

DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST ANTITIJELA PROTIV SACCHAROMYCES CEREVISIAE (ASCA) I ANTINEUTROFILNIH CITOPLAZMATSKIH ANTITIJELA (ANCA) U BOLESNIKA S CROHNOVOM BOLEŠĆU I ULCEROZNIM KOLITISOM

Mr. sc. Dubravka Kocen, dr.med.

Upalne bolesti crijeva

Idiopatske kronične upalne bolesti crijeva

- Crohnova bolest
- Ulcerozni kolitis

Crohnova bolest

- - gubitak težine, proljevi, grčevite boli u trbuhu
- -zahvaća probavni trakt od usta do anusa
- -transmuralna upala, natekline upalnog tkiva uz fisure i ulceracije (kaldrmasti izgled)
- -granulomi bez kazeozne nekroze
- -ekstraintestinalne manifestacije (malnutricija, anemija, kolelitijaza, iritis, uveitis, aartralgije, eritema nodosum, fistule, apcesi)

Ulcerozni kolitis

- -proljev, često s primjesama krvi
- -upala sluznice i submukoze
- -kriptalni apcesi, ulceracije, deplecija mucina, atrofija i pseudopolipi, toksični megakolon
- -ekstraintestinalne manifestacije

Dijagnostika upalnih bolesti

- -klinička slika
- - laboratorijske i mikrobiološke pretrage
- - slikovna dijagnostika (RTG, CT, MR, UZV)
- - endoskopija
- 10% nedetrminirani kolitis

Etiologija

- Crohnova bolest:
 - - HLA-B 27, IL-1 ra gen ↓, NOD 2 (CARD 15)gen... + okidač
- Ulcerozni kolitis
 - - aleli DRB1-0103, DR-12, DRB-1502

Imunološki poremećaji u bolesnika sa upalnim bolestima crijeva

Crohnova bolest

- - IFN- γ , TNF- alfa, IL-2 ↑
- - IgG1
- - ASCA, OmpC antitijela
- - IL-1, IL-2, IL-12, IL-16, IL-18 ↑
- - IL-6, IL-15 ↑
 - monocitni biljeg CD 14
- - antipankreatična antitijela

Ulcerozni kolitis

- - IL-4 ↓
- - IL-5, IL-9 ↑
- - α /P-ANCA, OmpC antitijelo
- - antipankreatična antitijela
- - monocitni biljeg CD14

ASCA

- - antitijela protiv *Saccharomyces cerevisiae*
 - - antigen 200 kDa fosfopeptidomanan staničnog zida gljivice
 - - antigen je nađen u granulomima

IgG ASCA 50-80% CB 20% rođaci CB

IgA ASCA 30-50% CB 2-14% UC

1- 7% zdrave osobe

nedeterminirani ASCA + ⇒ 80% CB

ANCA – antineutrofilna citoplazmatska antitijela

IIF razlikujemo četiri tipa:

1. C-ANCA
2. a/C-ANCA
3. P-ANCA
4. a/P-ANCA

60-80% UC 10-40% CB

nedeterminirani a/P-ANCA + \Rightarrow 63% UC

Odrediti prevalenciju a/P-ANCA i ASCA u serumu bolesnika s UC, CB i kontrolnim ispitanicima te utvrditi mogući dijagnostički značaj

Ispitanici:

	UC	CB	KONTROLA
Broj ispitanika	27	35	27
Spol	12/15	17/18	11/16
Srednja dob	45,5	40,0	41,0
Aktivna bolest/remisija	16/11	19/16	

Kocen D, Geets Kesić M, Krznarić Ž, Vučelić B, Malenica B. Antibody against ASCA and P-ANCA in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. 16 th European Congress of Immunology 2006., Paris, Francuska

Metode:

- IIF za detekciju a/P-ANCA
- - razmazi granuocita fiksirani etanolom
- titar > 1:20

- IIF za detekciju ASCA, IgG i IgA izotip
- razmazi *S. cerevisiae*
- titar > 1:1000 (IgG) > 1:100 (IgA)

- ELISA za detekciju fosfopeptidomanana

Statistička obrada podataka

- - značajnost razlike u učestalosti a/P-ANCA i ASCA među ispitanicima testirali smo χ^2 testom
- $p = \text{ili} < \text{od } 0,05$ statistički značajna razlika
- - osjetljivost: učestalost pozitivnog testa među bolesnima
- - specifičnost: učestalost negativnog testa među zdravima
 - PPV : učestalost pozitivnog testa u bolesnika u odnosu na sve isitanike s pozitivnim testom

Učestalost a/P-ANCA i ASCA u bolesnika s ulceroznim kolitisom i Crohnovom bolešću

antitijela		UC %		CB %		kontrolni ispitanici	
a/P-ANCA	IIF	21/27 (78)		8/35 (23)		0/27 (0)	
IgG-ASCA	IIF	1/27 (3,7)	0/27 (0)	20/35 (57)	16/35 (46)	0/27 (0)	0/27 (0)
PPM	ELISA						
IgA-ASCA	IIF	1/27 (3,7)	5/27 (18,5)	20/35 (57)	19/35 (46)	1/27 (3,7)	3/27 (11,1)
PPM	ELISA						
IgG + IgA ASCA	IIF	0/27 (0)	0/27 (0)	15/35 (43)	15/35 (43)	0/27 (0)	0/27 (0)
PPM	ELISA						

Kocen D, Geets Kesić M, Krznarić Ž, Vučelić B, Malenica B. Antibody against ASCA and P-ANCA in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. 16 th European Congress of Immunology 2006., Paris, Francuska

Dijagnostički značaj ASCA i a/p-ANCA u bolesnika s upalnim bolestima crijeva

Dijagnostički značaj	a/P-ANCA za IBD	ASCA za IBD	a/P-ANCA i IgG-ASCA za IBD	a/P-ANCA i IgA-ASCA za IBD	a/P-ANCA i IgG i IgA ASCA za IBD
Osjetljivost (%)	47	34	75	85	71
Specifičnost (%)	100	100	100	100	100
PPV (%)	100	100	100	100	100

Kocen D, Geets Kesić M, Krznarić Ž, Vučelić B, Malenica B. Antibody against ASCA and P-ANCA in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. 16 th European Congress of Immunology 2006., Paris, Francuska

Dijagnostički značaj ASCA i a/P-ANCA antitijela u laboratorijskoj dijagnostici bolesnika s UC i CB

Dijagnostički značaj	a/P-ANCA poz za UC	IgG i IgA-ASCA za CB	a/P-ANCA (+) i IgG i IgA-ASCA (-) za UC	a/P-ANCA (-) i IgG i IgA-ASCA (+) za CB
Osjetljivost (%)	78	43	78	49
Specifičnost (%)	77	100	87	96
PPV (%)	72	100	81	84

Kocen D, Geets Kesić M, Krznarić Ž, Vučelić B, Malenica B. Antibody against ASCA and P-ANCA in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. 16 th European Congress of Immunology 2006., Paris, Francuska

Učestalost ASCA i a/P-ANCA u bolesnika s UC i CB u odnosu na aktivnost bolesti

Bolesnici	Aktivnost bolesti	ELISA IgG i IgA ASCA (%)	p	IIF P-ANCA (%)	p
UC	aktivna remisija	0/16 (0) 0/11 (0)	NS	12/16 (75) 9/11 (82)	>0,005
CB	aktivna remisija	12/19 (63) 3/16 (19)	<0,025	3/19 (16) 5/16 (31)	NS

Kocen D, Geets Kesić M, Krznarić Ž, Vučelić B, Malenica B. Antibody against ASCA and P-ANCA in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. 16 th European Congress of Immunology 2006., Paris, Francuska

Zaključci:

- - a/P-ANCA su predominantna u UC (78%)
- - ASCA su karakteristična za CB (43%) u usporedbi sa UC i kontrolnom skupinom
- - istodobni nalaz ASCA i a/P-ANCA osjetljiv su (71%) i vrlo specifičan (100%) nalaz u razlikovanju bolesnika s IBD i kontrolnom skupinom
- - a/P-ANCA (+) i ASCA (-) nalaz osjetljiv su (78%) i specifičan (87%) nalaz za dijagnozu UC
- - a/P-ANCA (-) i ASCA (+) nalaz slabo su osjetljiv (49%) i visoko specifičan (96%) nalaz za CB
- - ASCA (+) češći je u bolesnika s aktivnom CB nego u remisiji CB

Literatura:

- Kocen D, Geets Kesić M, Krznarić Ž, Vucelić B, Malenica B. Phosphopeptidomannans (PPM) from *Saccharomyces cerevisiae* as a biomarker in the diagnosis of Crohn's disease. *Curr Stud Biotechnol* 2005;4:129-136.
- Kocen D, Geets Kesić M, Krznarić Ž, Vucelić B, Malenica B. Antibody against ASCA and P-ANCA in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. 16 th European Congress of Immunology 2006., Paris, Francuska
- Masters LS, Simon A, Aksentijevich I, Kastner LD. Horror Autoinflammaticus: The Molecular Pathophysiology of Autoinflammatory Disease. *Ann Rev Immunol* 2009; 27:621-628.
- Peeters M, Joossens S, Vermeire S, Vlietnick R, Bossuyt X, Rutgeerts P. Diagnostic value of anti-*Saccharomyces cerevisiae* and p-ANCA in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:730-734.
- Sandborn WJ. Serologic markers in inflammatory bowel disease: state of the art. *Rev Gastroenterol Disord* 2004; 4:167-174.
- Malenica B, Rudolf M, Kozmar A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA):Diagnostic utility and potential role in the pathogenesis of vasculitis. *Acta Dermatovenerol Croat* 2004; 12:294-313.
- Smetana-Škurle M, Krstulović A, Ostojić P, Krznarić Ž, Rudolf M, Vucelić B,
- Malenica B. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in inflammatory bowel disease (IBD): Prevalence and diagnostic role. *Period biol* 1998; 100:489-494.
- Sen D, Isenberg AD. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2003; 12:651-658.
- Reumaux D, Sendid B, Poulaïn D, Duthillent P, Dewit O, Colombel J-F. Serological markers in inflammatory bowel disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17:19-35.
- Rutgeerts P, Vermeire S. Serological diagnosis of inflammatory bowel disease. *The Lancet* 2000; 356:2117-2118.
- Reese EG, VA Constantinides, C Similis, AW Darzi, TR Orchard, VW Fazio, PP Tekkis. Diagnostic Precision of Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antibodies and Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies in Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:2410-2422.
- Buckland MS, M Mylonaki, D Rampton, Longhurst HJ,. Serological Markers (Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Mannan Antibodies and Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies) in Inflammatory Bowel Disease: Diagnostic Utility and Phenotypic Correlation. *Clin Diagn Lab Immunol* 2008; 12:1328-1330.
- Malenica B, Kozmar A, Ostojić R, Krznarić Ž, Vucelić B. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in inflammatory bowel disease: Characterization of antigenic specificities (Abstract). *J Autoimmunity* 1999 (Suppl): 81.