

A DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL

Desde a descrição original de “ileíte regional” por Burril Crohn em 1932, muitos avanços se efectuaram na definição e caracterização da Doença Inflamatória Intestinal (DII), na compreensão da sua patofisiologia, bem como no seu diagnóstico e tratamento. No entanto, vários enigmas e questões perduram ⁽¹⁾.

A patogénese da DII ainda não está perfeitamente determinada, sabendo-se que envolve interacções entre o ambiente e respostas imunes aberrantes em hospedeiros susceptíveis. A activação de células da mucosa, em particular as células epiteliais, em contexto de susceptibilidade genética podem constituir o evento inicial, desencadeado por estímulos infecciosos, e/ou ambientais. A imunidade inata reconhece padrões moleculares dos microorganismos invasores, reconhecidos pelos *TollLike Receptors* (TLR) ou receptores intracelulares da família *Nuclear Oligomerisation Domain* (NOD). Subsequentemente, ocorre infiltração de neutrófilos e monócitos/macrófagos, constituindo a marca da reacção inflamatória. Os produtos libertados pelos fagócitos, tais como citocinas, radicais de oxigénio e enzimas proteolíticas, potenciam a inflamação e causam dano tecidual. A desgranulação destas células pode também libertar proteínas contidas nos grânulos sem actividade pró-inflamatória mas sim com funções anti-inflamatórias, como é o caso da lactoferrina. Outras moléculas foram recentemente descritas como factores pró-inflamatórios na imunidade inata, nomeadamente a calprotectina que é libertada por células activadas nesta condição de stress, localizadas no citosol dos granulócitos. Estas moléculas pró-inflamatórias activam a microvasculatura das células endoteliais e causam quimioatração de mais leucócitos para a mucosa ⁽²⁾.

O mecanismo exacto de como os patogéneos contribuem para o desenvolvimento da DII é só parcialmente conhecido. Estima-se que múltiplos mecanismos de feedback positivos estejam envolvidos, amplificando este

processo e perpetuando a inflamação. Também esta sobreposição entre mecanismos exógenos e endógenos pode representar a base de recidivas no curso da doença, decorrentes de estímulos infecciosos ou outros ⁽²⁾.

A lesão da mucosa traduz-se em sintomas clínicos, alterações laboratoriais, endoscópicas e histológicas.

A DII é uma doença crónica, cursando com períodos de remissão e de agudização. Constitui ainda um desafio ao manejo do clínico, quer no seu diagnóstico, na determinação da actividade da doença e na terapêutica. Não existe nenhum exame absoluto usado para determinação de cada um dos aspectos enunciados. Pelo contrário, os médicos aplicam uma combinação de sintomas e índices clínicos, valores laboratoriais, exames imagiológicos, endoscópicos e histológicos para esse mesmo fim ⁽³⁾.

Tal como foi referido anteriormente, a actividade é determinada por uma variedade de critérios mormente clínicos, aos quais estão imputados subjectividade (incluindo a percepção do doente e do médico) denominados índices clínicos de actividade.

O CDAI (Crohn's Disease Activity Index) ⁽⁴⁾ é o índice clínico mais divulgado para avaliação da Doença de Crohn (DC) e foi validado em estudos prospectivos, sendo a principal ferramenta de aferição de intervenções terapêuticas ⁽⁵⁾⁽⁶⁾. Desenvolvido na década de 70 pelo National Cooperative Crohn's Disease Study (3), é um score complexo, moroso na sua execução e com algum grau de subjectividade. A sua aplicação resume-se essencialmente a ensaios clínicos. Assume baixa capacidade preditiva nos doentes com DC fistulizante ou estenosante ⁽⁷⁾.

O índice de Harvey-Bradshaw (IHB) ⁽⁸⁾ é um índice constituído por parâmetros clínicos que incluem o bem-estar geral, a dor abdominal, o número de dejectões, líquidas diárias, a massa abdominal e a presença de complicações. Os parâmetros são pontuados e é a soma de todos eles que nos permite ter um score numérico final, tal como o CDAI. É considerado como uma versão simplificada deste último. É facilmente aplicável sendo apenas necessária uma visita para cálculo do score, ao contrário do CDAI em que alguns dados implicam uma semana de registos.

O índice de actividade da Colite Ulcerosa (CU) mais consensualmente utilizado na avaliação da actividade é o índice de Montreal ⁽⁹⁾ que consiste numa escala clínico-laboratorial. Adapta o índice de Truelove-Witts ⁽¹⁰⁾ e a classificação proposta pelo Colégio Americano de Gastreenterologia ⁽¹²⁾⁽¹³⁾.

Os critérios utilizados nestes diversos índices são também facilmente influenciáveis por fenómenos não inflamatórios (estenoses, malabsorção de sais biliares, fístulas e procedimentos cirúrgicos) ou até mesmo pela coexistência de síndrome do intestino irritável, pelo que a sua correlação com os achados endoscópicos e histologia está longe de ser perfeita ⁽⁹⁾.

Para além dos problemas enunciados, os índices de actividade revelam-se inúteis na antecipação das recidivas, as quais permanecem mormente imprevisíveis. A doença, sobretudo nos períodos de actividade, afecta negativamente o bem-estar físico e psíquico do doente, o desempenho social e a capacidade de trabalho. Assim, a existência de uma qualquer variável analítica objectiva que se correlacionasse directamente com a clínica, lesões endoscópicas e histologia, capaz de cuidadosamente identificar os doentes com risco de recidiva de forma a, por um lado, ser possível antecipar as necessidades terapêuticas na fase de agudização e, por outro lado, evitar a prescrição generalizada da terapêutica de manutenção, seria uma mais-valia. Esta necessidade assume ainda maior importância na idade pediátrica, em que o limiar para a realização de exames complementares de diagnóstico é ainda maior que na idade adulta ⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾.

O tratamento médico consiste na diminuição da inflamação, quer pela imunomodulação, quer pela imunossupressão mas o seu manejo permanece sub-ótimo, não sendo possível em muitas situações evitar a progressão da doença ⁽³⁾. Estudos recentes apontam no sentido de que o alvo terapêutico na DII possa ser a cicatrização da mucosa ⁽¹⁾, de forma a aumentar o tempo de ausência de sintomas clínicos e a necessidade de internamentos.

MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE ACTIVIDADE DA DII

1. MARCADORES SÉRICOS

Os marcadores séricos apresentam globalmente baixa acuidade decorrente em grande parte da ausência de sensibilidade e especificidade para a inflamação no intestino ⁽¹³⁾, correlacionando-se pouco com actividade da doença, embora sejam acessíveis economicamente e confortáveis em termos de colheita.

A **proteína C reactiva (PCR)** é uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado em resposta à inflamação, infecção e lesão tecidual. É produzida sob influência da interleucina (IL) 6, 1 β e TNF α . Possui uma semi-vida curta (cerca de 19 horas), pelo que aumenta e diminui rapidamente com a inflamação. Infelizmente, esta correlação com a DII é inconsistente ⁽¹⁴⁾⁽¹⁶⁾. Constitui, no entanto, o melhor marcador sérico na diferenciação dos doentes com e sem actividade na DII ⁽³⁾. Esta correlação parece ser mais estreita na DC que na CU, reflectindo uma tendência global dos restantes marcadores laboratoriais. Uma explicação possível pode ser o facto que nesta a inflamação é confinada à mucosa, ao contrário da inflamação na DC que é, por definição, transmural ⁽¹⁷⁾. Por outro lado polimorfismos do gene da PCR (Single Nucleotide Polymorphisms- SNPs: CRP 717, CPR 1059, CRP 1444, CRP 286) identificados podem ser responsáveis por diferenças interindividuais, influenciando a produção de PCR quando estimulada ⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾. *Gross et al* concluíram ainda que os doentes com DC possuem níveis de séricos de IL 6 significativamente mais altos quando comparados com doentes com CU e ainda com o grupo controlo (respectivamente 68,5, 21,7 e 0%) o que poderia reflectir uma estimulação progressiva das células produtoras da mesma citocina ⁽¹⁸⁾.

A **velocidade de sedimentação eritrocitária (VS)** depende naturalmente da concentração no plasma, do número e tamanho dos

eritrócitos, pelo que quadros de anemia, talassémia e policitémia poderão afectar o seu resultado. O seu aumento e decréscimo processam-se de forma mais lenta em resposta ao quadro inflamatório que a PCR. Os **leucócitos** aumentam em quadros inflamatórios e quadros de stress. Nos casos de medicação com glucocorticoides podem aumentar ou, nos casos de terapêutica com azatioprina ou com 6-mercaptopurina, diminuir. As **plaquetas** também constituem um marcador inespecífico de estados inflamatórios. Por último, a **albumina** decresce em estados de inflamação, podendo no entanto também estar diminuída nos quadros de malnutrição e malabsorção ⁽¹⁸⁾.

Os **anticorpos antiSaccharomyces cerevisiae (ASCA)** e **perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA)** poderão ter alguma utilidade no diagnóstico, principalmente a conjunção de ambos: ASCA positivo e pANCA negativo estão associados a uma sensibilidade de 55% e especificidade de 93% o diagnóstico da DC; por outro lado, ASCA negativo e pANCA positivo estão associados a uma sensibilidade de 55% e especificidade de 89% o diagnóstico da CU. Apresentam-se assim como testes específicos mas não sensíveis para a DC e CU ⁽¹⁹⁾. No entanto, não apresentam qualquer utilidade para avaliação da actividade da DII.

Os marcadores do influxo e activação fagocitária parecem particularmente interessantes, dado ao papel da imunidade inata e da abundância destas células nos locais de inflamação, bem como constituem a principal fonte de citocinas inflamatórias, alvos de terapêuticas eficazes. No entanto estas citocinas, nomeadamente o TNF α e as IL 6, IL 1 e IL 8, constituem peptídeos altamente instáveis, sendo a sua metodologia de quantificação inaplicável na prática clínica ⁽²⁾.

2. OUTROS EXAMES COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

Exames imagiológicos, como a tomografia computadorizada, ressonância magnética, particularmente associados ao uso de contrastes orais, podem ser úteis na localização da inflamação intestinal, mas são geralmente dispendiosos e/ou invasivos, possuem sensibilidade e especificidade sub-ótima, e alguns expõem os doentes a radiação ionizante ⁽²⁰⁾.

Diversos estudos sobre DII evidenciaram aumento do número de leucócitos nas fezes. De facto a excreção fecal de leucócitos marcados com *Indium* (**cintigrafia com ¹¹¹In**), considerado o método *gold standard* da inflamação intestinal, foi usado como referência no estudo da actividade da DII, na qual foi documentada correlação objectiva entre os achados endoscópicos e a histologia ⁽¹²⁾. A sua particularidade consiste na recolha de fezes durante quatro dias para posterior quantificação da inflamação da mucosa intestinal ⁽²¹⁾. Estes achados transmitiram a ideia da translocação maciça de granulócitos para a mucosa intestinal em casos de inflamação, com o conseqüente aumento de proteínas inflamatórias nas fezes ⁽²²⁾. A sensibilidade imputada a este exame é de 97%, comparada com 79% de exames radiológicos baritados ⁽¹⁾. Caiu no entanto em desuso devido à exposição a radiação ionizante, à necessidade incómoda da recolha de fezes por longo período de tempo, ao seu custo económico dispendioso e à sua disponibilidade unicamente em centros de referência. ^{(2) (22) (23)}.

A **colonoscopia com biopsias** é considerada actualmente o método *gold standard* para avaliação da actividade da doença. No entanto trata-se de um método invasivo, está associado a preparação intestinal rigorosa e não é destituído de morbilidade ⁽¹³⁾. A **videocápsula endoscópica** (VCE) permite a observação de todo o intestino delgado e em algumas circunstâncias do cólon, no entanto é dispendiosa, não permite a recolha de tecido para estudo anatomo-patológico e só pode ser aplicada em doentes seleccionados de forma criteriosa (exclusão de doentes com eventuais estenoses) ⁽¹³⁾.

MARCADORES FECAIS

A razão óbvia para a pesquisa de marcadores fecais é o facto do conteúdo fecal estar em contacto directo com a mucosa intestinal, o que lhe confere maior especificidade para a doença intestinal, sobretudo da mucosa, reflectindo assim a presença e grau de inflamação da mesma ⁽¹³⁾.

Durante a última década, vários produtos leucocitários de excreção fecal têm emergido como candidatos a biomarcadores da inflamação intestinal mas os mais frequentemente utilizados são a lactoferrina e a calprotectina ⁽²⁴⁾.

Tem sido apontado que estes marcadores teriam utilidade na prática clínica em duas áreas: a primeira, no diagnóstico de doença orgânica em doentes com diarreia e dor abdominal na ausência de sinais de alarme (a determinação de marcadores fecais poderia ser utilizada na identificação de doenças orgânicas, sobretudo de natureza inflamatória); em segundo, na monitorização da actividade da DII, fornecendo acessoriamente indicador prognóstico. Outro potencial benefício é o facto da sua quantificação poder ser proporcional à actividade da própria doença ⁽¹³⁾⁽²²⁾⁽²⁵⁾.

Reforça-se que os marcadores fecais são marcadores de inflamação intestinal neutrofílica e a sua negatividade apenas pode ser interpretada como ausência de inflamação neutrofílica significativa. Este aspecto é de extrema importância, uma vez que muitas patologias intestinais, como doença celíaca, doença diverticular ou carcinoma colo-rectal não são caracteristicamente associados a infiltração neutrofílica significativa. Desta forma, a utilização dos marcadores fecais de inflamação no diagnóstico de doença orgânica pode reduzir significativamente a sua sensibilidade e comprometer a sua utilidade a este nível ⁽²⁰⁾.

Os marcadores fecais são particularmente relevantes uma vez mais na investigação de sintomas gastrointestinais nas crianças uma vez que o limiar de investigação invasiva neste grupo é mais alto que nos adultos e por esse motivo a perspectiva de exclusão de doença orgânica significativa através do estudo das fezes é ainda mais apelativa ⁽¹⁴⁾.

1. LACTOFERRINA

A lactoferrina é uma glicoproteína com 76-kDa ligada ao ferro que constitui um componente maioritário dos grânulos secundários dos polimorfonucleares neutrófilos. É libertada aquando desgranulação dos mesmos em contexto inflamatório, com efeito bactericida. Durante a inflamação intestinal, a sua concentração nas fezes aumenta e a sua presença nas fezes é proporcional à translocação de neutrófilos para o tracto gastro-intestinal ⁽²⁶⁾.

No entanto, é um membro da família da transferrina, não expressada só pelos neutrófilos, estando localizada também em vários líquidos humanos, nomeadamente leite humano, lágrimas, líquido sinovial e plasma. As células epiteliais também secretam lactoferrina para o muco, pelo que constituem também uma fonte de lactoferrina detectada nas fezes. A lactoferrina extracelular possui várias funções, nomeadamente homeostasia do ferro e defesa do hospedeiro ⁽²⁾.

Pode ser determinada nas fezes utilizando um método simples e barato (método de ELISA- Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), evidenciando boa estabilidade à temperatura ambiente ⁽²⁷⁾.

A acuidade diagnóstica da lactoferrina fecal (LF) parece ser superior aos marcadores serológicos mas a acuidade do doseamento da CF parece ser melhor ⁽²²⁾⁽²⁵⁾. Estudos comparativos entre os vários marcadores de inflamação fecal são escassos. Se por um lado *D'Incá et al* ⁽²⁷⁾, consideraram que a LF e a CF eram igualmente recomendáveis como marcadores de processo inflamatório intestinal, *Silberer et al* ⁽²⁸⁾ demonstraram superioridade da CF em relação à LF na capacidade de diferenciação entre doentes com DII e o síndrome do cólon irritável (SCI) (Area Under the Curve- AUC 0,872 vs 0,693, $p < 0,001$), bem como na sua correlação com a severidade da inflamação endoscópica. Também *Schroder et al* ⁽²⁴⁾ evidenciaram uma sensibilidade e especificidade da CF no diagnóstico de DII vs SCI superior (93% e 100%, respectivamente) quando comparados com LF (82% e 100%,

respectivamente). Estes mesmos autores afirmaram também que a determinação simultânea de vários biomarcadores fecais não parece aumentava a acuidade diagnóstica quando comparada com a determinação individual da CF.

Paralelismo entre os níveis de determinação da LF e a actividade estimada clínica, endoscópica e histologicamente têm sido confirmados, no entanto esta correlação é inferior na DC que na CU, principalmente nos doentes com DC unicamente de localização ileal ⁽²²⁾.

2. CALPROTECTINA

A calprotectina foi descrita pela primeira vez em 1980 por *Fagerhol et al* ⁽²⁹⁾. Também é conhecida como proteína L1, MRP- 8/14, S100A8/S100A9 ou calgranulina, é uma proteína 36 KDa ligada ao cálcio e ao zinco, constituindo uma proteína complexa com duas cadeias pesadas e uma leve, unidas por ligações não covalentes. Possui actividade antibacteriana e anti-fúngica, capaz de inibir metaloproteinasas e induzir apoptose em culturas de células. Constitui mais de 60% das proteínas do citosol dos neutrófilos pelo que constitui uma proteína abundantemente encontrada em todos os fluidos biológicos em proporção à inflamação existente a este nível ⁽¹³⁾. Os níveis elevados de calprotectina fecal (CF) relacionam-se com grande *turnover* leucocitário (a calprotectina é libertada aquando a morte celular) e à migração de neutrófilos para o lúmen intestinal. É resistente à degradação bacteriana presente no intestino, estável até mais de uma semana a temperatura ambiente e está distribuída uniformemente nas fezes. Desta forma o doente pode colhê-las confortavelmente no seu domicílio e enviá-las para o laboratório atempadamente. É facilmente quantificável utilizando método de ELISA o que constitui um método simples e não dispendioso. Apenas 5 g de fezes são suficientes para a sua quantificação ⁽²⁵⁾.

O limite superior da normalidade, entendendo-se esta numa definição alargada que inclui patologias funcionais intestinais sem componente inflamatório, não é consensual, tendo sido no entanto sugerido 50 µg/g ⁽²⁰⁾ ⁽³⁰⁾.

No entanto, deve ser tido em consideração que valores de diferentes *cut-off* variam consoante o contexto clínico dos trabalhos (maiores em doentes com condições inflamatórias definidas, inferiores em contexto de rastreio) e os seus valores só deverão ser comparados quando usamos o mesmo sistema. Vários estudos com especial enfoque na avaliação da precisão diagnóstica da CF evidenciaram melhor acuidade diagnóstica com a utilização de um *cut-off* de 100 µg/g ⁽³¹⁾ em doentes com quadros de inflamação intestinal conhecida, havendo ainda autores que aumentam o valor para 150 ⁽²¹⁾, 167 ⁽²⁵⁾ ou ainda até 400 µg/g ⁽³²⁾.

A CF elevada não é específica de DII e a sua elevação pode ser encontrada em pacientes com carcinoma colo-rectal, pólipos adenomatosos, e infecções gastro-intestinais ⁽²⁵⁾. Outros factores que podem estar associados a CF aumentada são: idade avançada, obesidade, inactividade física, consumo de fibras ⁽³³⁾ e hemorragia nasal ou menstrual ⁽³⁴⁾. Também o consumo de anti-inflamatórios não-esteroides pode aumentar os níveis de CF (tal como a LF), provavelmente devido à enteropatia induzida por estes fármacos, pelo que se preconiza a sua suspensão prévia atempada à recolha da amostra ⁽³⁵⁾ ⁽³⁶⁾.

No que respeita à **identificação de doença orgânica em doentes sintomáticos**, existem diversos estudos para a determinação da sensibilidade e especificidade da CF. Uma compilação de todos estes estudos publicada em 2009 ⁽²⁵⁾, num total de 2475 doentes, revelou uma sensibilidade média de 83% (95% IC, 81-84%) e a especificidade de 84% (95% IC, 82-85%). Algo que é transversal a todos estes artigos, é superioridade da acuidade diagnóstica da CF à determinação da VS e PCR (isoladamente ou estes 2 elementos determinados em simultâneo).

Deste ponto de vista, a determinação da CF poderia ter importância na identificação inicial de doentes que, na presença de sintomas, teriam baixa probabilidade de padecer de patologia orgânica devido ao seu elevado valor preditivo negativo ⁽²⁰⁾. Tem sido preconizada a sua utilização como filtro na selecção de doentes para a realização de estudos complementares, nomeadamente endoscópicos. *Sutherland et al* ⁽¹³⁾ afirmaram que em pacientes

sem sinais de alarme um resultado negativo da CF seria tranquilizante, não sendo necessário realização de mais exames complementares de diagnóstico. No entanto esta aplicação não está completamente demonstrada e a CF não deve ser considerada como marcador de doença orgânica mas sim como marcador de inflamação neutrofílica intestinal como já foi referido. A utilização deste teste não específico na detecção de doença orgânica baixa a sua sensibilidade e compromete a utilidade do mesmo ⁽²⁰⁾.

Particularizando no **diagnóstico de DII** em doentes com clínica compatível, vários estudos têm sido executados e de uma compilação efectuada ⁽²⁵⁾, englobando um total de 754 doentes, a sensibilidade média foi de 80% (95% IC, 77-82%) e a especificidade de 76% (95% IC, 72-79%) considerando a totalidade de doentes com DII. Particularizando na DC, a sensibilidade é de 83% (95% IC, 80-87% e especificidade de 85% (95% IC, 81-89%), enquanto que na CU a sensibilidade é de 72% (95% IC, 66-79%) e especificidade de 74% (95% IC, 67-80%). Esta diferença pode ser justificada pela presença de valores de CF mais elevados na DC. Apesar deste último ponto, a distinção entre estas 2 entidades através da CF não é possível. Também as concentrações de CF entre DII e CCR não têm diferenças significativas ⁽³¹⁾.

A precisão da CF no diagnóstico da DII é claramente superior aos marcadores séricos PCR, VS, ASCA e ANCA e a associação entre valores laboratoriais (VS, PCR) não aumentaram a capacidade predictiva da CF.

Curioso é o facto de níveis aumentados de CF estarem presentes em cerca de 50% dos **familiares** em primeiro grau de pacientes de DC, assintomáticos ⁽³⁷⁾. Também em familiares em primeiro grau de doentes com CU esses valores aumentados têm sido observados ⁽³⁸⁾.

Estes dados parecem indicar alta prevalência de inflamação intestinal subclínica em parentes de primeiro grau de doentes com DII. Dúvidas persistem se este facto resulta de predisposição genética, ambiental ou

interacção entre as duas. Neste contexto, também os conjugues destes mesmos doentes têm sido alvo de estudo. Os mesmos autores concluíram que no geral, os familiares de doentes com CU apresentavam valores de CF significativamente superiores aos controlos mas no entanto inferiores aos familiares em 1º grau. Estudos na DC⁽³⁷⁾ revelaram que 10% dos conjugues de doentes com DC apresentavam valores de CF aumentados. Todos estes estudos sugerem que tanto factores ambientais como genéticos são responsáveis pelo aumento da CF por provável inflamação intestinal subclínica.

A utilidade do doseamento da CF mostra-se de maior proveito na **determinação da existência de inflamação em doentes com diagnóstico de DII** já estabelecida, nomeadamente na sua aplicabilidade para identificação de agudizações e monitorização da resposta terapêutica⁽³⁹⁾. A grande maioria dos clínicos faz a sua avaliação através dos sinais e sintomas do doente uma vez que a sua objectivação endoscópica não pode ser utilizada frequentemente. A monitorização de actividade da DII de forma simples, fidedigna e não invasiva, representaria um benefício clínico e económico enorme. A CF foi alvo de vários estudos e alguns resultados contraditórios têm sido publicados relativamente à acuidade de diagnóstico de actividade e recidiva em doentes com DII, nomeadamente na DC e CU.

Kolho et al⁽⁴⁰⁾ monitorizaram níveis de CF em crianças com diagnóstico de DII sob terapêutica com glucocorticoides. Os autores evidenciaram que os valores reduziam mas raramente para níveis considerados normais, o que era sugestivo da existência de inflamação subclínica silenciosa. A interrupção do tratamento resultava no aumento dos valores de CF, sugerindo aumento na inflamação da mucosa. *Costa et al*⁽⁴¹⁾ encontraram uma correlação positiva com os scores clínicos, tanto na DC como na CU ao estudar doentes com DII (131 doentes), lesões neoplásicas (26 doentes) e SCI (48 doentes), considerando-o como um bom marcador de inflamação intestinal.

Também a reprodutibilidade dos dados tem sido questionada. Num estudo envolvendo 2 colheitas de amostras em 2 dias consecutivos de 63 doentes com DC em actividade ligeira a moderada (IHB)⁽⁴²⁾, verificou-se que

as variações ocorriam entre valores dentro do mesmo território definido como positivo ou negativo.

Uma correlação significativa tem sido também demonstrada entre os valores da CF, achados endoscópicos e histológicos. A concentração de CF prediz a severidade da inflamação colo-rectal, correlacionando-se intimamente com graus avançados de inflamação e mais amiúde com a histologia do que com o aspecto macroscópico.

Jones et al⁽¹⁶⁾ compararam os valores de CF e os achados endoscópicos (classificados de acordo com o Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD) em 164 doentes com DC e concluíram que a CF atinge valores significativamente superiores em doentes com actividade endoscópica mais severa da doença (SES-CD >7). Também *Sipponen et al*⁽⁴⁷⁾ particularizaram o estudo da CF na DC estudando 87 doentes. Concluíram que apenas a localização cólica e ileocólica da DC apresentavam correlação com a CF, sendo esta correlação ausente na localização exclusivamente ileal da doença.

Já *Schoepfer et al*⁽¹⁷⁾ estudaram 134 doentes com CU e compararam os valores de CF com os achados endoscópicos, classificados com score de Racmilewitz. Encontraram uma correlação significativa entre ambos e acrescentaram à CF a capacidade de discriminação da actividade da doença (ausente, ligeira, moderada e severa).

Há autores que defendem que a determinação da CF refelcte melhor a actividade na CU que na DC⁽²⁵⁾. A correlação deficitária e, em alguns estudos, ausente entre a CF e a actividade da DC, avaliada pelo CDAI pode estar em relação com o facto de se tratar de um score predominantemente clínico, portanto subjectivo e indirecto, não dotado da capacidade de detectar actividade subclínica. Desta forma, doentes com DC catalogada como estando em remissão, poderão apresentar CF elevada, lesões endoscópicas macroscópicas e evidência histológica de inflamação intestinal significativa.

Tem sido também postulado que a CF traduza melhor a actividade na DC⁽⁴³⁾ quando esta assume um comportamento eminentemente inflamatório,

ao contrário de quando esta apresenta um comportamento estenosante ou fistulizante ⁽⁴⁴⁾. Um outro factor incontornável consiste no facto da CU ser caracterizada por inflamação a nível do cólon e nas suas camadas mais superficiais com a inerente infiltração neutrofílica a este nível. Por outro lado, na DC ocorre envolvimento do intestino delgado (associado portanto a maior tempo de trânsito intestinal para recolha da amostra) e a acumulação de células inflamatórias, nomeadamente neutrófilos, se realizar em camadas mais profundas da parede intestinal. Estas diferenças podem também reflectir um mecanismo de inflamação distinto, uma vez que a remissão clínica na CU cursa com normalização endoscópica e histológica em mais de metade dos casos ⁽⁴⁵⁾, enquanto nos doentes com DC esta correlação é observada em menor percentagem ⁽⁴⁶⁾.

Uma das aplicações mais promissoras da CF é a **capacidade de prever recidiva clínica e ser marcador de cicatrização da mucosa intestinal**. A DII é uma doença crónica que cursa com períodos de agudização, como já foi referido, sendo estes maioritariamente imprevisíveis. A inflamação é um processo contínuo cujo grau de actividade estimado (determinado por um marcador biológico) pode fornecer valor pré-sintomático tradutor de risco de recidiva iminente. É provável que exista um limiar de actividade da doença até o qual o doente permaneça assintomático. A identificação de um marcador com capacidade seleccionar os doentes e individualizar a estratégia terapêutica de acordo com o risco de recidiva, evitando a prescrição generalizada de terapêutica de manutenção, seria certamente uma mais-valia.

Para avaliar essa capacidade, *D'Incá et al* ⁽⁴⁸⁾ estudaram 97 doentes com CU e 65 doentes com DC, tendo identificado uma correlação significativa entre CF e probabilidade de recidiva clínica de DC e na CU. No entanto, na DC, esta correlação foi mais significativa quando esta assumia localização cólica. Esta ideia foi também reforçada por *Tibble et al* ⁽⁴⁹⁾ ao analisarem 43 doentes com DC e 37 com CU em remissão. Neste estudo, os autores concluíram que a CF é um marcador capaz de prever recidiva clínica em ambas as doenças

mas com sensibilidade e especificidade inferiores na primeira (sensibilidade e especificidade respectivamente 84/61% e 90/83%). Os valores de CF eram maiores nos doentes com recidiva precoce, embora sem significado estatístico.

Costa et al ⁽⁴³⁾ descreveram uma probabilidade 2 vezes superior de doentes com DC e CF aumentada (> 150 µg/g) recidivarem, enquanto nos doentes com CU essa probabilidade era 14 vezes maior, sugerindo que a CF é um factor preditivo de recidiva clínica, mais forte na CU que na DC. A sensibilidade e especificidade para CU foi de 89 e 82%, respectivamente enquanto na DC, foi de 87 e 43 %.

Gisbert et al ⁽⁵⁰⁾ ao estudarem um universo de 163 doentes (89 com DC e 74 com CU) determinaram para a globalidade dos doentes que AUC para predição de *flares* de 0,730, com *cut-off* de 167 µg/g (sensibilidade 69%, especificidade de 75%, VPP 35% e VPN 93%), particularizando na CU, AUC de 0,69, *cut-off* de 164 µg/g (sensibilidade 69%, especificidade de 74%) e para a DC AUC de 0,77, *cut-off* de 169 µg/g (sensibilidade 69%, especificidade de 76%). Ao considerar unicamente os doentes com localização cólica, a AUC sobe para 0,85.

Estes estudos corroboram a utilização do doseamento da CF na monitorização da actividade da DII.

ABORDAGEM DO DOENTE COM DII APÓS TERAPÊUTICA CIRÚRGICA

A proctocolectomia com anastomose ileo-anal com bolsa constitui a cirurgia mais frequentemente realizada nos doentes com **CU** ⁽⁵¹⁾. Após este procedimento, entre 10 a 40% dos adultos e crianças desenvolveram *pouchitis*, havendo alguns autores que estimam incidência até 94% em seguimentos a longo prazo. O correcto diagnóstico de *pouchitis* requer realização de exame endoscópico com biopsias de forma a identificar as alterações anatomo-patológicas: infiltrado neutrofílico, abscessos das criptas e ulcerações. Valores de CF surgem aumentados nestes casos, permitindo à CF estabelecer a

distinção entre bolsa inflamada vs não inflamada (sensibilidade de 100% e especificidade de 100% no estudo de *Thomas et al* ⁽⁵²⁾ considerando unicamente doentes com CU.

No entanto a CF revela-se de menor interesse, sobretudo pela acessibilidade endoscópica da bolsa cirúrgica.

Um dos problemas na abordagem terapêutica da **DC** está relacionado com a recorrência após ressecção intestinal ⁽⁵³⁾. Apesar do aumento da panóplia de fármacos imussupressores e da sua maior utilização, mais de 70% dos doentes irão ser submetidos a ressecção intestinal durante o curso da sua doença ⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾. A recorrência pós-cirúrgica, quer na anastomose ileocólica, quer no íleon neoterminal é uma característica da DC. Esta ocorre quase sempre proximamente à anastomose ⁽⁵⁴⁾, precede a clínica que não surge até que a inflamação esteja bastante avançada ⁽⁵⁶⁾.

A severidade da recorrência endoscópica constitui o melhor factor para auspiciar a evolução clínica ⁽⁵⁶⁾. Assim, pacientes com lesões endoscópicas mais severas possuem maior risco de recidiva clínica quando comparado com doentes sem lesões endoscópicas ou com lesões mais frustres.

Os parâmetros clínicos que parecem influenciar o prognóstico são a actividade pré-cirúrgica da doença, a indicação da cirurgia (pacientes que são submetidos a cirurgia por complicações perforantes, como abscessos ou fístulas, têm uma maior incidência de recorrência sintomática; contrariamente aos doentes com comportamento fibro-estenotante em que a doença tende a permanecer indolente após ressecção), o número de ressecções cirúrgicas (os pacientes submetidos à segunda ressecção cirúrgica também possuem maior risco de recorrência sintomática que os pacientes após a primeira ressecção) e os hábitos tabágicos ⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁷⁾. Também o sexo feminino ⁽⁵⁸⁾, o início da doença em idades precoces e um curto espaço de tempo entre o diagnóstico e a realização da cirurgia, localização ileal e cólica simultaneamente e a utilização de corticoterapia prévia à cirurgia, têm sido associados à recorrência pós cirúrgica ⁽⁵⁷⁾. O único factor modificável é o consumo tabágico, pelo que a sua cessação deverá ser enfatizada.

A recorrência endoscópica é observada em quase 73% dos doentes 1 ano após ressecção curativa (20% dos quais sintomáticos) e em 85 % após 3 anos (34% dos quais sintomáticos) ⁽⁵⁹⁾. Noutros trabalhos, essa percentagem atinge mesmo 93% aos 12 meses (com 37% sintomáticos), segundo alguns autores ⁽⁵⁶⁾. Novas lesões foram até descritas algumas semanas após a cirurgia ⁽⁶⁰⁾. Estima-se que 15-45% dos destes doentes necessitem de outra intervenção cirúrgica aos 3 anos, 26-65% aos 10 anos e 33-82% aos 15 anos ⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾.

Assim, uma sequência clara de eventos foi estabelecida: primeiro, a recorrência de novas lesões, seguindo-se a evolução destas lesões da mucosa para processo transmural com o conseqüente desenvolvimento de sintomas e a ocorrência de complicações ⁽⁶⁰⁾.

O score de Rutgeerts é o método utilizado na uniformização e mensuração da recorrência endoscópica no íleon neoterminal dos doentes com DC já submetidos a ressecção ileo-cecal. Neste estudo de *Rutgeerts et al* ⁽⁵⁹⁾ demonstraram que a evolução clínica pós cirúrgica da DC é melhor antecipada pela severidade das lesões endoscópicas encontradas durante o primeiro ano após a realização da mesma. Estes mesmo autores concluíram que nos pacientes sem lesões ou com lesões endoscópicas ligeiras (Score de Rutgeerts i0 e i1- ver classificação na metodologia), o surgimento de sintomas ou complicações de recidiva da doença eram muito raros e 80% destes doentes mantinham aspecto endoscópico sobreponível aos 3 anos. Em contraste, doentes com classificações endoscópicas de i3 e i4, tinham muito pior prognóstico, desenvolvendo complicações da doença nos anos subsequentes, isto é, 92 % destes doentes tinham progressão ou evolução severa aos 3 anos. Este mesmo autor sugeriu um grupo de risco intermédio, classificados como i2, em que cerca de 60 % dos doentes se mantinham com aspecto endoscópico idêntico e 40 % ocorria agravamento das lesões.

Tem sido postulado que um estudo endoscópico destes doentes pós com observação do íleon neoterminal e da anastomose cirúrgica 6-12 meses após cirurgia pode ser útil na determinação da terapêutica a instituir ⁽⁶⁰⁾.

A aplicabilidade do **CDAI** como índice clínico nos doentes pós cirúrgicos é menos consensual pela correlação deficitária que existe entre este índice e os achados endoscópicos. Foi designado por alguns autores como destituído de utilidade neste universo de doentes ⁽⁶⁰⁾. Ainda assim, *Walters et al* ⁽⁶²⁾ avaliaram recentemente a sua aplicabilidade nestes doentes e concluíram que CDAI<150 apresenta uma boa capacidade de identificação de doentes sem recorrência endoscópica (valor preditivo negativo de 0,91). No entanto, devido à sua baixa sensibilidade e especificidade (sensibilidade 0,70; especificidade 0,81 e valor preditivo positivo de 0,50), os autores sugerem que este não seja utilizado isoladamente. Estas dificuldades resultam do facto de valorização no status pós cirúrgico ser problemático uma vez que a sintomatologia pode estar relacionada não só com a doença como com complicações pós-cirúrgicas (por exemplo aderências com crises suboclusivas, malabsorção dos sais biliares ou consequência da modificação da anatomia) ou coexistência de sintomas funcionais que não beneficiam com a terapêutica imunossupressora.

O método *gold standard* para a determinação de recorrência da DC consiste na realização de **colonoscopia com ileoscopia**. No entanto, devido à necessidade de preparação intestinal e de se tratar de um método invasivo, apresenta baixa *compliance* ⁽⁶³⁾. Desta forma, um método não invasivo capaz de identificar e graduar o subgrupo de pacientes com recorrência da doença apresentaria grande utilidade clínica. Várias tentativas têm sido efectivadas no sentido de providenciar este método alternativo.

A **colonografia virtual** apresenta-se como um método não invasivo, com eventual indicação em casos de estenoses infranqueáveis pós-cirúrgicas pelo colonoscópio. A sua utilização não é preconizada nem constitui um método alternativo à colonoscopia óptica devido aos falsos negativos a que está associada neste subgrupo de doentes, bem como à exposição a radiação ionizante ⁽⁶⁴⁾

A **ecografia transabdominal** parece evidenciar boa sensibilidade e alta especificidade (respectivamente 79 e 95%) no diagnóstico de recidiva e pós cirúrgica, com um espessura de parede de ansa > 5mm indicadora de recidiva severa. Os mesmos autores concluíram que este meio complementar para

diagnóstico e gradação da recidiva clínica deverá ser utilizado em doentes com baixa *compliance* ao exame endoscópico ⁽⁶⁵⁾. Esta modalidade associada à ingestão de contraste (cerca de 375 mL de polietilenoglicol) permite uma maior acuidade na quantificação do espessamento da parede intestinal causada pelo processo inflamatório intramural, aumentando a sua sensibilidade diagnóstica ⁽⁶⁶⁾. Uma espessura > 3,5 mm parece constituir o valor de *cut-off* de distinção entre anastomose ileo-cólica normal e anómala, permitindo ainda a determinação da extensão das lesões intra-murais ⁽⁶⁷⁾. Poderá ainda fornecer dados sobre a dilatação luminal de ansas do intestino delgado (diâmetro luminal > 2,5 cm) ou estenoses (diâmetro luminal < 1 cm), anomalias na motricidade, presença de fístulas, adenopatias mesentéricas e abscessos. Tem uma boa correlação com os achados endoscópicos (espessura da parede vs score de Rutgeerts), podendo ser utilizada como método não invasivo alternativo ⁽⁶⁶⁾. Como principal limitação, apresenta a subjectividade, com os resultados a dependerem significativamente da experiência do radiologista.

Também a **enteroclise por RM** ⁽⁶⁸⁾ que permite a observação luminal, da parede intestinal e das anomalias extra-murais foi estudada para avaliar a sua aplicabilidade na recidiva de DC pós cirúrgica. Foi efectuada uma proposta de score imagiológico, este revelou a capacidade de identificação de recorrência endoscópica, com boa concordância como score de Rutgeerts.

A **VCE** é um método de estudo de todo o intestino delgado, introduzida no ano 2000. Tem a capacidade de detecção de pequenas lesões e é bem tolerada pelos doentes, tendo grande aceitação entre eles. A sua utilidade foi estudada por vários autores que concluíram que a VCE tem menor capacidade de diagnosticar recidiva de DC no íleon neoterminal mas é capaz de detectar lesões localizadas no jejuno e no íleon mais proximal ⁽⁶⁹⁾⁽⁷⁰⁾. Desta forma, a VCE não constitui um substituto à ileocolonoscopia, representando apenas uma alternativa como técnica não invasiva na pesquisa de recorrência pós-cirúrgica ⁽⁷⁰⁾. De destacar o risco de retenção da VCE nos doentes com DC nos doentes com estenoses, o que poderá inviabilizar a sua utilização ⁽⁷¹⁾.

A **enteroscopia** (de único ou de duplo balão) constitui uma alternativa à incapacidade de entubação até ao íleon neoterminal, permitindo assim a visualização directa da mucosa e a eventual colheita de amostras de tecido

intestinal. No entanto, é um técnica dispendiosa, morosa, disponível em apenas alguns centros e requer maioritariamente sedação anestésica ⁽⁷²⁾.

Constata-se assim que, apesar de alguns avanços recentes nas alternativas à ileocolonosopia, não foi encontrado até ao momento um método não invasivo que se afigure como opção viável.

A CF, pelas características enunciadas no início do trabalho, pode posicionar-se como essa alternativa não invasiva. Nesse sentido, os autores desenvolveram um protocolo, no qual os valores de CF serão comparados com os achados endoscópicos, classificados de acordo com índice de Rutgeerts e, secundariamente, a CF será comparada também com os valores laboratoriais (hemoglobina, leucócitos, plaquetas e proteína C reactiva). Desta forma, pretende-se determinar a acuidade da CF no diagnóstico de recidiva endoscópica (definida no material e métodos) utilizando o valor de *cut-off* recomendado. Para além disso, pretende-se determinar um novo *cut-off* com maior sensibilidade e especificidade e verificar a existência de correlação entre os valores de CF, índice endoscópico e parâmetros analíticos.

MATERIAL E MÉTODOS

DOENTES

Foi elaborado um estudo prospectivo, desenvolvido entre Dezembro de 2010 e Maio de 2011, onde se englobaram 30 doentes com seguimento habitual em consulta de DII nos Hospitais da Universidade de Coimbra, com diagnóstico de DC inequívoco, de localização ileal/ileocólica com antecedentes de cirurgia intestinal e sem doença peri-anal significativa.

Os doentes elegíveis estavam clinicamente assintomáticos (definidos por CDAI < 150), possuíam tempo mínimo desde a cirurgia (ressecção ileal ou ileocólica sem se estender para além do ângulo hepático) igual ou superior a 6 meses e com terapêutica estabilizada há pelo menos 12 semanas.

As colonoscopias consideradas foram exames totais, isto é, com observação da anastomose cirúrgica e exploração do íleon neoterminal), realizadas com e sem anestesia e executadas por gastroenterologistas experientes em DII. Os doentes cumpriram a preparação intestinal habitual, com 4 L de polietileno glicol. Os achados foram classificados em 5 classes, de acordo com índice de Rutgeerts: i0 se ausência de lesões no íleon terminal; i1 se presença de 5 ou menos erosões no íleon terminal; i2 se mais de 5 erosões no íleon terminal com mucosa indemne entre elas ou lesões maiores limitadas à anastomose ileocólica; i3 ileíte aftosa difusa no íleon neoterminal com mucosa extensamente inflamada; i4 inflamação difusa com úlceras de grandes dimensões, nódulos e/ou estenoses. Estas lesões endoscópicas foram divididas em 2 grupos: i0 e i1, considerados como ausência de recidiva endoscópica; e i2, i3 e i4 considerados como recidiva endoscópica.

A colheita de fezes decorreu no domicílio, em contentor plástico esterilizado, previamente ao início da preparação intestinal ou uma semana após a realização de colonoscopia.

O doseamento da CF foi efectuado no Laboratório de Patologia Clínica do nosso hospital utilizando o método quantitativo ELISA (EK-CAL; Calprotectin ELISA, Buhlmann, Suíça) que recomenda a utilização do *cut-off* de 50 µg/g. A sua quantificação foi efectuada num período máximo de 120 dias após conservação a -20° e o tempo mediado desde a colheita de fezes e a sua recepção foi inferior a 7 dias, com conservação em meio frio. O tempo decorrido entre a colheita da amostra fecal, a realização de colonoscopia e a avaliação analítica (determinação da hemoglobina, plaquetas, leucócitos e proteína C reactiva) foi, no máximo, 4 semanas.

Todos os doentes deram o seu consentimento informado para inclusão no estudo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando o programa SPSS para Windows 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística.

Dados demográficos e clínicos foram recolhidos através de entrevista clínica e pesquisa no processo único do doente.

Foi criada tabela *crosstabs* de ambas as variáveis categóricas (valores de CF e aspecto macroscópico da colonoscopia expresso no score de Rutgeerts) com respectivo cálculo da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN).

As variáveis contínuas foram testadas para a sua distribuição normal utilizando o teste Shapiro-Wilk. O teste de Mann-Whitney U foi o teste não paramétrico utilizado na comparação das médias dos valores de CF, PCR e leucócitos entre os 2 grupos. O teste T de Student foi o teste paramétrico

utilizado no cálculo das médias de hemoglobina e plaquetas entre os dois grupos.

A relação entre a CF os achados endoscópicos, bem como os parâmetros analíticos e os achados endoscópicos (definidos como colonoscopia negativa para recidiva endoscópica se score de Rutgeerts ≤ 1 e colonoscopia positiva se score de Rutgeerts ≥ 2) foi calculada com curvas Receiver Operation Characteristic (ROC), nomeadamente com a área debaixo da curva (AUC). O seu valor varia entre 0 e 1, com o valor de 0.5 correspondendo ao expectável exclusivamente pelo acaso e o 1.0 à discriminação perfeita. Geralmente, uma AUC $> 0,7$ indica um teste útil, AUC entre 0,7 e 0,8 é classificado como aceitável, entre 0,8 e 0,9 bom teste e $> 0,9$ como excelente discriminação.(26) Foi ainda determinado nesta curva um ponto de corte que melhor estivesse associado a resultado positivo no teste de CF ⁽⁷⁴⁾.

Para determinação do grau de concordância entre os valores de CF e a colonoscopia, para os cut-off preconizados pelo fabricante dos kits de quantificação da CF e o determinado na nossa série, com maior sensibilidade e especificidade) utilizou-se o índice de concordância Kappa (K). Os valores obtidos para índice de concordância Kappa foram interpretados da seguinte maneira: < 0 ausência de concordância; 0 concordância pobre; entre 0 e 0,20 concordância ligeira; entre 0,21 e 0,40 concordância considerável; entre 0,41 e 0,60 concordância moderada; entre 0,61 e 0,80 concordância substancial e entre 0,81 e 1 concordância excelente ⁽⁷⁴⁾.

Na determinação da associação entre 2 variáveis, nomeadamente entre a CF e os valores laboratoriais analisados) foi utilizada a correlação de Spearman.

RESULTADOS

Dos trinta doentes incluídos no nosso estudo, 20 eram do sexo feminino e 10 do sexo masculino, com uma média de idades de $39,4 \pm 11,4$ anos (idade mínima de 22 anos e máxima de 62 anos). Todos haviam sido submetidos a ressecção ileocecal (episódio cirúrgico único de ressecção intestinal) há uma média de $83,8 \pm 68,8$ meses (tempo mínimo de 9 meses e tempo máximo de 269 meses). A maioria das cirurgias haviam sido realizadas por via aberta (23/30).

À data da realização do estudo 23,3% (7/30) estavam sem medicação; 30% (9/30) estavam medicados com messalazina; 36,7% (11/30) estavam medicados com azatioprina; 3,3% (1/30) estava medicado com a combinação de messalazina e azatioprina e 6,7% (2/30) estavam a fazer terapêutica com biológicos (adalimumab).

Era patente uma superioridade de doentes não fumadores (27), sendo 2 deles ex-fumadores.

As colonoscopias foram realizadas em 66,7% (20/30) sob sedação anestésica. A distribuição dos achados endoscópicos pela classificação do score de Rutgeerts apresenta-se em seguida na tabela 1. Assim, 21 doentes apresentavam um score de Rutgeerts <2 e 9 doentes, um score de Rutgeerts ≥ 2 .

Score de Rutgeerts	Nº de doentes
i0	5/30
i1	16/30
i2	4/30
i3	3/30
i4	2/30

Tabela 1: Distribuição dos achados endoscópicos de acordo com o score de Rutgeerts

A distribuição dos valores de CF em ambos os grupos. Os valores de CF são superiores nos doentes com score de Rutgeerts ≥ 2 e inferiores nos doentes com score de Rutgeerts < 2 (figura 1).

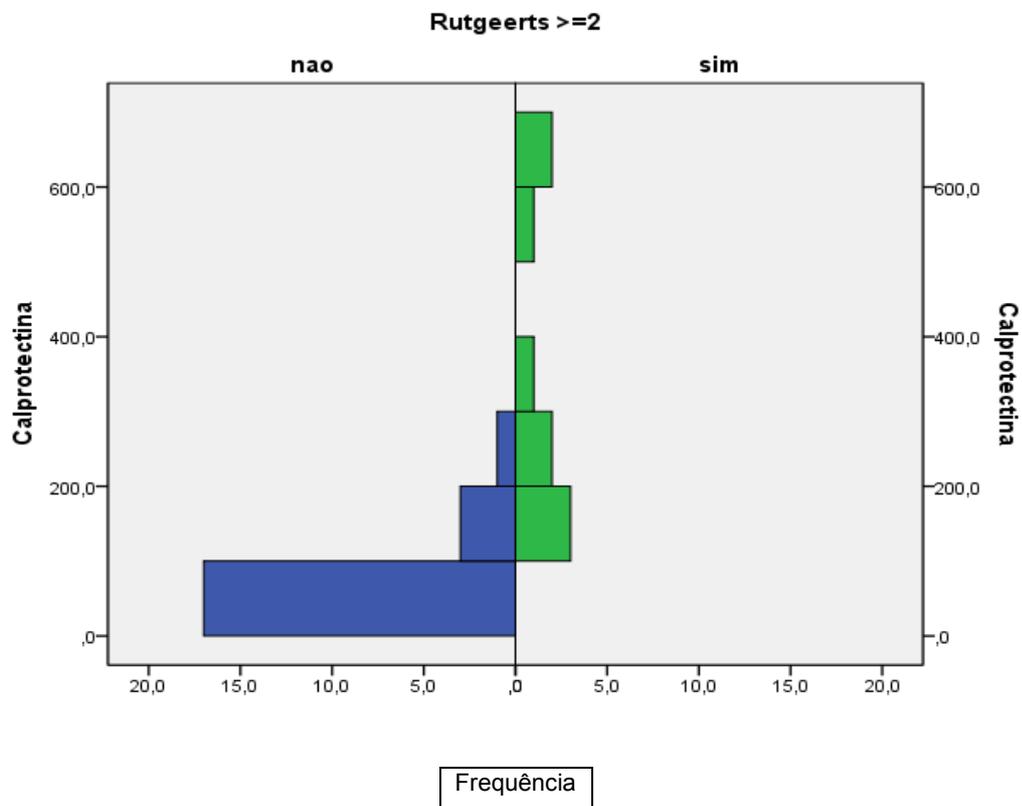


Figura 1: Distribuição dos valores de CF nos 2 grupos em estudo.

Efectivamente a CF média foi significativamente superior nos doentes com score de Rutgeerts ≥ 2 . Para o grupo dos doentes com score de Rutgeerts < 2 , a CF média foi de $69,4 \pm 49,1 \mu\text{g/g}$, enquanto que para os restantes doentes, esta foi de $336,1 \pm 201,1 \mu\text{g/g}$ ($p < 0,001$) (figura 2).

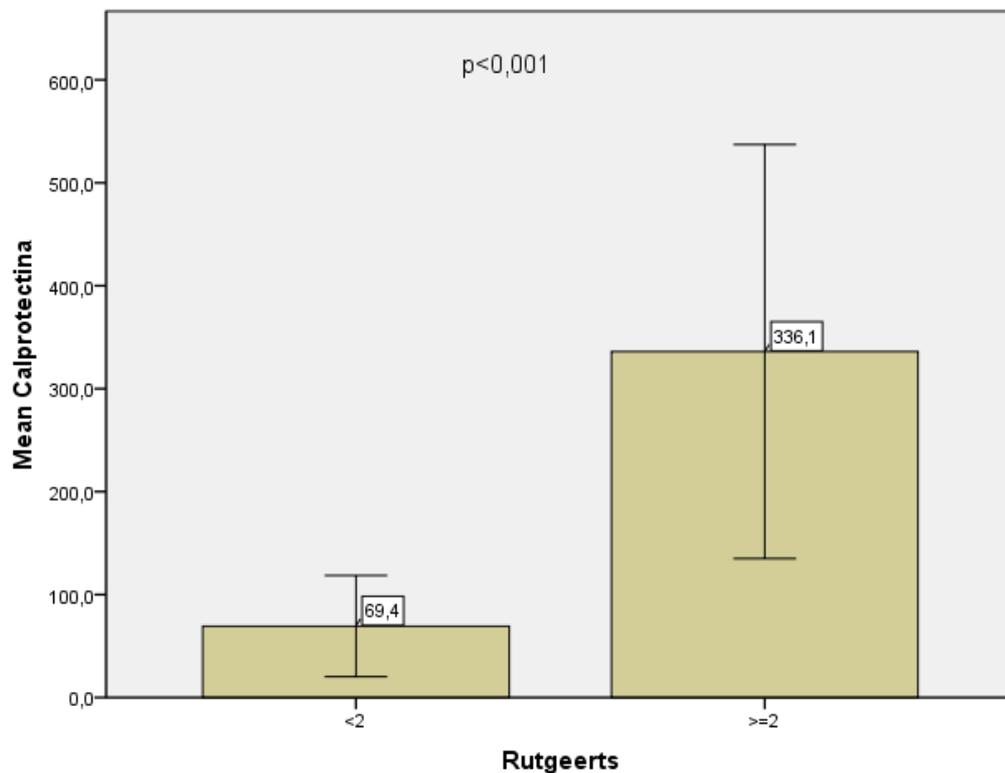
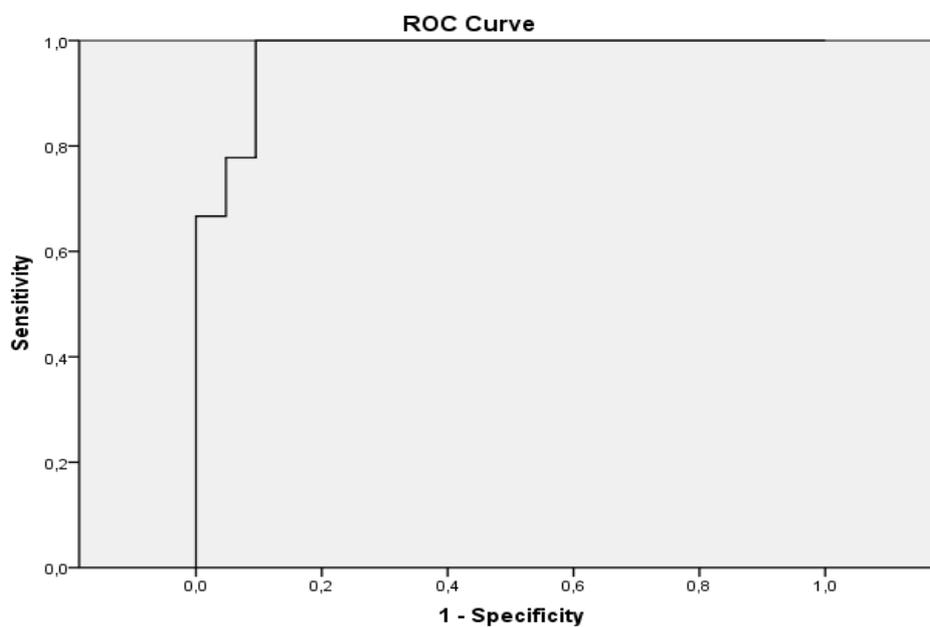


Figura 2: CF média em ambos os grupos: Rutgeerts ≥ 2 (colonoscopia positiva) e Rutgeerts < 1 (colonoscopia negativa).

A área debaixo da curva ROC para a CF em relação com os achados endoscópicos foi de 0,974 (excelente capacidade discriminativa), sugerindo que a CF distingue correctamente os 2 grupos de doentes (figura 3).



AUC	Std. Error ^a
,974	,024

Figura 3: Curva ROC e AUC para CF e achados da colonoscopia.

Foram então calculados os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) para o *cut-off* preconizado pelo distribuidor do kit da CF, tendo por base um tabela *crosstabs* (tabela 2).

	Calprotectina		Total
	<50	>=50	
Recidiva (Rutgeerts ≥ 2)	10	11	21
Sem recidiva (Rutgeerts <2)	0	9	9
Total	10	20	30

Tabela 2: Tabela crosstabs para cálculo da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN).

A sensibilidade deste teste foi de 1, com especificidade de 0,48. O VPP é 0,45 e o VPN 1.

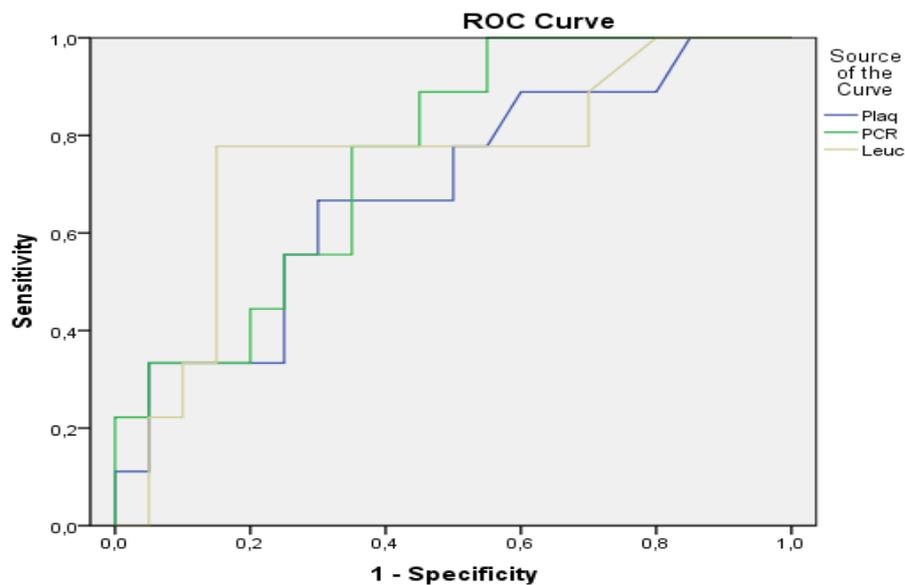
A partir da curva ROC, o valor da CF que melhor define recorrência endoscópica na nossa série foi 116,50 $\mu\text{g/g}$, associado a uma sensibilidade sobreponível ao *cut-off* anterior (de 1) mas associado a um acréscimo importante na especificidade para 0,95.

Tomando em consideração os parâmetros analíticos, foram analisados os valores de hemoglobina, leucócitos, plaquetas e proteína C reactiva (PCR). Os valores médios nos dois grupos estão apresentados na tabela seguinte (tabela 3). Apenas os valores de PCR e leucócitos apresentaram diferença estatisticamente significativa

Parâmetro analítico	Score de Rutgeerts <2	Score de Rutgeerts ≥2	p
PCR	0,55±0,62	1,34±1,2	0,028
Leucócitos	6,3±1,5	7,7±1,5	0,034
Hemoglobina	13,7±0,7	13,6±1,6	0,908 (ns)
Plaquetas	248,1±57,0	282,1±62,8	0,149 (ns)

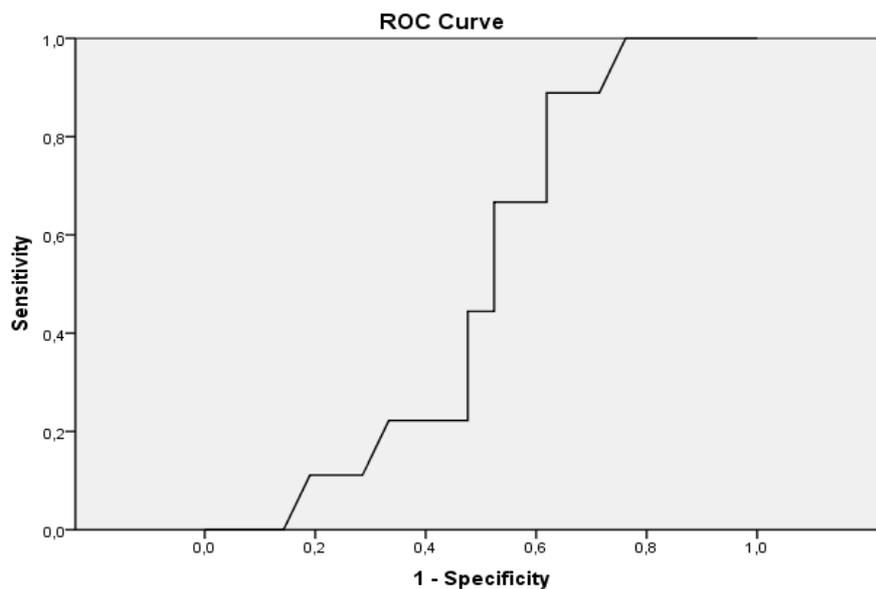
Tabela 3: Valores médios dos parâmetros analíticos

As curvas ROC foram calculadas para os parâmetros analíticos em relação com os achados endoscópicos (figuras 4 e 5). Os resultados evidenciam melhor poder discriminativo dos leucócitos e da PCR (respectivamente AUC 0,750 e 0,756) quando comparados com as plaquetas e da hemoglobina (AUC respectivamente 0,689 e 0,505) embora fraco nos 4 elementos de avaliação analítica. A CF, como já foi mostrado, apresenta-se com maior poder discriminativo.



Parâmetro analítico	AUC	Std. Error ^a	Ic95%	
			Inf	Sup
Leucócitos	,750	,105	,544	,956
Plaquetas	,689	,107	,479	,899
PCR	,756	,091	,578	,933

Figura 4: Valores da AUC para os parâmetros analíticos (leucócitos, plaquetas e PCR)



AUC	Std. Error ^a	IC 95%	
		Superior	Inferior
,505	,105	,300	,710

Figura 5: Valores da AUC para os parâmetros analíticos (hemoglobina).

Avaliamos posteriormente o grau de concordância entre os valores de CF e os achados endoscópicos, novamente para ambos os *cut-off* (50 e 116,50 µg/g). O índice de kappa foi, respectivamente, 0,337 (tabela 4) e 0,851 (tabela 5), realçando a melhor performance do último *cut-off* determinado.

	Valor	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	,337	,118	2,423	,015

	Valor	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	,851	,101	4,713	,000

Tabelas 4 e 5: Valores do índice Kappa

Por último, procedemos à determinação de existência de associação entre as variáveis entre si (correlação de Spearman), tendo sido evidente uma correlação com significado estatístico entre CF e PCR (ρ 0,51; p 0,005) e entre a PCR e os leucócitos (ρ 0,47, p 0,01).

DISCUSSÃO

Embora a prevenção de recidiva pós cirúrgica da DC e a modificação de potenciais factores de risco tenha tido especial enfoque em múltiplos estudos, permanecem ainda como problemas de difícil resolução.

A recidiva é de algum modo imprevisível já que os factores de risco que se podem analisar previamente à realização da cirurgia (idade de início da DC, localização da doença e seu comportamento, hábitos tabágicos, e número de ressecções cirúrgicas) não permitem em cada caso individual determinar o curso provável da doença. Por isso têm sido feitas recomendações no sentido de realizar colonoscopia com ileoscopia aos 6-12 meses após ressecção ileocecal, numa tentativa de detectar a recidiva pré-clínica e servindo como guia às decisões terapêuticas. Presentemente este meio complementar de diagnóstico constitui o melhor método na determinação da recidiva endoscópica precoce e o grau da severidade da recidiva endoscópica tem implicações clínicas. No entanto, apresenta como principais problemas o seu carácter invasivo e a necessidade de preparação intestinal o que dificulta a sua utilização como meio de monitorização de doentes, particularmente nos doentes com necessidades de várias observações

Desta forma um método não invasivo, cómodo, de fácil interpretação, não dispendioso e com boa correlação com os achados endoscópicos, permitiria identificar esses mesmos doentes de forma a instituir a devida terapêutica e monitorizar a sua resposta.

Os resultados do nosso trabalho apontam no sentido que a CF possa constituir um instrumento útil na monitorização dos doentes com DC submetidos a ressecção intestinal.

Na nossa série, cerca de 1/3 dos doentes, apesar de assintomáticos e sob terapêutica, apresentavam lesões endoscópicas com risco de recorrência significativo. São estes doentes, não identificáveis aquando entrevista clínica que urge identificar, atendendo ao risco acrescido de recidiva.

Efectivamente os valores de CF foram significativamente superiores nos doentes com score de Rutgeerts ≥ 2 . A CF revelou excelente capacidade

discriminativa (AUC 0,974), muito superior aos parâmetros analíticos estudados (hemoglobina, leucócitos, plaquetas e PCR), nomeadamente na distinção entre doentes que necessitem de eventual ajuste terapêutico e aqueles que podem manter-se com regime previamente instituído. Aliás, os únicos valores analíticos com diferença estatística nos 2 grupos avaliados (com e sem recidiva endoscópica) foram os leucócitos e a PCR.

A sensibilidade e o VPN deste teste para o valor de *cut-off* preconizado pelo fabricante foram muito bons (1). Contudo, este valor está associado a uma baixa especificidade e VPP. O aumento do valor de *cut-off* para 116,5 µg/g mantém os valores de sensibilidade e determina um aumento na especificidade (para 0.95), conferindo óptimas características a este teste de diagnóstico. Com este novo *cut-off*, ocorre um aumento da acuidade diagnóstica, confirmada também com o aumento da concordância do mesmo (avaliada pelo índice Kappa) com o que foi considerado o *gold standard* no nosso trabalho: a colonoscopia.

Este aumento do *cut-off* na nossa amostra para um valor superior a duas vezes o preconizado pelo fabricante do Kit vai de encontro aos resultados de outros trabalhos que também englobaram doentes com DC pós ressecção ileocólica que chegam a sugerir ponto de corte na ordem dos 200 µg/g⁽⁷⁴⁾.

O nosso trabalho reforça a utilidade da CF no universo dos doente previamente operados com ressecção intestinal e vai de encontro a outros trabalhos publicados.

Costa et al⁽⁴¹⁾ estudaram grupo de 12 doentes com DC submetidos a ressecção intestinal e encontraram uma absoluta concordância entre os doentes com recorrência da doença na anastomose e valores de CF aumentados. *Orlando et al*⁽⁷⁴⁾ investigaram o papel da determinação da CF na predição de recorrência pós cirúrgica em doentes assintomáticos com doseamentos de CF e realização de ecografia aos 3 meses e colonoscopia um ano após cirurgia. Os autores determinaram uma sensibilidade de 63% e uma especificidade de 75% para um *cut-off* > 200 µg/g e de 94% e 25 % respectivamente para *cut-off* < 50 µg/g. Finalizaram as suas conclusões determinando que aquele valor de CF (200 µg/g) aos 3 meses era diferenciador dos doentes que deveriam ser submetidos a colonoscopia, no sentido de

detectar recorrência precoce. Finalmente num estudo recentemente realizado, ainda somente com resultados preliminares, envolvendo 19 doentes ⁽⁷⁵⁾ com ressecção ileocecal, procederam à classificação dos mesmos com IBH, doseamento de parâmetros analíticos e realização de colonoscopia aos 12 meses após cirurgia. Nesta amostra, mais uma vez se encontrou que os pacientes com score de Rutgeerts <2 possuíam valores de CF significativamente inferiores aos pacientes com score de Rutgeerts ≥ 2. Por outro lado, os valores laboratoriais e o IBH não possuíam diferenças estatísticas entre os 2 grupos.

Existem no entanto alguns trabalhos discordantes, nomeadamente *Scarpa et al* ⁽⁷⁶⁾ ao seguirem uma amostra de 63 doentes com DC após ressecção ileocólica, realizaram a comparação com achados analíticos e endoscópicos e concluíram que estes doentes mantêm valores elevados de CF, mesmo quando aquando remissão clínica, não sendo patente qualquer diferença entre valores da CF em doentes com CDAI inferior ou superior a 150. Com estes resultados chegou-se a equacionar a invalidez da CF após ressecção intestinal. Já *Lamb et al* ⁽⁵⁸⁾ encontraram concordância da CF com os índices clínicos mas não com os endoscópicos. Este estudo envolveu 2 grupos de estudo: o primeiro, composto por 13 doentes no período imediato pós-cirurgia, seguidos longitudinalmente ao longo de um ano com colheitas regulares de marcadores fecais, atestaram que a normalização dos valores da CF, em doentes sem intercorrências, num período de dois meses após a cirurgia; o outro grupo, composto por 104 doentes, classificados clinicamente com IHB e com colheita única dos mesmos marcadores e avaliação analítica (PCR e plaquetas), concluíram que DC, a CF permitiu identificar os doentes com recidiva clínica, uma vez que os doentes com doença sem actividade clínica (IHB < 3) possuíam valores de CF inferior a 2 vezes o limite superior da normalidade enquanto que os doentes com IHB > 6 possuíam valores destes marcadores fecais superiores a 2 vezes o limite superior da normalidade. No entanto realizaram colonoscopia a 43 desses doentes e não encontraram diferença estatisticamente significativa da CF entre os doentes com e sem recidiva endoscópica.

Existem várias limitações que poderão ser imputadas ao nosso estudo. Uma delas transversal a todos os estudos pós ressecção ileocecal em doentes com DC é a falta de um teste que por si só possa determinar de modo definitivo a existência de recorrência da doença. Este facto aumenta a dificuldade em validar o uso de qualquer outro teste.

Na recorrência sintomática, sabe-se que o comportamento pós-cirúrgico da DC depende das suas características pré-cirurgia. A maioria dos nossos doentes era não fumadora e a doença abarcava o íleon terminal e/ou cego/ascendente proximal, mas não entrámos em linha de conta com o comportamento prévio e extensão.

O nosso estudo não envolveu avaliação anatomo-patológica sistematizada, o que poderá ser considerado uma limitação. No entanto, o conceito de recorrência tem sido definido tendo por base achados clínicos, analíticos e endoscópicos, não englobando a histologia.

Embora os nossos dados, bem como os de outros autores sejam promissores quanto à utilidade da CF, parece-nos no entanto fundamental a implementação de mais estudos para consubstanciar estas conclusões. Estes deverão caracterizar-se por amostras maiores, incluir a avaliação prospectiva dos novos cut-off e explorar a aplicação da CF à monitorização da terapêutica imunomoduladora.

CONCLUSÃO

A CF revelou-se um método útil na avaliação dos doentes com DC submetidos a ressecção intestinal prévia, ao identificar os que não apresentam sinais endoscópicos de recidiva e que portanto não necessitam de ajustes terapêuticos nem de investigação endoscópica. Por outro lado, permite a identificação dos doentes que possam beneficiar da realização da colonoscopia com ileoscopia e/ou terapêutica imunomoduladora/imunossupressora.

Os nossos resultados apontam ainda para a possibilidade de que o uso de um *cut-off* mais elevado poderá produzir resultados superiores.

