



Przydatność oznaczania kalprotektyny w nieswoistych chorobach zapalnych jelit – badania własne

Andrzej Moniuszko

Kierownik kliniki
Prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

Klinika Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii z Pododdziałem
Leczenia Nieswoistych Zapalnych Chorób Jelit CSK MSW w Warszawie

Nieswoiste choroby zapalne jelit
– **trudne prognozowanie przebiegu**

- CRP, WBC, OB – ograniczona wartość
- Skale klinicznej aktywności choroby – ograniczona wartość
- Metody endoskopowe: inwazyjne, drogie, nie zawsze dostępne
- Metody obrazowe – enterokliza MRI

Wczesne wykrycie tłęcego się stanu zapalnego
– **kluczowe w terapii**

Potrzeba precyzyjnych biomarkerów



Kalprotektyna – wzrost w obecności stanu zapalnego śluzówki jelit:

Test ELISA
“złoty standard”
oczekiwanie na wyniki

Test Quantum Blue
test “przyłóżkowy”
45 min

Ocena przydatności oznaczania kalprotektyny w stolcu w monitorowaniu przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit, w tym ocena:

- Stopnia korelacji między stężeniem kalprotektyny w stolcu oznaczanej metodą Quantum Blue© z tradycyjną metodą immunoenzymatyczną ELISA.
- Stopnia korelacji kalprotektyny z obrazem endoskopowym oraz z tradycyjnymi skalami aktywności choroby.
- Skuteczności diagnostycznej w wykrywaniu zaostrzenia w porównaniu do tradycyjnych wykładników stanu zapalnego i opracowanie optymalnego punktu odcięcia zarówno w ChL-C i WZJG.
- Wpływu rozległości i lokalizacji zmian zapalnych oraz obecności powikłań jelitowych na wartości badanego biomarkera.
- Zależności parametrów gospodarki żelazowej organizmu i badanego biomarkera.
- Zdolności przewidywania leczenia operacyjnego we wczesnym okresie hospitalizacji u pacjentów z ChLC.

Materiał i metody (1/2)

Retrospektywna analiza

- **650 pacjentów** z NChZJ oraz grupy kontrolnej (19 osób zdrowych)
- Hospitalizowani w Klinice Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii z Pododdziałem Leczenia Nieswoistych Chorób Zapalnych Jelit, CSK MSW w latach 2013-2014r.
 - Wykluczono 57 pacjentów - duże wątpliwości dotyczące ostatecznego rozpoznania lub obecność istotnych chorób towarzyszących

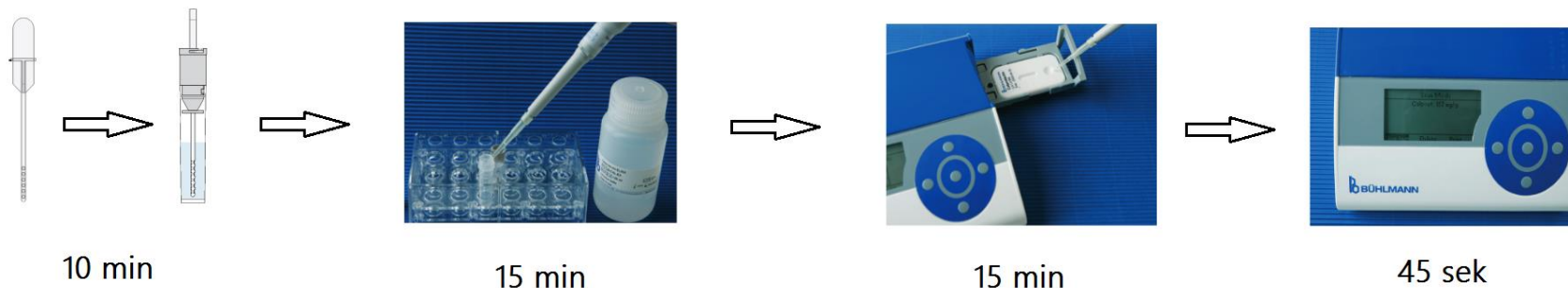
Szczegółowa analiza - **135 pacjentów**:

- Badania endoskopowe
- CT j. brzusznej i/lub USG j. brzusznej
- Badania laboratoryjne (biochemiczne, bakteriologiczne i serologiczne)
- Skale aktywności klinicznej choroby (CDAI, DAI)

Ponadto:

- Parametry zaburzeń gospodarki żelazowej organizmu
- Ryzyko zabiegu operacyjnego z powodu powikłań choroby Leśniowskiego-Crohna w przebiegu 1 miesiąca od chwili hospitalizacji.

Materiał i metody (2/2)



Do oznaczenia stężenia kalprotektyny w stolcu zastosowano przyłózkowy, półilościowy test Quantum Blue® oraz standardową metodę ELISA.

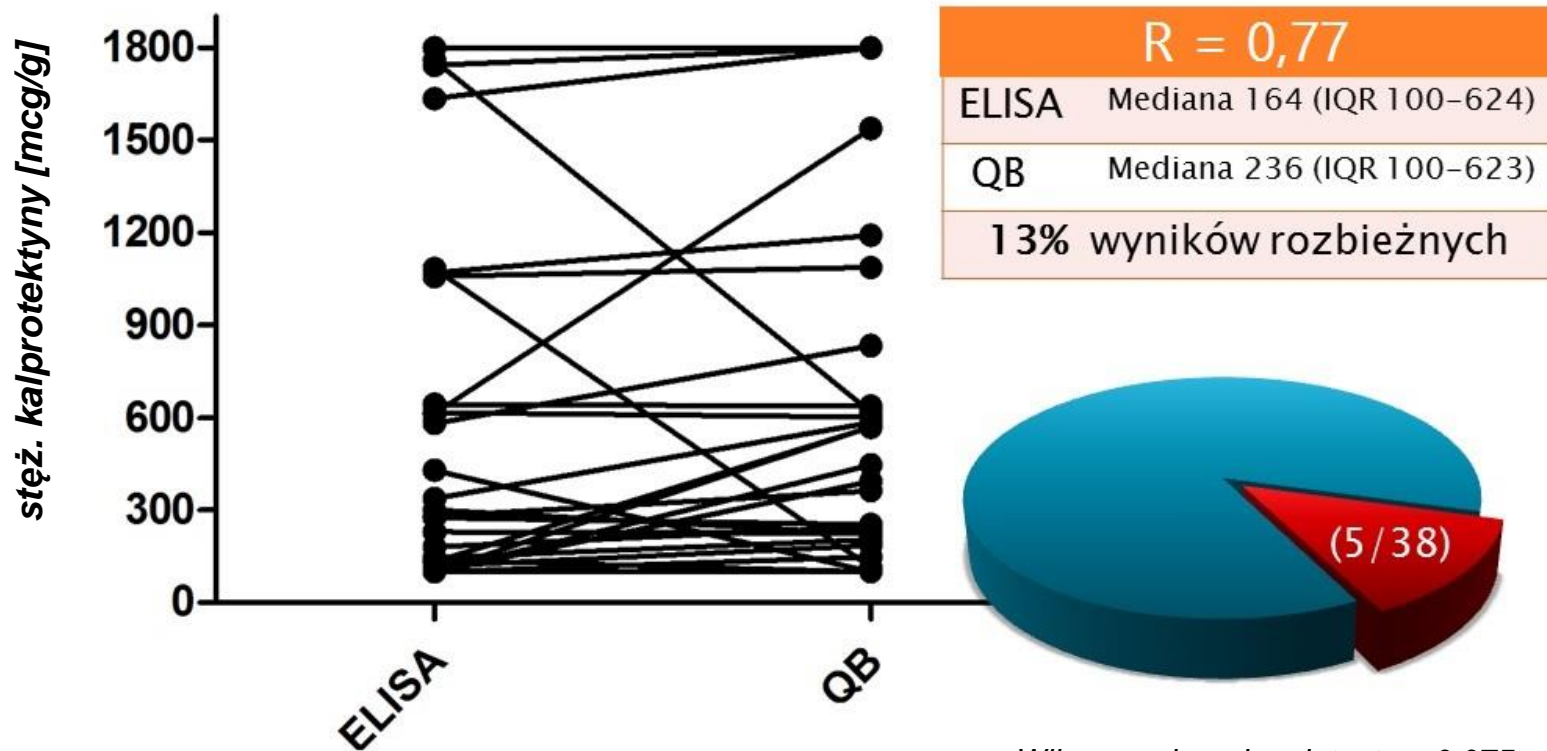
Quantum Blue ® – test półilościowy, wartości w zakresie **100-1800 mcg/g** stolca

Metody statystyczne

- statystyka opisowa
- test t-Studenta, test U-Mann-Whitney, Wilcoxon signed rank test,
- korelacja r-Pearsona
- krzywa ROC (*Receiver Operating Characteristic*)

We wszystkich analizach za poziom istotności przyjęto $p=0,05$.

ELISA vs Quantum Blue



Wilcoxon signed rank test, $p=0,075$.

Tradycyjne markery a endoskopia

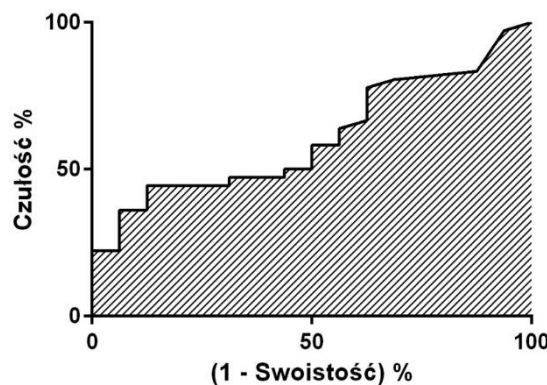
WZJG

Ch-LC

CRP

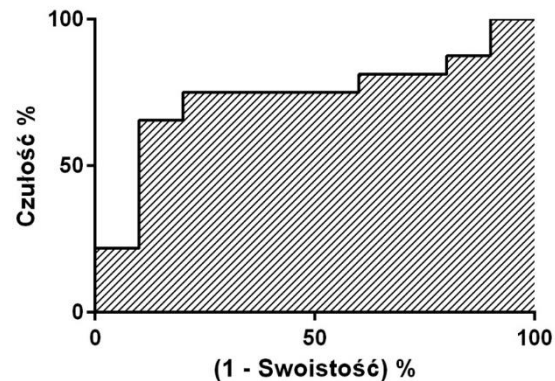


$AUC=0,586$ ($SD=0,105$; 95% CI 0,381 – 0,791)

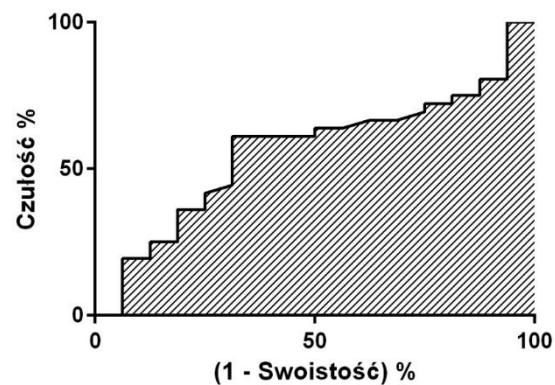


$AUC=0,6085$ ($SD=0,079$; 95% CI 0,453 – 0,764)

WBC

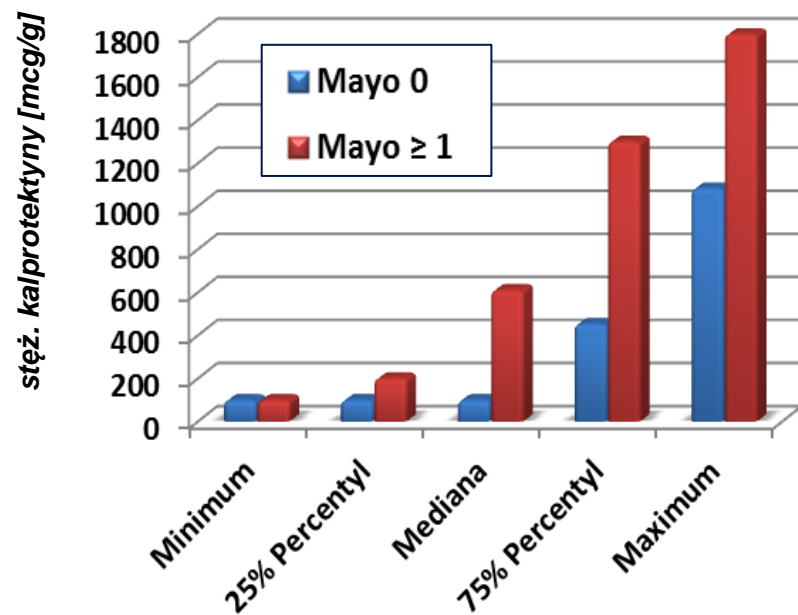
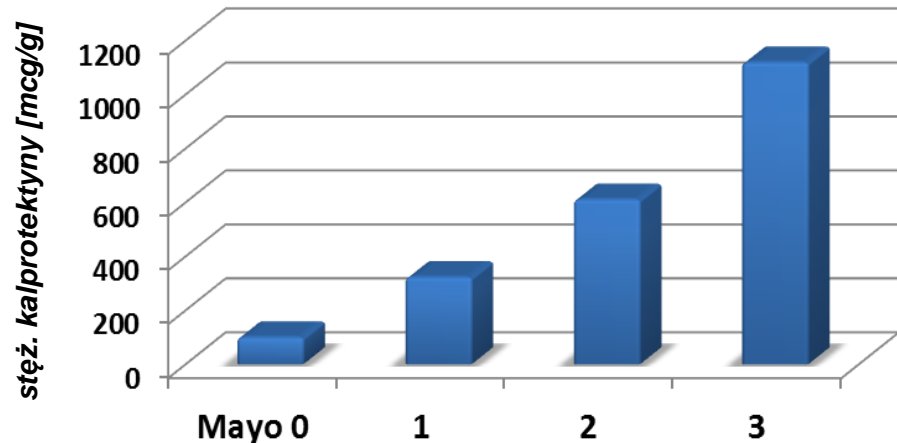


$AUC=0,738$ ($SD=0,084$; 95% CI 0,572 – 0,903).



$AUC=0,5616$ ($SD=0,084$; 95% CI 0,397 – 0,726).

Wzrost stęż. biomarkera wraz z intensywnością stanu zapalnego WZJG



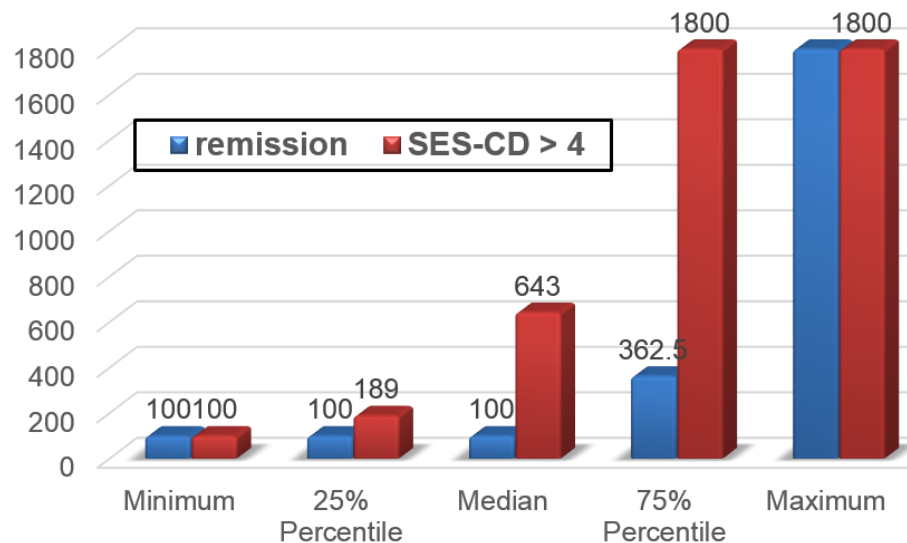
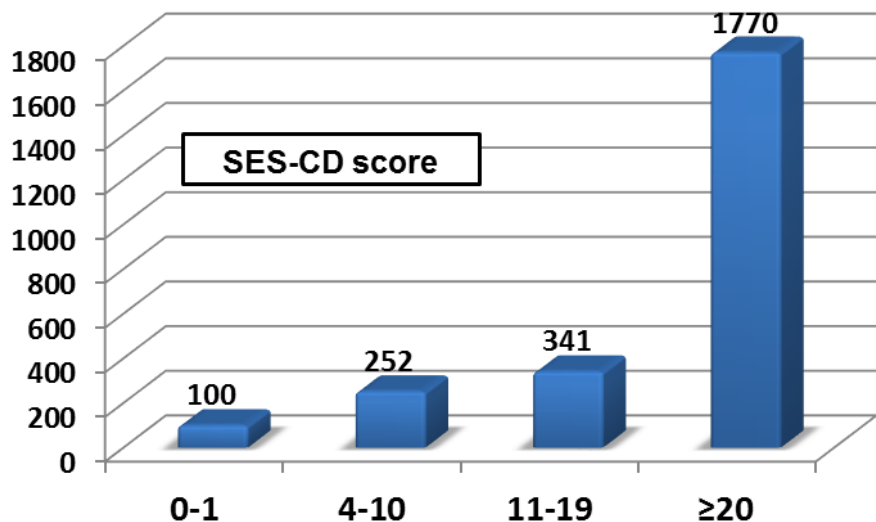
stopnie endoskopowej skali Mayo

	0	1	2	3
Ilość pacjentów	9	13	12	11
	<i>Stężenie kalprotektyny (mcg/g)</i>			
Minimum	100	100	100	318
25% Percentyl	100	169	111	500
Mediana	100	323	611	1119
75% Percentyl	454	750	1202	1800
Maximum	1083	1800	1800	1800

Wykazano 6x wyższy średni poziom biomarkera w grupie chorych z wynikiem skali Mayo ≥ 1 pkt w porównaniu do remisji endoskopowej.

Różnice istotne statystycznie, $p=0,002$

Wzrost stęż. biomarkera wraz z intensywnością stanu zapalnego – ChL-C



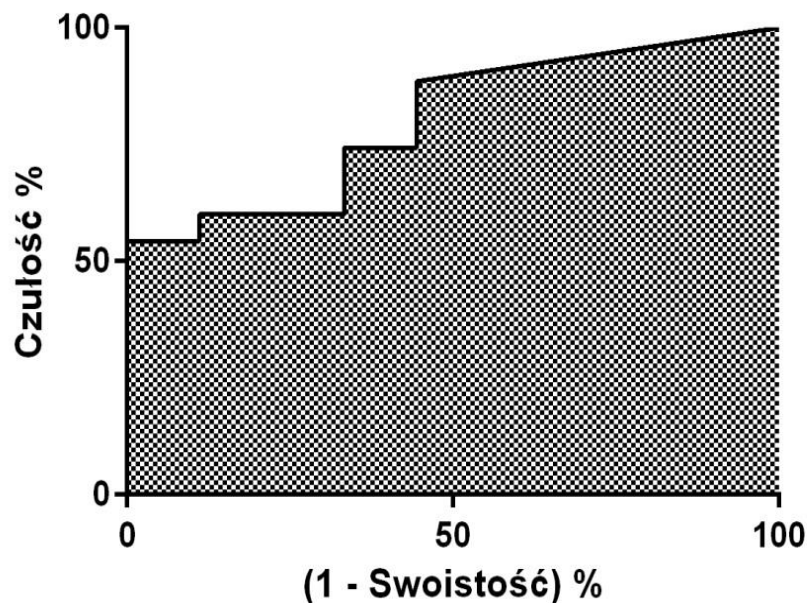
	stopnie endoskopowej skali SES-CD			
	0-3	4-10	11-19	≥20
Ilość pacjentów	16	19	8	12
	<i>Stężenie kalprotektyny (mcg/g)</i>			
Minimum	100	100	100	189
25% Percentyl	100	141	123.3	664.8
Mediana	100	252	341	1770
75% Percentyl	362.5	1376	833	1800
Maximum	1800	1800	1800	1800

Wykazano 6x wyższy średni poziom biomarkera w grupie chorych z obecnością jakiegokolwiek stanu zapalnego (wynik skali SES-CD ≥ 4pkt) w porównaniu do remisji endoskopowej.

Różnica istotna statystycznie, $p < 0,001$

Opracowanie punktów odcięcia kalprotektyny w wykrywaniu zaostrenia choroby w oparciu o wyniki badań endoskopowych

WZJG

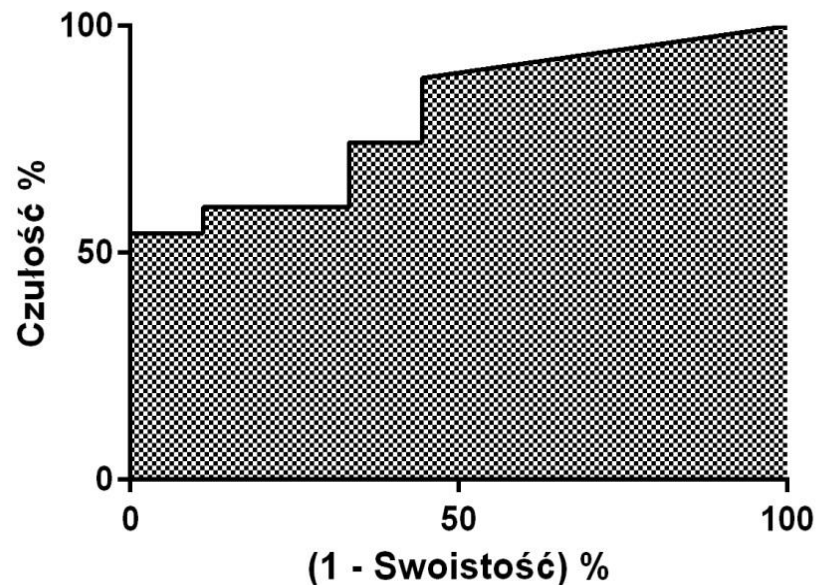


AUC 0,800 (SD=0,073; 95%CI 0,66–0,94; p=0,006)

Cut-off 499 mcg/g

- Swoistość 88,89%
- Czułość 60,0%

ChL-C



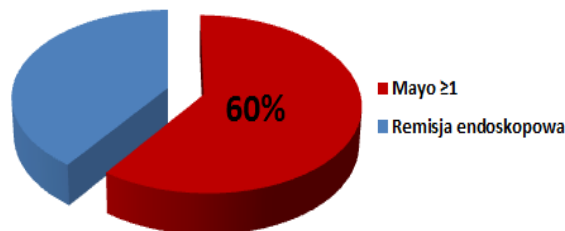
AUC 0,831 (SD=0,060; 95%CI 0,71–0,95; p<0,0001)

Cut-off 238,5 mcg/g

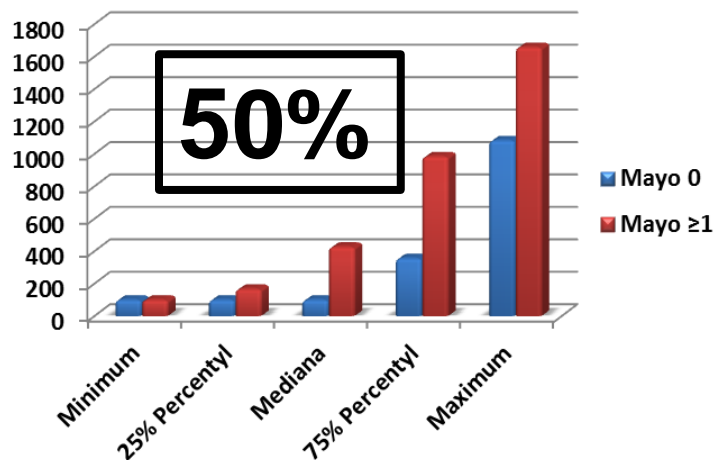
- Swoistość 88,89%
- Czułość 70,0%

Wykrywanie subklinicznego stanu zapalnego jelit CHOROZY BEZOBJAWOWI

WZJG

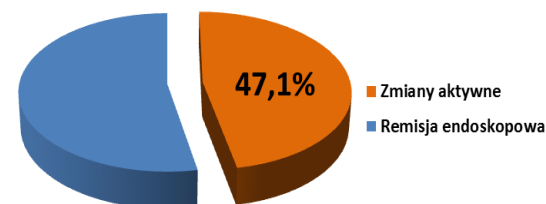


Odsetek pacjentów z rzeczywistym zaostrzeniem WZJG potwierdzonym badaniem endoskopowym, pomimo braku sugestywnych objawów klinicznych, n= 20

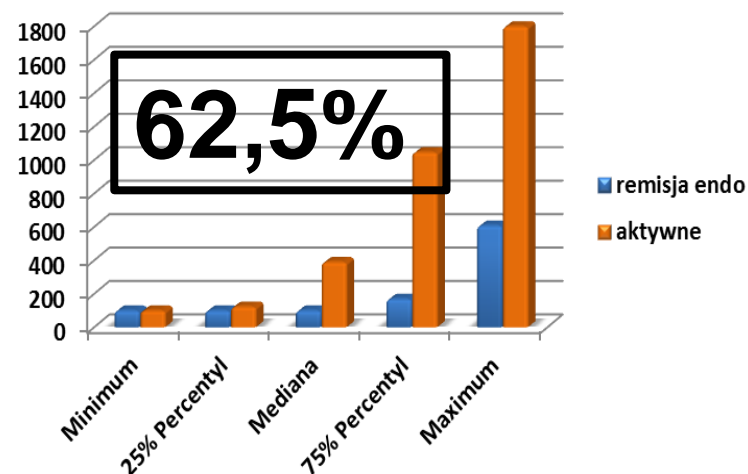


Średnie stężenie kalprotektyny u chorych bezobjawowych w podgrupie z potwierdzoną remisją endoskopową (Mayo 0 pkt) oraz z aktywnymi zmianami zapalnymi (Mayo ≥ 1 pkt)

ChL-C



Odsetek pacjentów z rzeczywistym zaostrzeniem ChL-C potwierdzonym badaniem endoskopowym, pomimo braku sugestywnych objawów klinicznych, n= 17

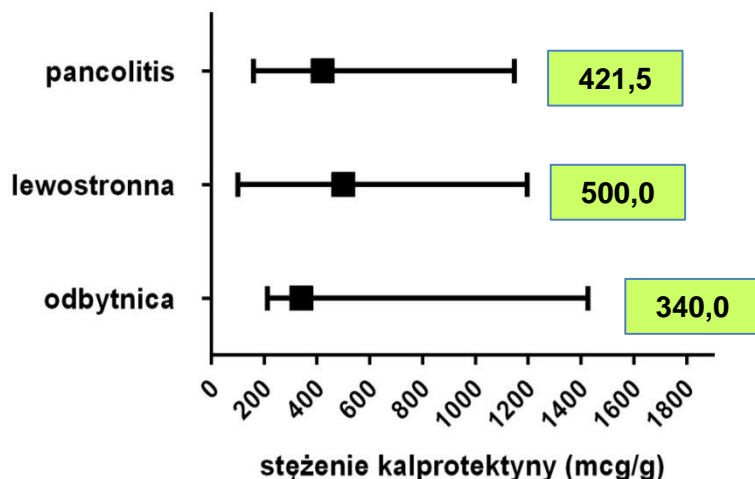


Średnie stężenie kalprotektyny u chorych bezobjawowych w podgrupie z potwierdzoną remisją endoskopową oraz z aktywnymi zmianami zapalnymi (lekke i wyzej)

Wpływ lokalizacji i zasięgu stanu zapalnego jelit na stężenie badanego biomarkera

WZJG

zasięg zmian chorobowych



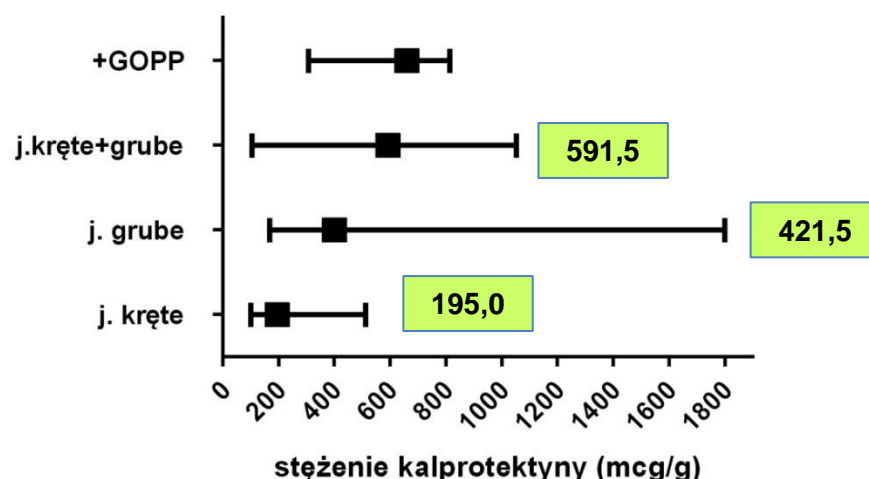
stęż. kalprotektyny (mediana, 10. i 90. pc) mcg/g

U-Mann Whitney test

- E1 vs E2 p=0,978;
- E2 vs E3 p=0,941;
- E1 vs E3 p=0,695

ChL-C

zasięg zmian chorobowych

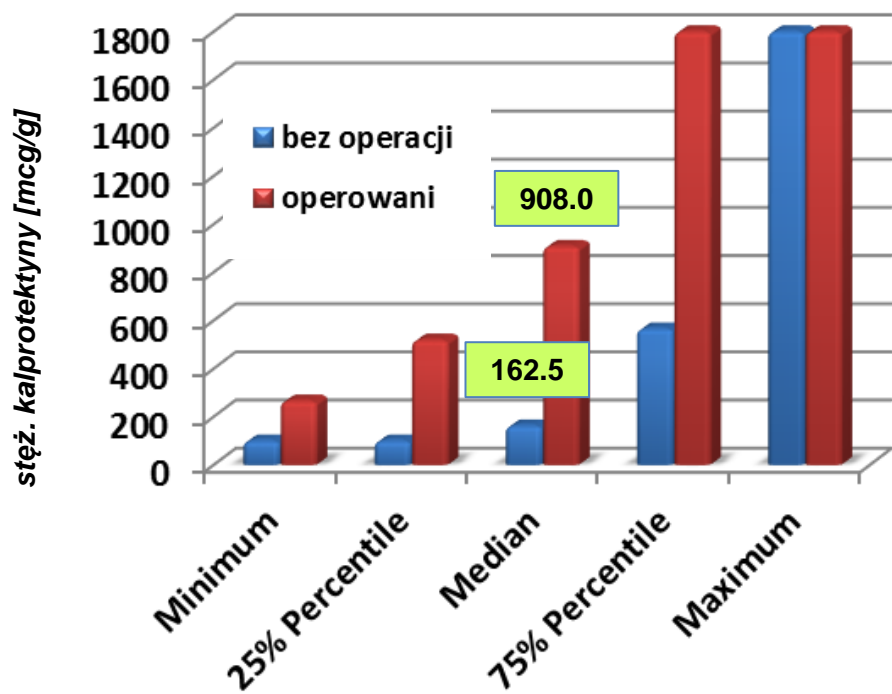


stęż. kalprotektyny (mediana, 10. i 90. pc) mcg/g

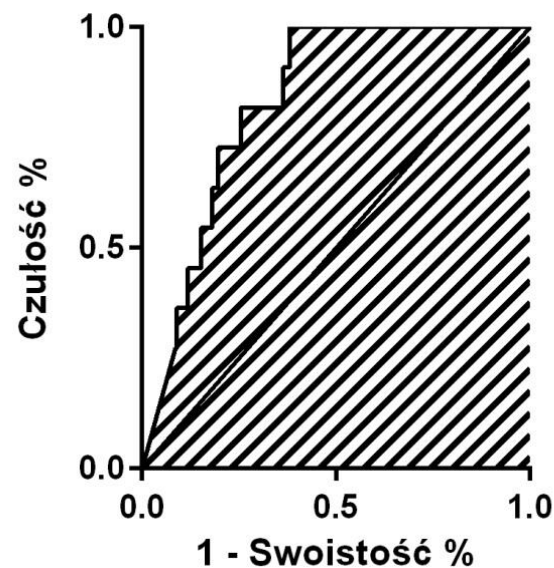
LOKALIZACJA	istotność statystyczna			
	j. kręte	j. grube	j.kręte + j.grube	+ GOPP
j. kręte	---	p=0,133	p=0,080	p=0,148
j. grube	p=0,133	---	p=0,834	p=0,957
j.kręte + j.grube	p=0,080	p=0,834	---	p=0,926
+ GOPP	p=0,148	p=0,926	p=0,957	---

Istotność statystyczna różnic stężenia kalprotektyny pomiędzy poszczególnymi podtypami lokalizacji choroby Leśniowskiego-Crohna wg testu U-Mann Whitney

Prognozowanie konieczności leczenia operacyjnego w przeciągu 1 miesiąca – choroba Leśniowskiego-Crohna



operowano 11/501 chorych (2,19%)



$AUC=0,83$ ($SD=0,037$; $95\%CI: 0,7568 - 0,9037$)

Cut-off 515 mcg/g

swiistość 74,5%

czułość 81,8%

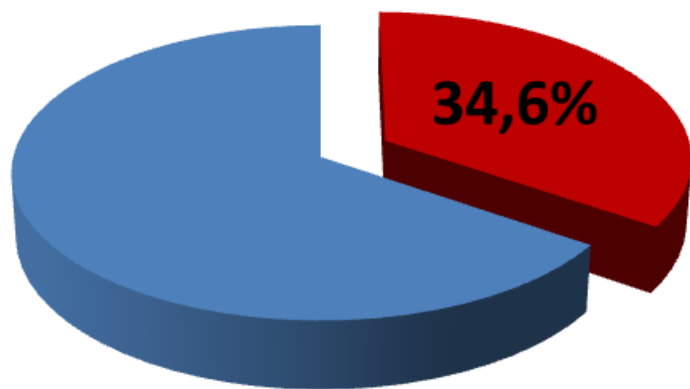
1367 mcg/g

swiistość 89,4%

U 3/11 chorych poddanych leczeniu zabiegowemu stężenie CRP było w normie.

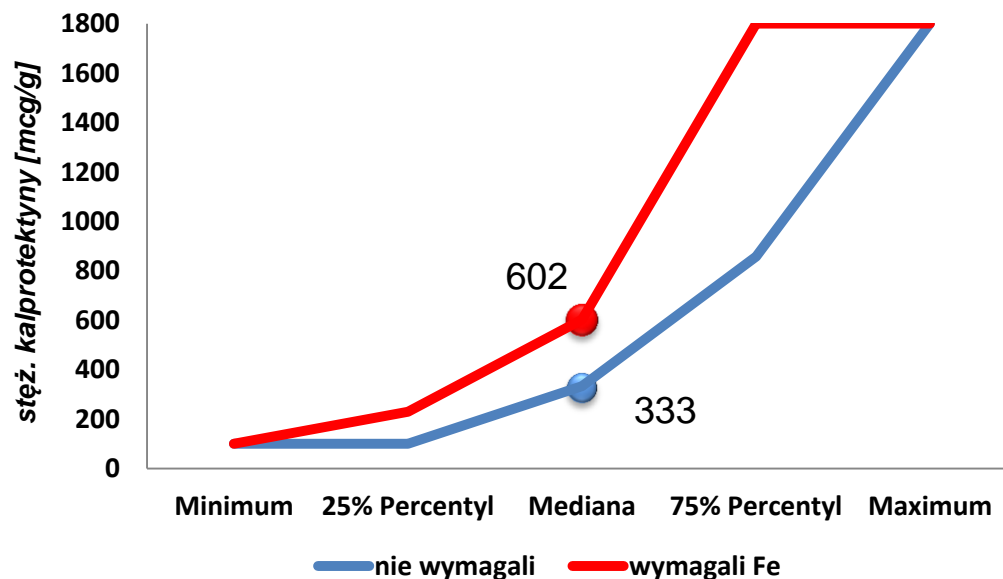
- wartości kalprotektyny: 684, 1152 i 1658 mcg/g.

Niedokrwistość a parenteralna suplementacja żelaza



- niedokrwistość
- prawidłowa Hb

Odsetek pacjentów z NChZJ ze stwierdzoną niedokrwistością, n= 104



Rozkład średnich wartości biomarkera w grupie pacjentów, którzy wymagali lub nie suplementacji parenteralnej żelaza, n=104

Nie wykazano istotności statystycznej powyższej różnicy ($p > 0.05$).

Q4 – wszystkie wartości przekraczające górny pułap testu

Podsumowanie wyników - materiał własny

- Wyniki stężenia kalprotektyny oznaczone za pomocą obu metod laboratoryjnych – ELISA oraz Quantum Blue© **są wysoce zbieżne** (86,2%).
- Stężenie kalprotektyny w stolcu istotnie wzrasta w przebiegu zaostrzenia NChZJ. Wartości stężenia **wysoce korelują** z wynikami endoskopowych skal aktywności choroby.
- Obliczone punkty **odcięcia** stęż. kalprotektyny dla wykrywania aktywnych zmian zapalnych błony śluzowej jelita wyniosły odpowiednio 238,5 mcg/g (ChL-C) oraz 499 mcg/g (WZJG). Już w obecności łagodnych zmian zapalnych stęż. istotnie wzrasta.
- Rozległość i lokalizacja zmian zapalnych w przewodzie pokarmowym **nie wpływają** istotnie na wynik testu.
- U prawie połowy chorych z NChZJ mimo pełnej remisji klinicznej obecne są już aktywne zmiany zapalne przewodu pokarmowego. Wykonanie testu Quantum Blue© pozwoliło na **skuteczne wychwycenie subklinicznego stanu zapalnego** w 50% [WZJG] i 62,5% przypadków [ChL-C].

Podsumowanie wyników – materiał własny cd.

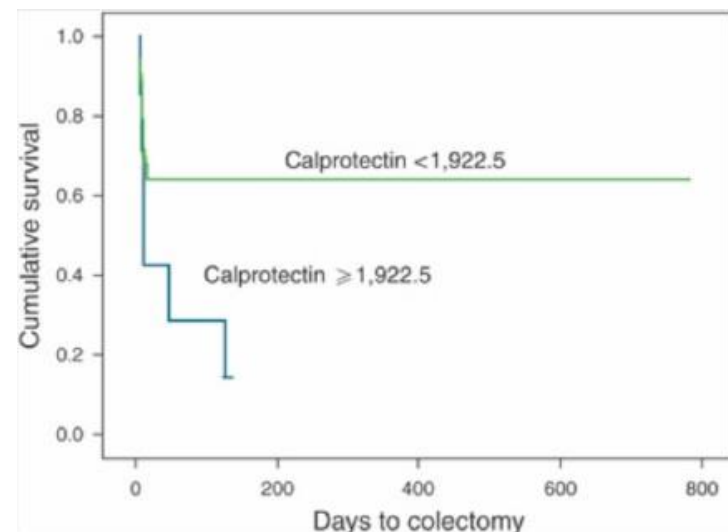
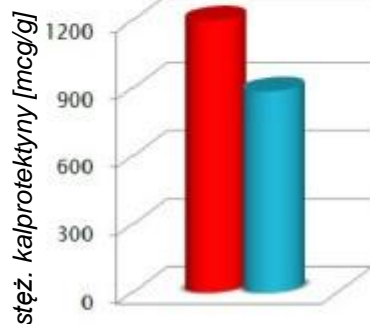
- Wysokie stęż. kalprotektyny u pacjentów z ChL-C jest skutecznym **czynnikiem prognostycznym konieczności leczenia operacyjnego** z powodu powikłań choroby w przebiegu 1 miesiąca od chwili hospitalizacji (908,0 vs. 162,5 mcg/g)
- Średnie stężenie kalprotektyny u pacjentów wymagających suplementacji parenteralnej żelaza z powodu anemii syderopenicznej było prawie **dwukrotnie wyższe** w porównaniu do chorych bez niedokrwistości (602 vs 333 mcg/g) [$p > 0.05$].

Badanie retrospektywne

- 90 pacjentów z ciężkim rzutem WZJG, wymagający dożylnej steroidoterapii
- 23,4% chorych wymagała zastosowania terapii ratunkowej (IFX)



1/3 pacjentów wymagała kolektomii



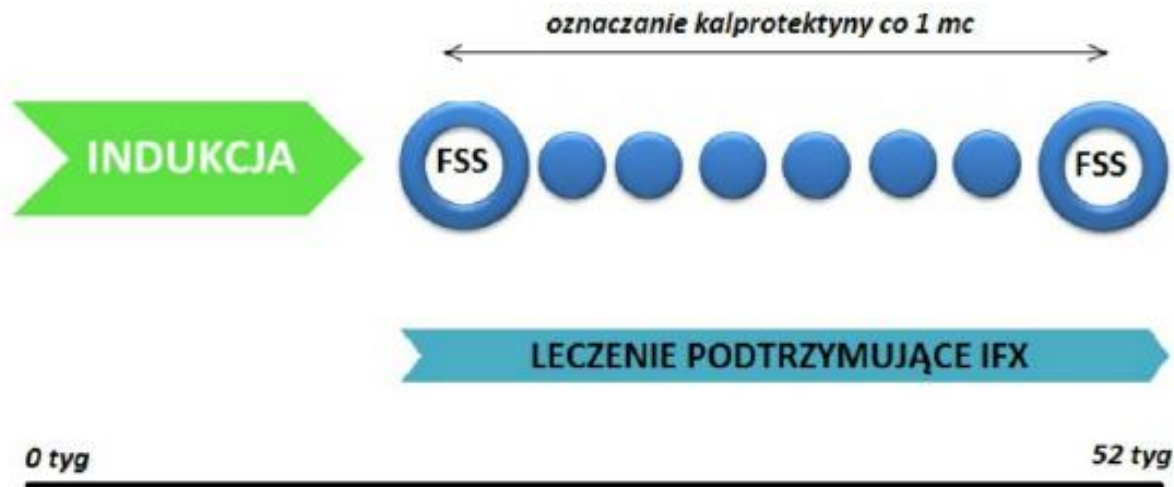
FC ≥ 1922 mcg/g
 87% kolektomii w ciągu 1 roku

Outcome	No colectomy (n=39)	Colectomy (n=25)	P value
Outcome 1	887 (478.0-1,472.0)	1,200.0 (677.0-1,900.0)	0.04
Outcome 2	Corticosteroid responders (n=28) 863.5 (431.8-1,493.0)	Corticosteroid nonresponders (n=36) 1100.0 (663.5-1,817.5)	0.08
Outcome 3	Infliximab responders (n=10) 920.5 (603.8-1,483.8)	Infliximab nonresponders (n=7) 1,795.0 (1,208.0-2,170.0)	0.06

Data for calprotectin levels are expressed in µg/g.

Prognozowanie zaostrzenia WZJG w trakcie leczenia podtrzymującego IFX

Consecutive Fecal Calprotectin Measurements to Predict Relapse in Patients with Ulcerative Colitis Receiving Infliximab Maintenance Therapy.
Vos MD, Louis EJ, Jahnsen J et al. *Inflamm Bowel Dis.* 2013 Jul 23.

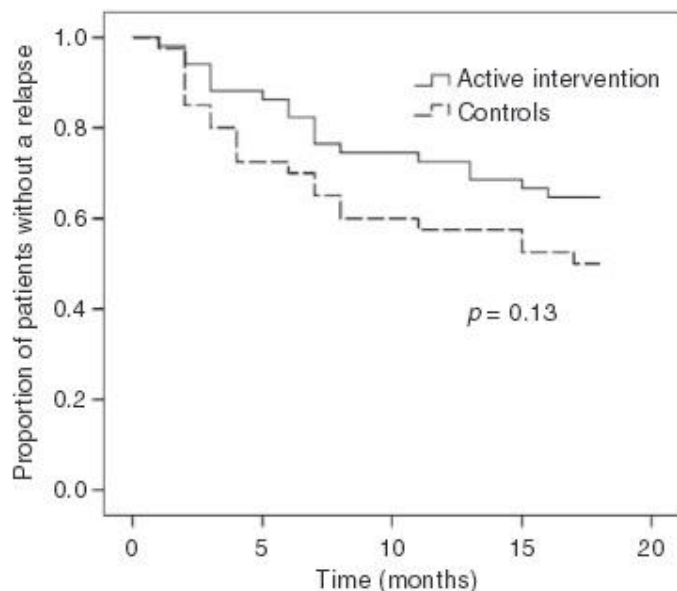


U pacjentów, u których doszło do zaostrzenia, już na 3 miesiące przed stęż. kalprotektyny > 300 $\mu\text{g/g}$.

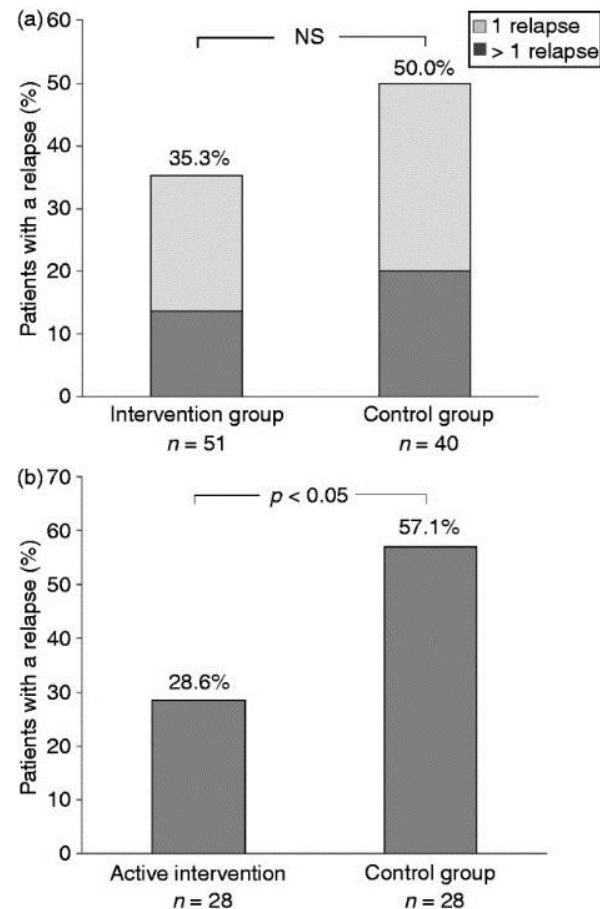
2 następujące po sobie oznaczenia powyżej 300 mcg/g
z czułością 61,5% i swoistością 100% przewidywały nawrót choroby.

Badanie prospektywne, randomizowane, wielośrodkowe

- 91 chorych na WZJG w pełnej remisji klinicznej, przyjmujący doustne preparaty 5-ASA. (1 zaostrz w ub. roku)
- Leczenie biologiczne w wywiadzie – kryterium wykluczenia
- Randomizacja do grupy kontrolnej lub interwencyjnej.
- Przez 18 m-cy pomiar kalprotektyny co 1 mc.
- Jeśli stęż kalprotektyny > 300 mcg/g -> eskalacja dawki 5-ASA.



U 55,8% pacjentów na 1 mc przed zaostrzeniem stęż kalpro < 300 mcg/g
'Szczywny' punkt odcięcia



Aspekty praktyczne

- Wysoka stabilność w temperaturze pokojowej (kilka dni), brak wahań dobowych
- Prostota i szybkość wykonania testu (nie wymaga specjalistycznego zaplecza laboratoryjnego ani personelu)
- Z ekonomicznego punktu widzenia: badanie wysoce skuteczne i niedrogie (100zł)
- Po krótkim przeszkoleniu pacjent sam może wykonać test w domu, np. przed zaplanowaną wizytą w poradni.
- Możliwe wysyłkowe oznaczanie kalprotektyny.
- Różne rodzaje testów, różne zakresy wartości.

- Stężenie kalprotektyny w kale jest przydatnym biomarkerem w monitorowaniu aktywności nieswoistych chorób zapalnych jelit oraz prognozowaniu ich przebiegu.
- Szybki test półilościowy Quantum Blue© jest dobrą alternatywą dla immunoenzymatycznej, “długotrwałej” metody ELISA, co może mieć istotne znaczenie kliniczne ze względu na możliwość podejmowania pilnych decyzji terapeutycznych przy łóżku chorego.
- Podejmowane są próby opracowania algorytmów terapeutycznych w oparciu o kontrolę stęż. kalprotektyny.
- Potrzebne są dalsze badania mające na celu opracowywanie coraz lepszych metod monitorowania WZJG i ChL-C, co pozwoli skuteczniej i dokładniej leczyć naszych pacjentów.

Dziękuję Państwu za uwagę