlumberger W, Stöcker W, Komorowski L. DNA-bound lactoferrin is the major target for antineutrophil perinuclear cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. *Contemporary Challenges in Autoimmunity: Ann N Y Acad Sci* 2009;1173:161-5.
71. Roggenbuck D, Hausdorf D, Martinez-Gamboa I, Reinhold D, Büttner T, Jungblut PR, et al. Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease. *Gut* 2009;58:1620-8.
72. Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Finkbeiner H, Stöcker K, et al. Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Results of an autoantibody screening in patients with chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1987;22(Suppl 139):41-52.
73. Lakatos L, Altorjay I, Szamosi T, Palatka K, Vitalis Z, Tumpek J, et al. Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:365–74.
74. Rossato M, Foresta C. Antisperm antibodies in inflammatory bowel disease. *Arch Intern Med.* 2004;164:2283.
75. Kuwana T, Sato Y, Saka M, et al. Anti-cathepsin G antibodies in the sera of patients with ulcerative colitis. *Journal Of Gastroenterology.* 2000;35:682–689.
76. Romas E, Paspaliaris B, d'Apice AJ, Elliott PR. Autoantibodies to neutrophil cytoplasmic (ANCA) and endothelial cell surface antigens (AECA) in chronic inflammatory bowel disease. *Australian And New Zealand Journal Of Medicine.* 1992;22:652–659.
77. Das KM, Dubin R, Nagai T. Isolation and characterization of colonic tissue-bound antibodies from patients with idiopathic ulcerative colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978;75:4528–4532.
78. Ferrante M, Henckaerts L, Joossens M, et al. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut.* 2007;56:1394–1403.
79. Simondi D, Mengozzi G, Betteto S, Bonardi R, Ghignone RP, Fagoone S et al. Antiglycan antibodies as serological markers in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2008;14:645–651.
80. Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW et al. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2006 Oct; 101(10):2410–22.
81. Rieder F, Schleder S, Wolf A, Dirmeier A, Strauch U, Obermeier F et al. Association of the novel serologic anti-glycan antibodies anti-laminarin and anti-chitin with complicated Crohn's disease behavior. *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16:263–274.
82. Benor S, Russell GH, Silver M, Israel EJ, Yuan Q, Winter HS. Shortcomings of the inflammatory bowel disease Serology 7 panel. *Pediatrics.* 2010 Jun; 125(6):1230–6.
83. Granito A, Zauli D, Muratori P, Muratori L, Grassi A, Bortolotti R, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae and perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in coeliac disease before and after gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:881–7.

84. Dotan I, Fishman S, Dgani Y, Schwartz M, Karban A, Lerner A et al. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2006;131:366–378.
85. Papp M, Altorjay I, Dotan N, Palatka K, Foldi I, Tumpek J et al. New serological markers for inflammatory bowel disease are associated with earlier age at onset, complicated disease behavior, risk for surgery, and NOD2/CARD15 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:665–681.
86. Kaul A, Hutfless S, Liu L, Bayless TM, Marohn MR, Li X. Serum Anti-glycan Antibody Biomarkers for Inflammatory Bowel Disease Diagnosis and Progression: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2012 Oct;18(10):1872-84.
87. Mokrowiecka A, Daniel P, Slomka M, Majak P, Panas EM. Clinical utility of serological markers in inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 2009;56:162-6.
88. Papp M, Altorjay I, Norman GL, et al. Seroreactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, noninflammatory disease behavior and NOD2/CARD15 genotype, but not with risk for surgery in a Hungarian cohort of IBD patients. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13:984–992.
89. Linskens RK, Mallant-Hent RC, Groothuismink ZM, et al. Evaluation of serological markers to differentiate between ulcerative colitis and Crohn's disease: pANCA, ASCA and agglutinating antibodies to anaerobic coccoid rods. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2002;14:1013–1018.
90. Koutroubakis IE, Drygiannakis D, Tsirogianni A, et al. Anti-glycan antibodies in Greek patients with inflammatory bowel disease. *Dig DisSci*. 2011;56:845–852.
91. Malickova K, Lakatos PL, Bortlik M, et al. Anticarbohydrate antibodies as markers of inflammatory bowel disease in a Central European cohort. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22:144–150.
92. Dubinsky MC, Kugathasan S, Mei L, et al. Increased immune reactivity predicts aggressive complicating Crohn's disease in children. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:1105–1111.
93. Schoepfer AM, Schaffer T, Mueller S, et al. Phenotypic associations of Crohn's disease with antibodies to flagellins A4-Fla2 and Fla-X, ASCA, p-ANCA, PAB, and NOD2 mutations in a Swiss Cohort. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15:1358–1367.
94. Landers CJ, Cohavy O, Misra R, Yang H, Lin YC, Braun J, Targan SR. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002;123:689-99.
95. Mow WS, Vasiliauskas EA, Lin YC, et al. Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2004;126:414–424.
96. Targan SR, Landers CJ, Yang H, et al. Antibodies to CBir1 flagellin define a unique response that is associated independently with complicated Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2005;128:2020–2028.
97. Desplat-Jego S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson N, et al. Update on anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2007;13:2312-8.
98. Lawrance IC, Hall A, Leong R, Pearce C, Murray K. A comparative study of goblet cell and pancreatic exocrine autoantibodies combined with ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis*. 2005 Oct;11(10):890-7.

99. Demirsoy H, Ozdil K, Ersoy O, Kesici B, Karaca C, Alkim C et al. Anti-pancreatic antibody in Turkish patients with inflammatory bowel disease and first-degree relatives. *World J Gastroenterol*. 2010 December 7; 16(45): 5732–5738.
100. Kovacs M, Lakatos PL, Papp M, Jacobsen S, Nemes E, Polgar M, et al. Pancreatic autoantibodies and autoantibodies against goblet cells in pediatric patients with inflammatory bowel disease (IBD). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:429-35.
101. Price AB. Overlap in the spectrum of non-specific inflammatory bowel disease—'colitis indeterminate'. *J Clin Pathol*. 1978;31:567–577.
102. Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M, et al. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology* 2002;122:1242-7.
103. Schoepfer AM, Schaffer T, Seibold-Schmid B, Muller S, Seibold F. Antibodies to flagellin indicate reactivity to bacterial antigens in IBS patients. *Neurogastroenterol Motil*. 2008 Oct; 20(10):1110–8.
104. Bogdanos DP, Roggenbuck D, Reinhold D, Wex T, Pavlidis P, von Arnim U et al. Pancreatic-specific autoantibodies to glycoprotein 2 mirror disease location and behaviour in younger patients with Crohn's disease. *BMC Gastroenterol*. 2012; 12: 102.
105. Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut*. 1998;42:788–791.
106. Arnott ID, Landers CJ, Nimmo EJ, et al. Sero-reactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with disease severity and progression, but not NOD2/CARD15 genotype. *Am J Gastroenterol*.2004;99:2376–2384.
107. Zholudev A, Zurakowski D, Young W, Leichtner A, Bousvaros A. Serologic testing with ANCA, ASCA, and anti-OmpC in children and young adults with Crohn's disease and ulcerative colitis: diagnostic value and correlation with disease phenotype. *Am J Gastroenterol*.2004;99:2235–2241.
108. Papadakis KA, Yang H, Ippoliti A, et al. Anti-flagellin (CBir1) phenotypic and genetic Crohn's disease associations. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13:524–530.
109. Vandewalle-El KP, Colombel JF, Joossens S, et al. Detection of antisynthetic mannoside antibodies (ASigmaMA) reveals heterogeneity in the ASCA response of Crohn's disease patients and contributes to differential diagnosis, stratification, and prediction. *Am J Gastroenterol*. 2008 Apr; 103(4):949–57.
110. Thia KT, Sandborn WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Loftus EV Jr. Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. *Gastroenterology*. 2010 Oct; 139(4):1147–55.
111. Amre DK, Lu SE, Costea F, Seidman EG. Utility of serological markers in predicting the early occurrence of complications and surgery in pediatric Crohn's disease patients. *Am J Gastroenterol* 2006;101:645-52
112. Dubinsky MC, Lin YC, Dutridge D, Picornell Y, Landers CJ, Fariori S, et al. Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: immune responses predict disease progression. *Am J Gastroenterol* 2006;101:360–7.
113. Joossens S, Vermeire S, Van Steen K, Godefroidis G, Claessens G, Pierik M, et al. Pancreatic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:771–7.

114. Klebl FH, Bataille F, Huy C, Hofstädter F, Schölmerich J, Rogler G. Association of antibodies to exocrine pancreas with subtypes of Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:73-7.
115. Reumaux D, Colombel JF, Masy E, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic auto-antibodies (ANCA) in ulcerative colitis (UC): no relationship with disease activity. *Inflamm Bowel Dis*. 2000;6:270–274.
116. Oudkerk Pool M, Ellerbroek PM, Ridwan BU, Goldschmeding R, von Blomberg BM, Pena AS, et al. Serum antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease are mainly associated with ulcerative colitis. A correlation study between perinuclear antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and clinical parameters, medical, and surgical treatment. *Gut* 1993;34:46-50.
117. Roozendaal C, Pogany K, Hummel EJ, et al. Titres of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease are not related to disease activity. *QJM: Monthly Journal Of The Association Of Physicians*. 1999;92:651–658.
118. Solberg IC, Lygren I, Cvancarova M, et al. Predictive value of serologic markers in a population-based Norwegian cohort with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15:406–414.
119. Lindgren S, Floren CH, Lindhagen T, Starck M, Stewenius J, Nassberger L. Low prevalence of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis patients with long-term remission. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1995;7:563–568.
120. Aitola P, Miettinen A, Mattila A, Matikainen M, Soppi E. Effect of proctocolectomy on serum antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with chronic ulcerative colitis. *Journal Of Clinical Pathology*. 1995;48:645–647.
121. Mokrowiecka A, Gasiorowska A, Malecka-Panas E. pANCA and ASCA in the diagnosis of different subtypes of inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology*. 2007 Jul-Aug; 54(77):1443-8.
122. Sandborn WJ, Landers CJ, Tremaine WJ, Targan SR. Association of antineutrophil cytoplasmic antibodies with resistance to treatment of left-sided ulcerative colitis: results of a pilot study. *Mayo Clin Proc*. 1996;71:431–436.
123. Hoie O, Aamodt G, Vermeire S, et al. Serological markers are associated with disease course in ulcerative colitis. A study in an unselected population-based cohort followed for 10 years. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2008;2:114–122.
124. Vecchi M, Bianchi MB, Sinico RA, et al. Antibodies to neutrophil cytoplasm in Italian patients with ulcerative colitis: sensitivity, specificity and recognition of putative antigens. *Digestion*. 1994;55:34–39.
125. Dubinsky MC, Mei L, Friedman M, et al. Genome wide association (GWA) predictors of anti-TNFalpha therapeutic responsiveness in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16:1357–1366.
126. Jürgens M, Laubender RP, Hartl F, Weidinger M, Seiderer J, Wagner J, et al. Disease activity, ANCA, and IL23R genotype status determine early response to Infliximab in patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1811-9.
127. Ferrante M, Vermeire S, Katsanos KH, et al. Predictors of early response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13:123–128.
128. Palmon R, Brown SJ, Abreu MT. What is the role and significance of serum and stool biomarkers in the diagnosis of IBD? *Inflamm Bowel Dis*. 2008 Oct;14 Suppl 2:S187-9.

129. Oruç N, Özümetiz O, Osmanoglu N, Ilter T. Diagnostic value of serum procalcitonin in determining the activity of inflammatory bowel disease. *Turk J Gastroenterol* 2009; 20 (1): 9-12.
130. Mäkitalo L, Rintamäki H, Tervahartiala T, Sorsa T, Kolho KL. Serum MMPs 7-9 and their inhibitors during glucocorticoid and anti-TNF- α therapy in pediatric inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2012 Jul;47(7):785-94
131. Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M, Paradowski L, Gamian A. Lipid peroxidation markers in Crohn's disease: the associations and diagnostic value. *Clin Chem Lab Med*. 2012 Mar 3;50(8):1359-66.
132. Ogawa K, Matsumoto T, Esaki M, Torisu T, Iida M. Profiles of circulating cytokines in patients with Crohn's disease under maintenance therapy with infliximab. *J Crohns Colitis*. 2012 Jun;6(5):529-35.
133. Serada S, Fujimoto M, Terabe F, Iijima H, Shinzaki S, Matsuzaki S et al. Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2012 Nov;18(11):2169-79.
134. Dainese R, Galliani EA, De Lazzari F, D'Inca R, Mariné-Barjoan E, Vivinus-Nebot MH et al. Role of serological markers of activated eosinophils in inflammatory bowel diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2012 Apr;24(4):393-7.
135. Kolho KL, Valtonen E, Rintamäki H, Savilahti E. Soluble urokinase plasminogen activator receptor suPAR as a marker for inflammation in pediatric inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2012 Sep;47(8-9):951-5.
136. Lakatos PL, Kiss LS, Palatka K, Altorjay I, Antal-Szalmas P, Palyu E et al. Serum lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 are markers of disease activity in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Mar;17(3):767-77.
137. Saverymuttu SH, Peters AM, Crofton ME, et al. 111Indium autologous granulocytes in the detection of inflammatory bowel disease. *Gut*. 1985 Sep; 26(9):955-60.
138. Turkay C, Kasapoglu B. Noninvasive methods in evaluation of inflammatory bowel disease: where do we stand now? An update. *Clinics (São Paulo)*. 2010 Feb;65(2):221-31.
139. Annaházi A, Molnár T, Farkas K, Rosztóczy A, Izbéki F, Gecse K et al. Fecal MMP-9: a new noninvasive differential diagnostic and activity marker in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Feb;19(2):316-20.
140. Desai D, Faubion WA, Sandborn WJ. Review article: biological activity markers in inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther*. 2007; 25: 247-55.
141. Foell D, Frosch M, Sorg C, Roth J. Phagocyte-specific calcium-binding S100 proteins as clinical laboratory markers of inflammation. *Clin Chim Acta* 2004;344:37-51.
142. 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.
143. Johne B, Fagerhol MK, Lyberg T, Prydz H, Brandtzaeg P, Naess-Andresen CF, Dale I. Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Mol Pathol* 1997;50: 113-123
144. Sherwood RA. Faecal Markers of Gastrointestinal Inflammation. *J Clin Pathol*. 2012; 65(11):981-985.

145. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992;27:793-8.
146. Kok L, Elias SG, Witteman BJ, Goedhard JG, Muris JW, Moons KG et al. Diagnostic accuracy of point-of-care fecal calprotectin and immunochemical occult blood tests for diagnosis of organic bowel disease in primary care: the Cost-Effectiveness of a Decision Rule for Abdominal Complaints in Primary Care (CEDAR) study. *Clin Chem* 2012; 58:989-998
147. Sydora MJ, Sydora BC, Fedorak RN. Validation of a point-of-care desk top device to quantitate fecal calprotectin and distinguish inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 207-214.
148. Gaya DR, Lyon TD, Duncan A, Neilly JB, Han S, Howell J, et al. Faecal calprotectin in the assessment of Crohn's disease activity. *QJM* 2005;98:435-41.
149. Meling TR, Aabakken L, Røseth A, Osnes M. Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31:339-344.
150. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Scott D, Fagerhol MK, Roseth A, Bjarnason I. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut* 1999; 45: 362-366.
151. Baveye S, Elass E, Mazurier J, Spik G, Legrand D. Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein involved in the modulation of the inflammatory process. *Clin. Chem. Lab. Med.* 1999; 37: 281-6.
152. Kane SV, Sandborn WJ, Rufo PA et al. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am. J. Gastroenterol.* 2003; 98: 1309-14.
153. Angriman I, Scarpa M, D'Inca R et al. Enzymes in feces: useful markers of chronic inflammatory bowel disease. *Clin. Chim. Acta* 2007; 381: 63-8.
154. Joishy M, Davies I, Ahmed M et al. Fecal calprotectin and lactoferrin as noninvasive markers of pediatric inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2009; 48: 48-54.
155. Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2006; 12: 524-34.
156. Foell D, Kucharzik T, Kraft M et al. Neutrophil derived human S100A12 (EN-RAGE) is strongly expressed during chronic active inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 847-53.
157. Yang Z, Yan WX, Cai H, et al. S100A12 provokes mast cell activation: a potential amplification pathway in asthma and innate immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2007;119(1):106-114.
158. de Jong NS, Leach ST, Day AS. Fecal S100A12: a novel noninvasive marker in children with Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2006; 12: 566-72.
159. Yilmaz Y, Yonal O, Eren F, Atug O, Over Hamzaoglu H. Serum levels of soluble receptor for advanced glycation endproducts (sRAGE) are higher in ulcerative colitis and correlate with disease activity. *Journal of Crohn's and Colitis.* 2011;5(5):402-406.
160. Manolakis AC, Kapsoritakis AN, Georgoulas P, et al. Moderate performance of serum S100A12, in distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol.* 2010; 10:118.
161. Chung-Faye G, Hayee B, Maestranzi S, Donaldson N, Forgacs I, Sherwood R. Fecal M2-pyruvate kinase (M2-PK): a novel marker of intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.* 2007; 13:1374-8.

162. Czub E, Herzig K-H, Szaflarska-Popawska A *et al.* Fecal pyruvate kinase: a potential new marker for intestinal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 2007; 42:1147–50.
163. McDowell G, Gupta S, Dellerba M, Coppinger T, Levy RD, Keevil BG. Plasma concentrations of tumour dimeric pyruvate kinase are increased in patients with chronic cardiac failure. *Ann. Clin. Biochem.* 2004; 41: 491–3.
164. Hardt PD, Mazurek S, Toepler M *et al.* Faecal tumour M2 pyruvate kinase: a new, sensitive screening tool for colorectal cancer. *Br. J. Cancer* 2004; 91: 980–4.
165. Walkowiak J, Banasiewicz T, Krokowicz P, Hansdorfer-Korzon R, Drews M, Herzig K-H. Fecal pyruvate kinase (M2-PK): a new predictor for inflammation and severity of pouchitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 2005; 40: 1493–4.
166. Sipos F, Molnar B, Zagoni T, Berczi L, Tulassay Z. Growth in epithelial cell proliferation and apoptosis correlates specifically to the inflammation activity of inflammatory bowel diseases: ulcerative colitis shows specific p53- and EGFR expression alterations. *Dis. Colon Rectum* 2005; 48: 775–86.
167. Kaiser T, Langhorst J, Wittkowski H, *et al.* Faecal S100A12 as a non-invasive marker distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *Gut.* 2007 Dec; 56(12):1706–13.
168. Gisbert JP, Bermejo F, Pérez-Calle JL, Taxonera C, Vera I, McNicholl AG *et al.* Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm Bowel Dis.* 2009 Aug;15(8):1190-8.
169. 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(2):450–60.
170. Canani RB, de Horatio LT, Terrin G, Romano MT, Miele E, Staiano A, *et al.* Combined use of noninvasive tests is useful in the initial diagnostic approach to a child with suspected inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;42(1):9–15.
171. van Rhee PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ.* 2010;341:c3369.
172. Kostakis ID, Cholidou KG, Vaiopoulos AG, Vlachos IS, Perrea D, Vaos G. Fecal Calprotectin in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review. *Dig Dis Sci* (2013) 58:309–319.
173. 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(2):171-7.
174. 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(6):720–5.
175. D’Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Ferronato A, Fries W, Vettorato MG, *et al.* Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis.* 2007;22(4):429–37.
176. Schroder O, Naumann M, Shastri Y, Povse N, Stein J. Prospective evaluation of faecal neutrophil-derived proteins in identifying intestinal inflammation: combination of parameters does not improve diagnostic accuracy of calprotectin. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;26(7):1035–42.

177. Schoepfer AM, Trummeler M, Seeholzer P, Criblez DH, Seibold F. Accuracy of four fecal assays in the diagnosis of colitis. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(10):1697–706.
178. Langhorst J, Elsenbruch S, Koelzer J, Rueffer A, Michalsen A, Dobos GJ. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(1):162–9.
179. Schoepfer AM, Trummeler M, Seeholzer P, Seibold-Schmid B, Seibold F. Discriminating IBD from IBS: comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(1):32–9.
180. Sidler MA, Leach ST, Day AS. Fecal S100A12 and fecal calprotectin as noninvasive markers for inflammatory bowel disease in children. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(3):359–66.
181. Silberer H, Kuppers B, Mickisch O, Baniewicz W, Drescher M, Traber L, et al. Fecal leukocyte proteins in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Clin Lab* 2005;51:117-26.
182. Burri E, Beglinger C. Faecal calprotectin in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Biochem Med (Zagreb)*. 2011;21(3):245-53.
183. Gisbert JP, McNicholl AG, Gomollon F. Questions and answers on the role of fecal lactoferrin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2009 Nov; 15(11):1746–54.
184. Jeffery J, Lewis SJ, Ayling RM. Fecal Dimeric M2-Pyruvate Kinase (Tumor M2-PK) in the differential diagnosis of functional and organic bowel disorders. *Inflamm Bowel Dis*. 2009 Nov;15(11):1630-34.
185. Scarpa M, D’Inca R, Basso D, et al. Fecal lactoferrin and calprotectin after ileocolonic resection for Crohn’s disease. *Dis Colon Rectum*. 2007;50:861– 869.
186. Gaya DR, Lyon TDB, Duncan A, Neilly JB, Han S, Howell J et al. Faecal calprotectin in the assessment of Crohn’s disease activity. *Q J Med* 2005; 98: 435-441.
187. Sipponen T, Savilahti E, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M. Crohn’s disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with Crohn’s disease activity index and endoscopic findings. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:40-46.
188. Xiang JY, Ouyang Q, Li GD, Xiao NP. Clinical value of fecal calprotectin in determining disease activity of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 53-57.
189. Sipponen T, Kärkkäinen P, Savilahti E, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn’s disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28:1221-1229.
190. Walker TR, Land ML, Kartashov A, et al. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;44:414–422.
191. Langhorst J, Elsenbruch S, Mueller T, et al. Comparison of 4 neutrophil-derived proteins in feces as indicators of disease activity in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2005;11:1085–1091.
192. Shaoul R, Sladek M, Turner D, Paeregaard A, Veres G, Wauters GV et al. Limitations of fecal calprotectin at diagnosis in untreated pediatric Crohn’s disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012 Aug;18(8):1493-7.

193. Sipponen T, Kolho KL. Faecal calprotectin in children with clinically quiescent inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*.2010;45(7-8):872–7.
194. D'Incà R, Dal Pont E, Di Leo V, Benazzato L, Martinato M, Lamboglia F et al. Can calprotectin predict relapse risk in inflammatory bowel disease? *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2007-2014.
195. García-Sánchez V, Iglesias-Flores E, González R, Gisbert JP, Gallardo-Valverde JM, González-Galilea A et al. Does fecal calprotectin predict relapse in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis? *J Crohns Colitis* 2010; 4:144-152.
196. Ricanek P, Brackmann S, Perminow G, Lyckander LG, Sponheim J, Holme O, Høie O, Rydning A, Vatn MH. Evaluation of disease activity in IBD at the time of diagnosis by the use of clinical, biochemical, and fecal markers. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1081-1091.
197. Sugi K, Saitoh O, Hirata I, Katsu K. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am. J. Gastroenterol*. 1996; 91:927–34.
198. Caccaro R, D'Incà R, Pathak S, Sturniolo GC. Clinical utility of Calprotectin and Lactoferrin in patients with inflammatory bowel disease: Is there something new from the literature? *Expert Rev Clin Immunol*. 2012; 8(6):579-585.
199. Baert F, Moortgat L, Van Assche G, Caenepeel P, Vergauwe P, De Vos M et al. Mucosal healing predicts sustained clinical remission in patients with early-stage Crohn's disease. *Gastroenterology* 2010; 138: 463-468; quiz 463-468.
200. Schnitzler F, Fidler H, Ferrante M, Noman M, Arijs I, Van Assche G, et al. Mucosal healing predicts long-term outcome of maintenance therapy with infliximab in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*.2009;15(9):1295–301.
201. Røseth AG, Aadland E, Grzyb K. Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39:1017-1020.
202. Wagner M, Peterson CGB, Ridefelt P, Sangfelt P, Carlson M. Fecal markers of inflammation used as surrogate markers for treatment outcome in relapsing inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2008;14(36):5584–9;
203. Sipponen T, Björkesten CG, Färkkilä M, Nuutinen H, Savilahti E, Kolho KL. Faecal calprotectin and lactoferrin are reliable surrogate markers of endoscopic response during Crohn's disease treatment. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45:325-331.
204. Sipponen T, Savilahti E, Karkkainen P, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, et al. Fecal calprotectin, lactoferrin, and endoscopic disease activity in monitoring anti-TNF-alpha therapy for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(10):1392–8.
205. Sipponen T, Björkesten CG, Farkkila M, Nuutinen H, Savilahti E, Kolho KL. Faecal calprotectin and lactoferrin are reliable surrogate markers of endoscopic response during Crohn's disease treatment. *Scand J Gastroenterol*. 2009.
206. Buderus S, Boone J, Lysterly D, et al. Fecal lactoferrin: a new parameter to monitor infliximab therapy. *Dig Dis Sci*. 2004;49:1036 –1039.
207. Turner D, Leach ST, Mack D et al. Faecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase and S100A12 in severe ulcerative colitis: a prospective multicentre comparison of predicting outcomes and monitoring response. *Gut* 2010; 59: 1207–12.
208. Tibble JA, Bjarnason I. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2001;7:460–465.

209. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, et al. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut*. 2005 Mar; 54(3):364–8.
210. Walkiewicz D, Werlin SL, Fish D, Scanlon M, Hanaway P, Kugathasan S. Fecal calprotectin is useful in predicting disease relapse in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(5):669–73.
211. Diamanti A, Colistro F, Basso MS, Papadatou B, Francalanci P, Bracci F, et al. Clinical role of calprotectin assay in determining histological relapses in children affected by inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(9):1229–35.
212. Kallel L, Ayadi I, Matri S, Fekih M, Mahmoud NB, Feki M, et al. Fecal calprotectin is a predictive marker of relapse in Crohn's disease involving the colon: a prospective study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22(3):340–5.
213. Lin HM, Helsby NA, Rowan DD, Ferguson LR. Using metabolomic analysis to understand inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Apr; 17(4):1021–9.
214. Gupta NK, Thaker AI, Kanuri N, et al. Serum analysis of tryptophan catabolism pathway: Correlation with Crohn's disease activity. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Aug 5.
215. Ferdinande L, Demetter P, Perez-Novo C, et al. Inflamed intestinal mucosa features a specific epithelial expression pattern of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008 Apr-Jun; 21(2):289–95.
216. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, et al. Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human inflammatory bowel disease. *Clin Immunol*. 2004 Oct; 113(1):47–55.
217. Williams HR, Cox IJ, Walker DG, et al. Characterization of inflammatory bowel disease with urinary metabolic profiling. *Am J Gastroenterol*. 2009 Jun; 104(6):1435–44.
218. Hong SK, Maltz BE, Coburn LA, et al. Increased serum levels of L-arginine in ulcerative colitis and correlation with disease severity. *Inflamm Bowel Dis*. 2010 Jan; 16(1):105–11.
219. IBDChip. Available from:<http://www.progenika.com>
220. Arijs I, Li K, Toedter G, et al. Mucosal gene signatures to predict response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2009 Dec; 58(12):1612–9.
221. Arijs I, Quintens R, Van Lommel L, et al. Predictive value of epithelial gene expression profiles for response to infliximab in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010 Dec; 16(12):2090–8.
222. Burakoff R, Chao S, Perencevich M, et al. Blood-based biomarkers can differentiate ulcerative colitis from crohn's disease and noninflammatory diarrhea. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Aug; 17(8):1719–25.
223. Wu F, Guo NJ, Tian H, Marohn M, Gearhart S, Bayless TM et al. Peripheral blood microRNAs distinguish active ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Jan;17(1):241-50.
224. Paraskevi A, Theodoropoulos G, Papaconstantinou I, Mantzaris G, Nikiteas N, Gazouli M. Circulating MicroRNA in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2012 Oct;6(9):900-4.
225. M'Koma AE, Seeley EH, Washington MK, et al. Proteomic profiling of mucosal and submucosal colonic tissues yields protein signatures that differentiate the inflammatory colitides. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Apr; 17(4):875–83.

226. Meuwis MA, Fillet M, Lutteri L, et al. Proteomics for prediction and characterization of response to infliximab in Crohn's disease: a pilot study. *Clin Biochem.* 2008 Aug; 41(12):960–7.
227. Meuwis MA, Fillet M, Geurts P, et al. Biomarker discovery for inflammatory bowel disease, using proteomic serum profiling. *Biochem Pharmacol.* 2007 May 1; 73(9):1422–33.
228. Roda G, Caponi A, Benevento M, et al. New proteomic approaches for biomarker discovery in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2010 Jul; 16(7):1239–46.
229. Alex P, Gucek M, Li X. Applications of proteomics in the study of inflammatory bowel diseases: Current status and future directions with available technologies. *Inflamm Bowel Dis.* 2009 Apr;15(4):616–29.

9. Anexos

Tabela I. Prevalência individual de anticorpos serológicos (%)

Anticorpos	Imunoglobulinas	Prevalência (%)				Referências
		DC	CU	ODGI	Saudáveis	
ASCA	IgG e/ou IgA	29-80	0-29	0-23	0-16	43,60,78,79,81,84,87,88,94,95,105-107
ACCA	IgA	8-25	5-7	3-20	0.5-12	58,84,81,85,60
ALCA	IgG	17.7-27	3-8	9	2	77-79,81
AMCA	IgG	12-28	7	8	9	
Anti-L	IgA	11-26	3-7	23	1-10	60, 77,81,86
Anti-C	IgA	10-25	2-11	11	2-12	
Anti-OmpC	IgA	24-55	2-24	5-11	5-20	78,81,86,88,94,95, 106,107
Anti-I2	IgA	38-60	2-10	19	5-15	94,73,81,86,95,106
Anti-CBir1	IgG	50-56	6	14	8	64,96
Anti-Fla-X	IgG e/ou IgA	52-57	6-10	26	2-7	93,103
Anti-A4-Fla2	IgG e/ou IgA	48-59	6-8	29	0-7	93,103
pANCA	IgG	2-38	20-85	8	0-8	57,64,68,80,81,88,94,105,107
Anti-GP2	IgG e IgA	22-39	0-24	0-22.3	0-8	57,71,78,97,100,104
GAB	IgG e IgA	1.4-33	12-46	0-9.3	1.9	57,72 73,100

DC, Doença de Crohn; CU, Colite Ulcerativa; ODGI, outras doenças gastrointestinais; ASCA, anti-Saccharomyces cerevisiae; ACCA, anti-chitobioside carbohydrate antibody; ALCA, anti-laminaribioside carbohydrate antibody; AMCA, anti-mannobioside carbohydrate antibody; Anti-C, anti-chitin carbohydrate antibody; Anti-L, anti-laminarin carbohydrate antibody; Anti-OmpC, anti-outer membrane porin C antibody; Anti-I2, anti-I2 antibody; Anti-CBir1, anti-CBir1 antibody; anti-Fla-X, anti-flagellin X antibody; anti-A4-Fla2, anti-A4flagellin2 antibody; pANCA, atypical perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody. Anti-GP2, anti-glycoprotein 2 antibody; GAB, anti-goblet cells antibody;

Tabela II. Anticorpos na diferenciação entre DC e CU

	Anticorpos	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)	Referências
DC	ASCA+	37-72	82-100	87-95	38-68	3,60,78,79,81,85-89,97
	pANCA-	52	91	85	65	43,85-87,97
	ACCA	9-21	84-97	78-87	24-52	60,78,79,81,85-87
	ALCA	15-26	92-96	78-90	25-53	60,78,79,81,85-87
	AMCA	12-28	82-97	65-92	25-52	60,78,81,85-87
	Anti-L	10-25	93-97	90-91	30-40	60,81,86,87
	Anti-C	18-26	90-98	87-88	29-39	60,81,86,87
	Anti-OmpC	20-55	81-88	83	25	78,87
	Anti-I2	42	76	-	-	87
	PAB	22-46	77-100	69-100	48-75	57,73,97,98,100
	ASCA+/pANCA-	46-64	92-99	86-97	44-82	73,86-88,97
PAB+/ASCA+/pANCA-	16-34	97-100	100	66-72	98,100	
CU	pANCA+	50-71	75-98	74-95	49-84	3,57,86,87,97
	pANCA+/ASCA-	42-58	81-100	93-100	43	57,86,87,97
	GAB	12-46	98	75-93	70-74	57,87,98
	pANCA ou GAB+/PAB-	82	98	96	89	98

VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo

Tabela III. Associação de anticorpos com fenótipo DC (%)		
Anticorpos	Características fenotípicas DC	Referências
ASCA (ASCA+/pANCA-)	Atingimento GIS, Oral e ID Início precoce Penetrante e/ou estenosante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	17,84,85,60, 93,78,79,81 88,95,105,10 6,107,90- 92,109-112
ACCA	Sem atingimento ID	91,96
	Penetrante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	78,85
	Sem associação a fenótipo complicado	81,84
	Com ou sem atingimento ID (dados conflituosos)	60,78,84,85
ALCA	Penetrante e/ou estenosante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	78,84
	Sem associação a fenótipo complicado	78,81,85,91
	Sem atingimento ID	60,78,85
AMCA	Penetrante e/ou estenosante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	78,81
	Sem associação a fenótipo complicado	81,84
Anti-L	Atingimento ID Penetrante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	60,81,84
Anti-C	Sem atingimento ID Penetrante Forte associação com necessidade cirurgia	60,81
Anti-OmpC	Sem atingimento ID Penetrante e/ou Estenosante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	85,78,88,95, 106,108,92, 112,
Anti-I2	Sem atingimento ID Estenosante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	95,106,108, 112
Anti-CBir1	Atingimento ID* Início precoce Penetrante e/ou Estenosante **	108,96
Anti-A4-Fla2 Anti-Fla-X	Atingimento ID Estenosante e/ou Penetrante > risco de progressão para complicações e necessidade de cirurgia	93,103
pANCA (ASCA-/pANCA+)	Doença "UC-like" localizada ao Cólon Não-estenosante e não-penetrante Baixo risco de necessidade cirurgia	78,86,87,101

DC, Doença de Crohn; ASCA, anti-Saccharomyces cerevisiae; ACCA, anti-chitobioside carbohydrate antibody; ALCA, anti-laminaribioside carbohydrate antibody; AMCA, anti-mannobioside carbohydrate antibody; Anti-C, anti-chitin carbohydrate antibody; Anti-L, anti-laminarin carbohydrate antibody; Anti-OmpC, anti-outer membrane porin C antibody; Anti-I2, anti-I2 antibody; Anti-CBir1, anti-CBir1 antibody; anti-Fla-X, anti-flagellin X antibody; anti-A4-Fla2, anti-A4flagellin2 antibody; pANCA, atypical perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody. ID, Intestino Delgado; GIS, Gastrointestinal superior

