



KALPROTEKTIN

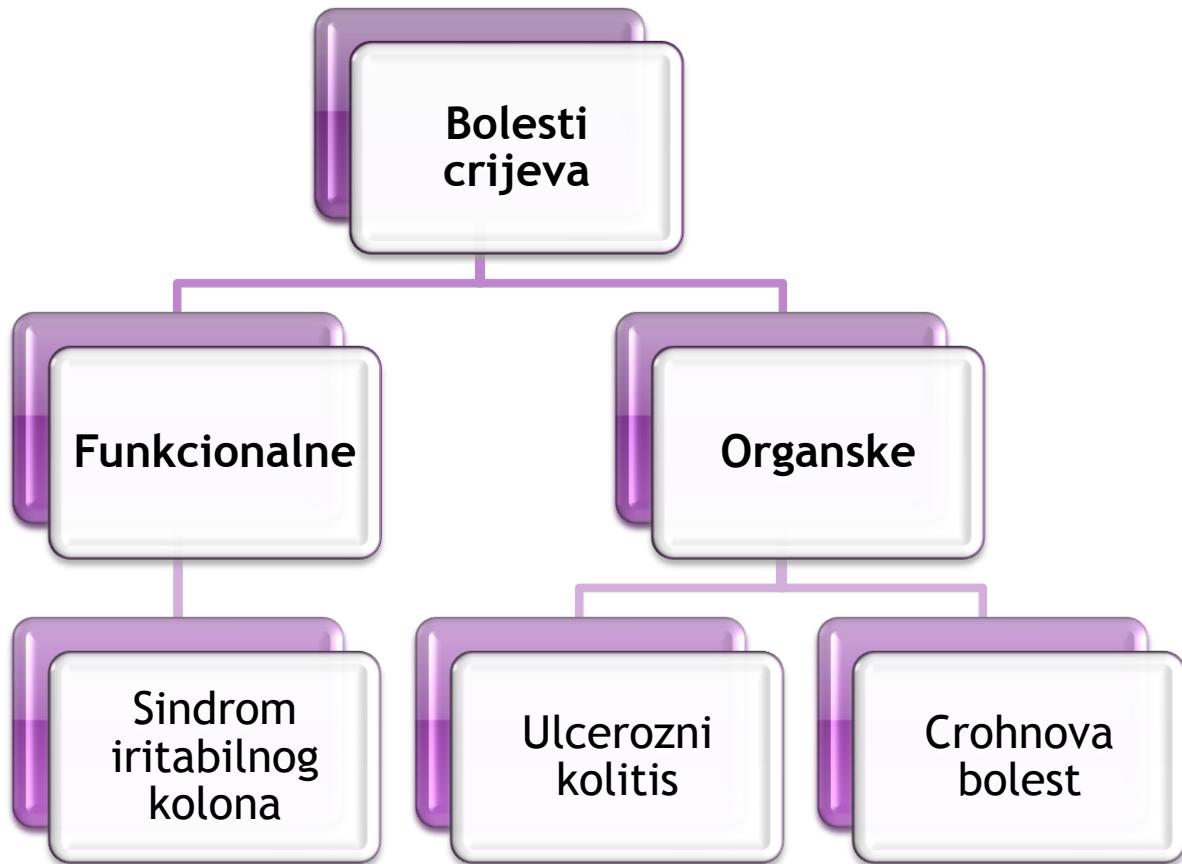
ULOGA U UPALNIM BOLESTIMA CRIJEVA

Ines Šahinović, mag.med.biochem.

Zavod za kliničku laboratorijsku dijagnostiku

Klinički bolnički centar Osijek

BOLESTI CRIJEVA



SINDROM IRITABILNOG KOLONA

IBS (ENGL. IRRITABLE BOWEL SYNDROME)

- poremećaj crijevnog motiliteta bez histoloških, morfoloških, biokemijskih ili mikrobioloških promjena
- kronična bolest s učestalim recidivima (epizodni karakter)
- posljedica je emocionalnog stanja (anksioznost, stres), neurohumoralnih čimbenika (kolinergici, antikolinergici) ili učinka gastrointestinalnih hormona (VIP, glukagon)
- Dijagnoza - eliminacijska
 - isključiti upalne bolesti crijeva

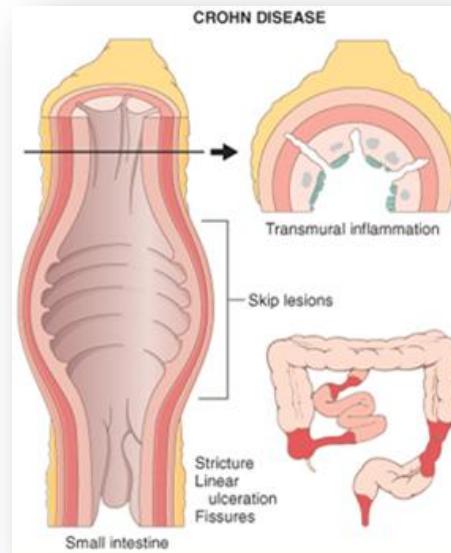
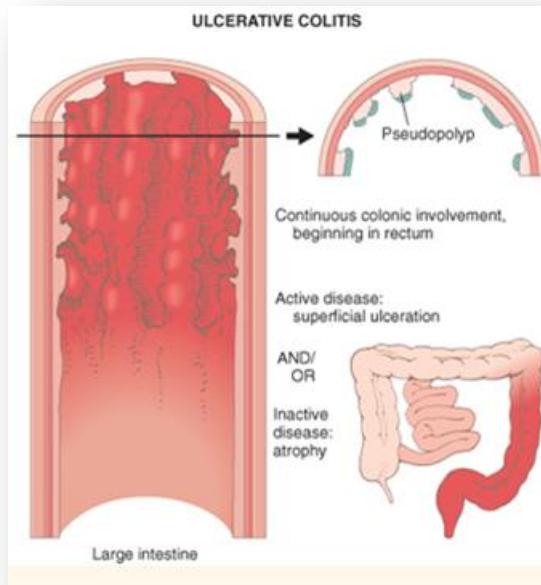
KOLONOSKOPIJA 

UPALNE BOLESTI CRIJEVA

IBD (ENGL. INFLAMMATORY BOWEL DISEASE)

- kronične idiopatske **upalne bolesti crijeva**
- kronični tijek s brojnim akutnim recidivima i remisijama upalnih oštećenja tkiva crijeva
- nepredvidiv tijek bolesti
- različita klinička slika i aktivnost bolesti

ULCEROZNI KOLITIS I CROHNOVA BOLEST



- kontinuirana upala sluznice
- upala najčešće ograničena na sluznicu
- atrofija stijenke crijeva (izbrisane haustre)
- preskakajuće lezije
- upalom zahvaćeni svi slojevi crijevne stijenke
- fibroza stijenke crijeva
- granulomi, fistule

Intraintestinalne i ekstraintestinalne komplikacije

POSTAVLJANJE DIJAGNOZE IBD

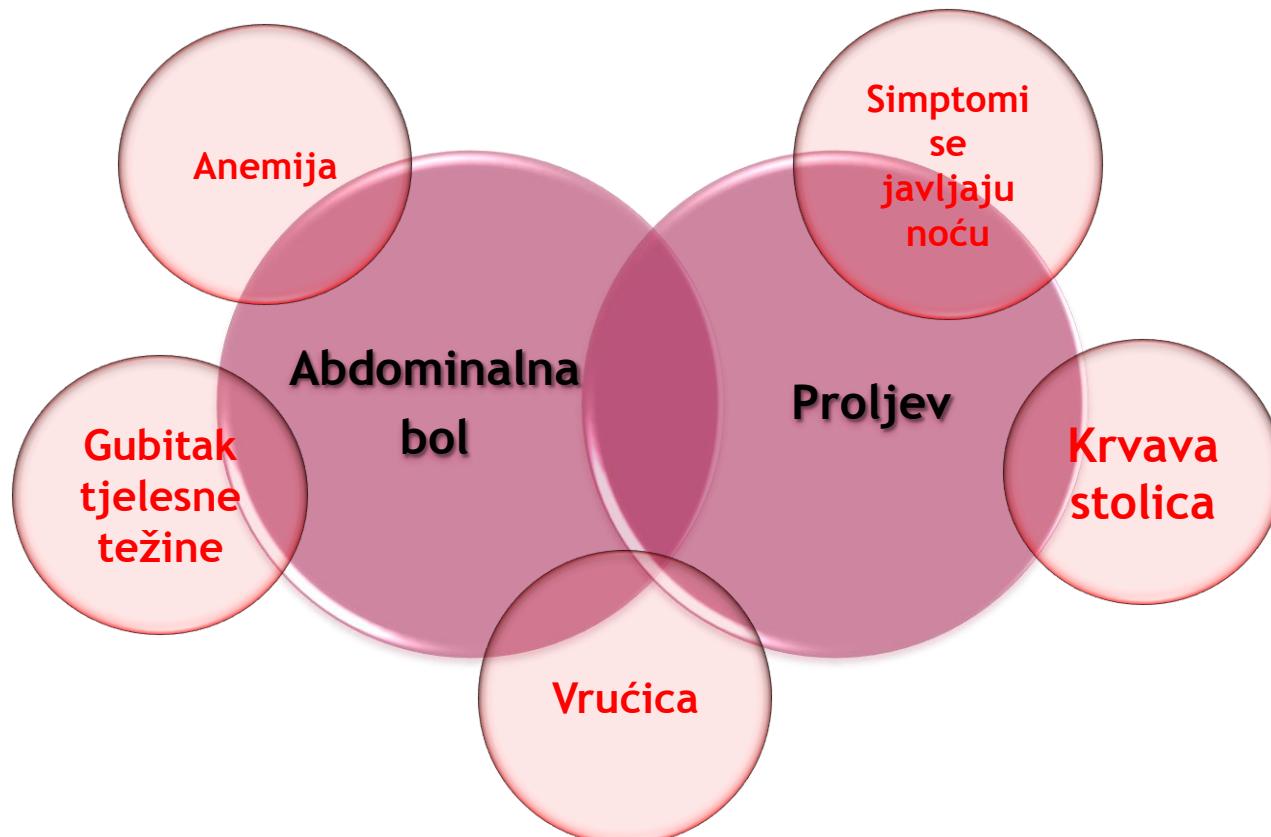
- Anamneza, povijest bolesti
- Laboratorijske pretrage

KKS, CRP, SE

- Mikrobiološke pretrage
analiza stolice na parazite i bakterije
- Slikovne tehnike
ultrazvuk abdomena
CT/MRI abdomena

KOLONOSKOPIJA S VIŠESTRUKIM BIOPSIJAMA

SIMPTOMI BOLESTI NESPECIFIČNI !



RED FLAGS

VRIJEME POTREBNO ZA POSTAVLJANJE DIJAGNOZE

- Švicarska IBD kohorta: 1591 pacijent (932 CD, 625 UC)

Vrijeme od pojave simptoma do dijagnoze IBD*		Vrijeme od pojave simptoma do prvog posjeta liječniku*		Vrijeme od prvog posjeta liječniku do dijagnoze IBD*	
UC	CD	UC	CD	UC	CD
12	24	4	6	5	18

*vrijeme izraženo u mjesecima

UC= ulcerozni kolitis, CD=Crohnova bolest

Potreban novi biljeg koji će omogućiti pouzdano, brzo, jednostavno i neinvazivno razlikovanje IBD i IBS kod pacijenata s nespecifičnim simptomima bolesti GIT-a.

CILJ:

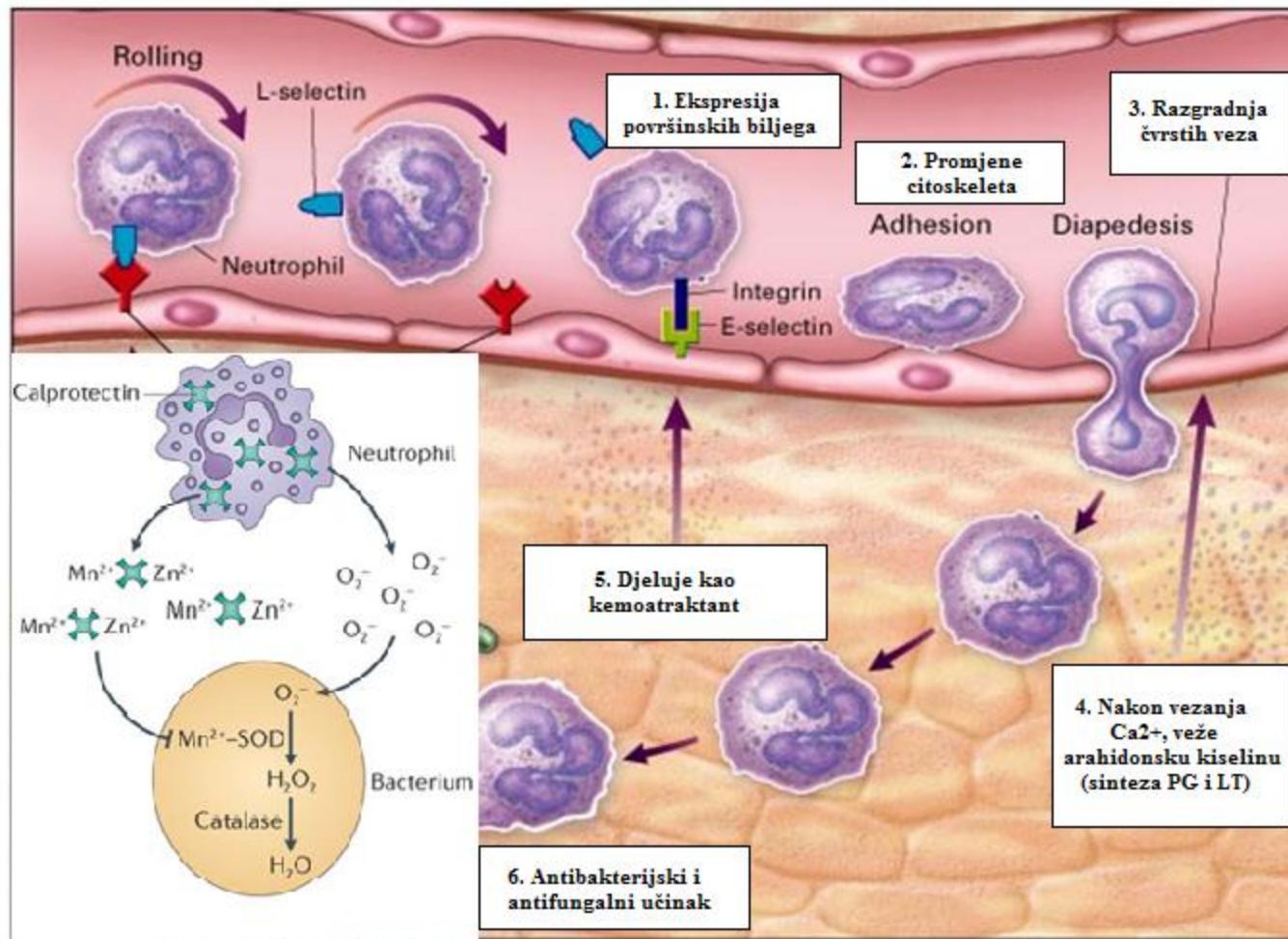
- Osjetljiv i specifičan pokazatelj upale u GIT-u
- Neinvazivno uzorkovanje
- Smanjiti broj nepotrebnih endoskopskih pregleda
- Rano otkrivanje recidiva bolesti
- Biljeg zacjeljenja crijevne sluznice (pranje uspješnosti terapije i ishoda bolesti)

KALPROTEKTIN

- 36 kDa Ca- i Zn-vezujući protein
- član S100 proteinske obitelji
- protein iz citosola fagocita
(neutrofili > monociti > makrofagi)
- pojačano se oslobađa tijekom upalnih stanja

- kemoatraktant
- antibakterijski i antifungalni učinak
- protuupalni učinak

ULOGE KALPROTEKTINA



DIJAGNOSTIČKA TOČNOST

- Statistički značajno veće vrijednosti kalprotektina kod pacijenata s IBD u odnosu na IBS pacijente

	Odrasli	Djeca i tinejđeri
Osjetljivost	0,93 (0,85 - 0,97)	0,92 (0,84 - 0,96)
Specifičnost	0,96 (0,79 - 0,99)	0,76 (0,62 - 0,86)
PPV		70 - 100%
NPV		51 - 91%

GRANIČNA VRIJEDNOST

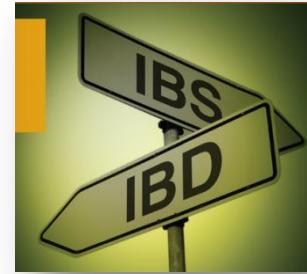
- ◉ Različite granične vrijednosti za razlikovanje IBD i IBS

24 - 150 µg/g stolice !!!

- ◉ Preporučena granična vrijednost

50 µg kalprotektina/g stolice

PREDNOSTI ODREĐIVANJA KALPROTEKTINA U STOLICI



1. RAZLIKOVANJE UPALNIH ORGANSKIH OD FUNKCIONALNIH BOLESTI CRIJEVA

KALPROTEKTIN U BOLESTIMA CRIJEVA



Tibble et al. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. Gastroenterology 2002;123(2):450-460

2. SMANJENA POTREBA ZA ENDOSKOPSKIM PREGLEDOM

Kalprotektin probir



Odrasli
u 67% slučajeva kolonoskopija nije potrebna



Djeca
u 35% slučajeva kolonoskopija nije potrebna



Lažno negativan rezultat
odgođeno postavljanje dijagnoze u 6% pacijenata

KALPROTEKTIN I POTREBA ZA KOLONOSKOPIJOM

Pacijenti s “red flag“ simptomima uz abdominalne bolove i/ili proljev



kolonoskopija

- u teškim akutnim stanjima s obilnim krvarenjem kolonoskopija kontraindicirana
- ponekada se endoskopom ne može doći do tankog crijeva



kalprotektin

3. KALPROTEKTIN I RANO OTKRIVANJE RECIDIVA BOLESTI

- porast kalprotektina u remisiji bolesti prije pojave kliničke slike recidiva
- povišene vrijednosti kalprotektina u remisiji povezane s većim rizikom od relapsa bolesti unutar 12 mjeseci
- pratiti vrijednosti kalprotektina svaka 3 mjeseca

PREDNOSTI ODREĐIVANJA KALPROTEKTINA U STOLICI - NASTAVAK

4. Surogat biljeg zacjeljenja crijevne sluznice
5. Praćenje odgovora na terapiju
6. Rano otkrivanje relapsa bolesti nakon resekcije

POTREBNA DODATNA ISTRAŽIVANJA

USPOREDBA DIJAGNOSTIČKE ULOGE KALPROTEKTINA U STOLICI I DRUGIH BILJEGA UPALE

KALPROTEKTIN VS. DRUGI BILJEZI UPALE

	Biljeg crijevne upale	Biljezi sistemske upale	
	Kalprotektin u stolici	CRP (>5 mg/L)	SE (>10 mm/h)
Osjetljivost	0,93	0,50	0,58
Specifičnost	0,96	0,81	0,72
DOR	27,8 (95% CI 17,6-43,7 P < 0,0001)	4,2 (95% CI 2,9-6,1 P < 0,0001)	3,2 (95% CI 2,2-4,6 P < 0,0001)

Tibble et al. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. Gastroenterology 2002;123(2):450-460

ODREĐIVANJE KALPROTEKTINA U UZORKU STOLICE



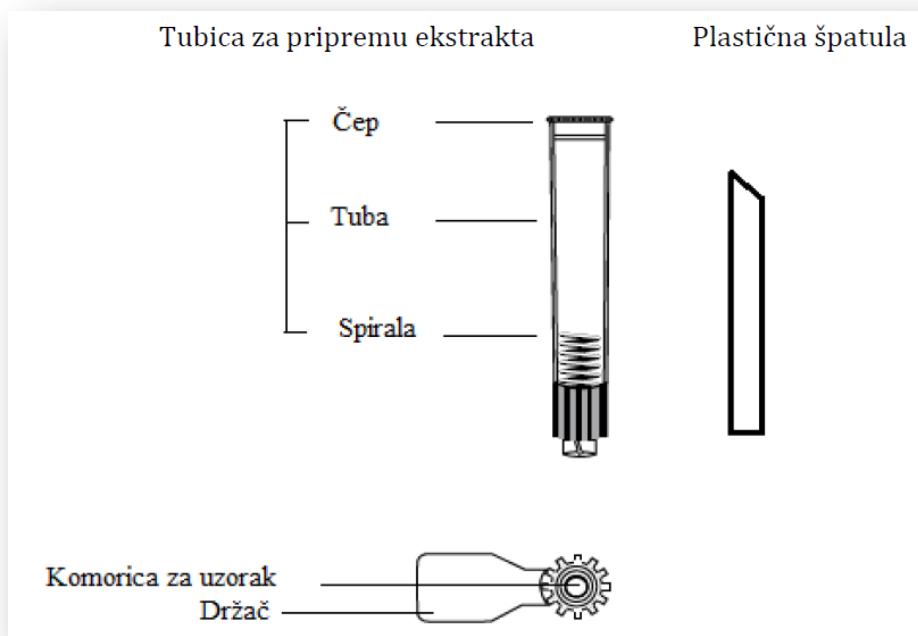
UZORKOVANJE



- prva jutarnja stolica (2-3 g uzorka)
- čista plastična posuda sa čepom i navojem
- kontaminacija urinom, ostatci neprobavljene hrane !!!

- kalprotektin otporan na proteolitičku lizu i stabilan u uzorku stolice do 5 dana na 4-8°C
- ne zamrzavati uzorak stolice

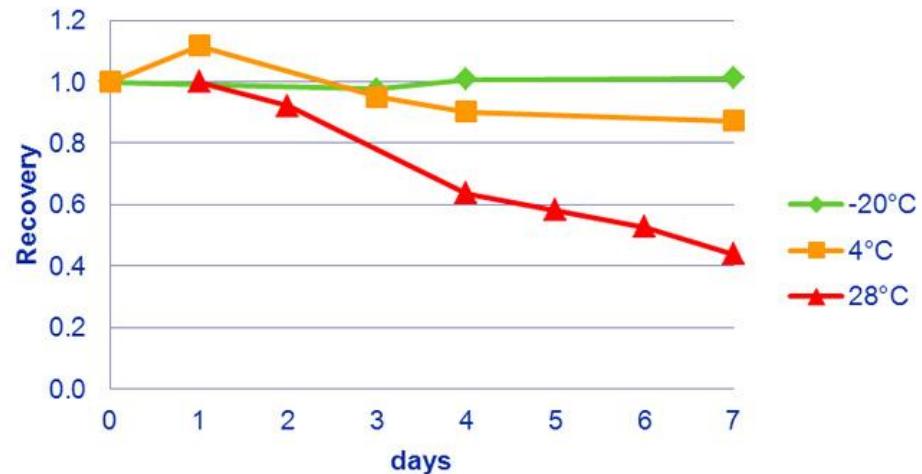
EKSTRAKCIJA KALPROTEKTINA



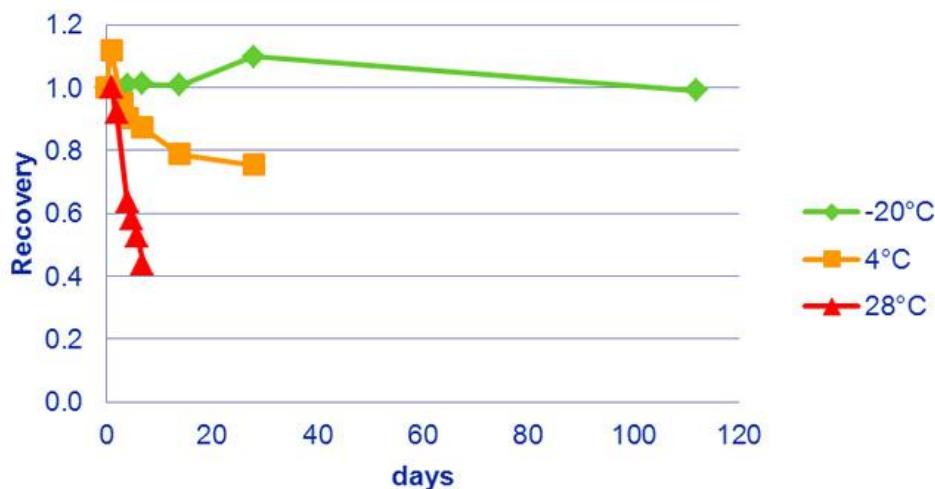
Buhlmann Smart-Prep, Faecal sample preparation kit



STABILNOST EKSTRAKTA STOLICE



Stabilnost unutar tjedan dana



Stabilnost unutar 4 mjeseca

METODE ODREĐIVANJA KALPROTEKTINA



POCT

(imunokemijski test na principu lateralnog protoka)

- PREDNOSTI: kratak TAT
- NEDOSTATCI: mala linearnost, upitna kalibracija



“SENDVIČ“ ELISA

- PREDNOSTI: veća linearnost metode, kalibracija u 6 točaka
- NEDOSTATCI: duži TAT

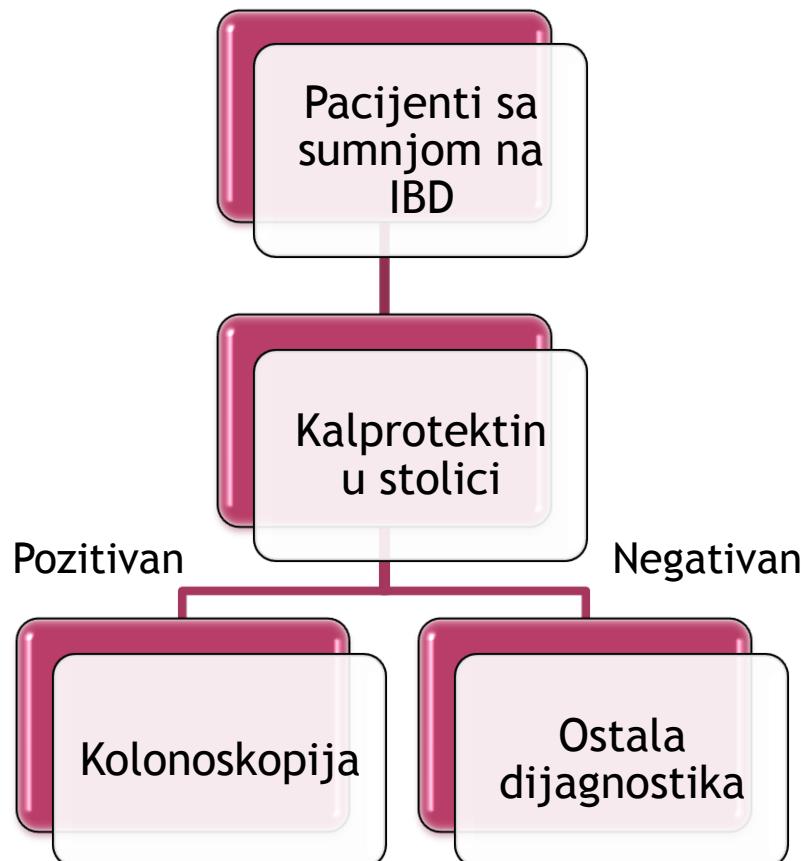


AUTOMATIZIRANA IMUNOKEMIJA

- PREDNOSTI: kratak TAT, veća linearnost
- NEDOSTATCI: veća cijena

ZAKLJUČAK

- Biljeg intestinalne upale
(nije IBD-specifičan!)
- Razlikovanje IBS i IBD
- Smanjuje potrebu za endoskopskim pregledom
- Rano otkrivanje recidiva bolesti
- Biljeg zacjeljenja crijevne sluznice



NOVOSTI I ZANIMLJIVOSTI ...

PillCam

- U bionerazgradivoj kapsuli smještena kamera i izvor svjetla
- Nakon ingestije, kamera snima sluznicu i istovremeno prenosi snimke na monitor računala
- Omogućuje snimanje sluznice cijelog GI trakta



LITERATURA

- Vavricka et al. Systematic evaluation of risk factors for diagnostic delay in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2011
- Van Rheenen et al. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. BMJ 2010;341:3369-80
- Tibble et al. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. Gastroenterology 2002;123(2):450-60
- Lehmann FS et al. The role of faecal markers in inflammatory bowel disease. Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol.5(1):23-36
- Loins E. Faecal calprotectin: Towards a standardized use for inflammatory bowel disease management in routine practice. JCC, 2015;1-3
- Včev A. Bolesti debelog crijeva, 2002, Grafika Osijek
- Buhlmann Smart-Prep, Faecal sample preparation kit, B-CAL-RD, Buhlmann Laboratories AG
- www.calprotectin.co.uk, pristupljeno 06.12.2015.

HVALA NA PAŽNJI!