

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "CAROL DAVILA" BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DOMENIU - GASTROENTEROLOGIE
ȘCOALA DE STUDII DOCTORALE

**DETERMINAREA UNOR FACTORI PREDICTIVI PENTRU
EVOLUȚIA SEVERĂ A BOLILOR INFLAMATORII INTESTINALE**

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

Conducător științific
Prof. Univ. Dr. Mircea DICULESCU

Doctorand
Dr. Alexandru Constantin MOLDOVEANU

București
2016

Cuprins

PARTEA TEORETICĂ A TEZEI DE DOCTORAT.....	6
Capitolul 1. Introducere	7
Capitolul 2. Epidemiologia bolilor inflamatorii intestinale (IBD).....	9
2.1. Localizarea geografică.....	9
2.2. Vârsta	9
2.3. Sexul	10
2.4. Criterii de rasă și etnie	10
2.5. Factorii de mediu	12
2.6. Factorii socio-economici.....	12
2.7. Alți factori.....	13
2.8. Incidența și prevalența înregistrată pe glob	13
Capitolul 3. Patogeneza bolilor inflamatorii intestinale acute	19
3.1. Factori genetici.....	19
3.2. Factorii de mediu	20
3.3. Bolile inflamatorii intestinale în relație cu poluarea aerului.....	21
3.4. Factorii microbieni.....	25
3.5. Factorii imunologici.....	25
Capitolul 4. Diagnosticul de boală inflamatorie intestinală la pacientul adult	39
4.1. Anamneza	39
4.2. Simptomatologie	39
4.3. Complicații.....	40
4.4. Examenul fizic al pacientului de boală inflamatorie intestinală	43
4.5. Analize de laborator.....	44
4.6. Imagistică și endoscopie	45
4.7. Histopatologie	46
4.8. Criterii de diagnostic în colita ulcerativă și în boala Crohn.....	47
4.9. Diferențe între colita ulcerativă și boala Crohn	48
4.10. Diagnostic diferențial.....	49
4.11. Definiții.....	52

Capitolul 5. Investigații imagistice utilizate în diagnosticul bolilor inflamatorii intestinale	57
5.1. Recomandările elaborate de Colegiul American de Radiologie pentru investigare	57
5.2. Evaluarea de ansamblu a modalităților de investigare imagistică în boala Crohn	64
Capitolul 6. Investigația endoscopică în bolile inflamatorii intestinale	77
6.1. Boala Crohn	77
6.2. Colita ulcerativă	77
6.3. Diferențele endoscopice dintre boala Crohn vs. colita ulcerativă	78
6.4. Evaluarea gradului de distribuție și întindere al bolii	79
6.5. Sisteme de scoruri utilizare în evaluarea bolilor inflamatorii intestinale din punct de vedere endoscopic	79
6.6. Rectosigmoidoscopia	81
6.7. Esogastroduodenoscopia	82
6.8. Endoscopia intestinului subțire prin intermediul capsule endoscopice	85
6.9. Alte roluri ale endoscopiei	86
6.10. Concluzii	88
PARTEA SPECIALĂ A TEZEI DE DOCTORAT	89
Capitolul 7. Obiectivele studiului	90
Capitolul 8. Material și metode	91
8.1. Loturile din cadrul studiului	91
Capitolul 9. Investigațiile efectuate	92
9.1. Evaluarea parametrilor clinici	92
9.2. Evaluarea parametrilor de laborator	93
9.3. Endoscopia digestivă	95
9.4. Histopatologie	97
9.5. Ecografia abdominală simplă	97
9.6. Elastografia ARFI	98
Capitolul 10. Elastografia cu unde acustice (ARFI)	99
10.1. Principiu de funcționare	99
10.2. Aparatul de studiu	99
10.3. Rezultate anterioare ale metodei	100

10.4. Rezultate anterioare în bolile inflamatorii intestinale.....	100
10.5. Protocol de funcționare.....	101
Capitolul 11. Protocolul de investigații	103
11.1. Investigația inițială.....	103
11.2. Urmărirea pacienților	103
11.3. Fișa pacientului	103
11.4. Tabel cu date și date calculate	110
Capitolul 12. Analiza statistică	117
12.1. Uneltele folosite.....	117
12.2. Parametrii de statistică descriptivă.....	117
12.3. Parametrii utilizați pentru toate testele statistice	118
12.4. Analiza distribuției normale a datelor.....	119
12.5. Teste pentru variabile categorice	120
12.6. Teste parametrice pentru variabile continue	121
12.7. Teste neparametrice pentru variabile continue	122
12.8. Teste pentru determinarea concordanței asocierii între două variabile	123
12.9. Clasificarea binară	124
12.10. Curba ROC (Receiver Operator Characteristic) și aria de sub curbă	126
Capitolul 13. Rezultate.....	127
13.1. Alcătuirea loturilor și caracteristici demografice.....	127
13.2. Criterii clinice	137
13.3. Criterii de evoluție severă	140
13.4. Criterii biologice – analize de laborator.....	142
13.5. Ultrasonografia abdominală.....	151
13.6. Elastografia ARFI	160
Capitolul 14. Discuții.....	177
14.1. Date demografice	177
14.2. Criterii clinice	177
14.3. Criterii de severitate.....	178
14.4. Criterii biologice	179
14.5. Ultrasonografia abdominală.....	182
14.6. Elastografia ARFI	184

Capitolul 15. Concluzii	189
Capitolul 16. Articole publicate în cadrul tezei	192
16.1. Cytokines in Inflammatory Bowel Disease	192
16.2. Inflammatory Bowel Diseases and Air Pollution	203
Bibliografie	212
Listă Tabele.....	241
Listă Figuri.....	245
Listă Ecuatii	247

PARTEA TEORETICĂ A TEZEI DE DOCTORAT

Capitolul 1. Introducere

Bolile inflamatorii intestinale (IBD) reprezintă o entitate generică care include două afecțiuni, cu evoluție cronică, caracterizate prin afectare imunologică și inflamatorie recurentă a tractului gastro-intestinal. Cele mai comune boli ce se pot include în această categorie sunt colita ulcerativă și boala Crohn. În boala Crohn procesul inflamator afectează întreg tractul digestiv pe când în colita ulcerativă este afectat numai intestinul gros. Boala Crohn și colita ulcerativă apar ca rezultat a interacțiunii între factorii genetici și factorii de mediu.

Capitolul 2. Epidemiologia bolilor inflamatorii intestinale (IBD)

2.1. Localizarea geografică

Un element important ar putea fi localizarea geografică. S-a observat că s-a înregistrat o incidență și o prevalență ridicată în emisfera nordică în țări cu climat rece față de țările din emisfera sudică și cu climat mai cald.

2.2. Vârsta

Studiile epidemiologice au evidențiat un vârf al incidenței în al 2-lea și al 3-lea deceniu de viață. Multe studii au arătat un model bimodal al incidenței, în mod special în cazul colitei ulcerative, în al 2-lea și al 3-lea deceniu de viață (un vârf al incidenței) și în decada 6 spre decada a 7-a de viață.

2.3. Sexul

În ceea ce privește boala Crohn, s-a înregistrat o morbiditate mai mare la femei, în special la femei tinere cu aprox. 30% mai mare (20) față de colita ulcerativă unde nu s-a evidențiat o preponderență mai mare a apariției la un sex sau altul .

2.4. Criterii de rasă

Se consideră că populația cu rădăcini europene de tip caucazian, ar avea cel mai mare risc de a dezvolta boală inflamatorie intestinală (24).

2.5. Factorii de mediu

Colita ulcerativă apare mai frecvent printre foști fumători și nefumători în timp ce boala Crohn apare mai frecvent printre fumători (40).

Boală inflamatorie intestinală apare mai frecvent în țări dezvoltate. Există un gradient nord-sud. De asemenea, apariția este mai frecventă în zonele urbanizate în comparație cu zonele rurale.

2.6. Factorii socio-economici

S- a arătat că există o legătură între apariția atât a colitei ulcerative cât și a bolii Crohn și prezența ocupațiilor cu „gulere albe” (42).

2.7. Alți factori

Dieta, folosirea contraceptivelor orale, infecțiile perinatale și cele apărute în copilărie cum ar fi rujeola și parotidita epidemică, infecții microbiene atipice, ocupația, au fost sugerate, dar nu dovedite, că ar putea avea un rol în apariția bolilor inflamatorii intestinale (49-52).

Există o ipoteză care încearcă să explice diferența de incidență între țările dezvoltate și cele în curs de dezvoltare și anume este vorba de o **“ipoteză igienică”**.

2.8. Incidența și prevalența înregistrată pe glob

În **Europa** bolile inflamatorii intestinale au o mai mare răspândire, cu un gradient nord-sud și cu o incidență crescută în sud și vest. Se înregistrează o creștere în spre est. Astfel, în Europa de Vest, pentru colita ulcerativă s-a înregistrat o prevalență de 4 – 10 / 100.000 iar pentru boala Crohn de 2 – 4 / 100.000. În **Statele Unite** este estimat că 1 – 1,3 milioane de persoane suferă de boli inflamatorii intestinale.

Incidența bolii Crohn în **America de Sud** a atins o medie de 1 – 3 / 100.000 și valoarea e în creștere la 3 – 4 / 100.000 în zonele mai dezvoltate din Brazilia (58).

Studiile efectuate în **Asia** au arătat că incidența bolii inflamatorii intestinale a variat între 0,54 per 100.000 până la 3,44 per 100.000 persoane (59).

În Japonia, într-un material publicat în 2009, prevalența colitei ulcerative a fost de 64 / 100.000 și a bolii Crohn de 21 / 100.000 (63)

În 2004, în **Australia**, rata incidenței standardizate după vârstă a bolilor inflamatorii intestinale, a bolii Crohn și a colitei ulcerative a fost de 25,2, 16,5 și 7,6 / 100.000/an (60).

2.8.1. Diferențe între caracteristicile bolilor inflamatorii intestinale între Est și Vest

Apar o serie de diferențe între zonele de est unde se evidențiază mult mai puține forme de boală cu localizare extraintestinală atât în cazul colitei ulcerative cât și a bolii Crohn. Spre deosebire de această situație, în țările din vest s-a pus în evidență un raport de 25% dintre pacienți care au manifestări extraintestinale cum ar fi artralgiile.

2.8.2. Incidența și prevalența globală și diferențele Est-Vest

Incidența pentru colita ulcerativă: S-a observat o creștere în țările vestice începând cu perioada de după al II-lea Război Mondial.

Incidența bolii Crohn: Rata incidenței pentru boala Crohn a fost mai scăzută decât cea pentru colita ulcerativă.

În est, de exemplu în Pakistan, se observă mult mai puține boli cu localizare extraintestinală spre deosebire de țările din Vest (artralgiile). În Pakistan, foarte puțini pacienți au fistule. În India, spre deosebire de țările din Vest, apar o serie de deosebiri și anume: vârsta de debut în cazul bolii Crohn este cu o decadă mai târzie, afectarea la nivelul colonului este mai comună, apariția fistulizărilor este mai puțin frecventă.

Capitolul 3. Patogeneza bolilor inflamatorii intestinale acute

3.1. Factorii genetici

Era modernă a geneticii legate de boala inflamatorie intestinală a început în 2001 prin descoperirea NOD2 („nucleotide-binding oligomerization domain containing 2”), prima genă de susceptibilitate pentru boala Crohn (102). NOD2 a fost descrisă ca un receptor intracelular ce recunoaște muramyl dipeptid-ul (MDP), element prezent în structura peptidoglicanilor atât la bacteriile Gram negative cât și la cele Gram pozitive. Stimularea MDP duce la autofagie, proces ce controlează replicarea bacteriană și prezentarea de antigen. Autofagia este un mecanism crucial de apărare împotriva bacteriilor, dar senzorul extracelular responsabil pentru inducerea autofagiei ca răspuns la infecția bacteriană rămâne necunoscut. Senzorii intracelulari NOD1 și NOD2 au rol critic în răspunsul prin autofagie la invazia bacteriană. Rezultatele unui studiu leagă activitatea proteinelor NOD de inducerea autofagiei, prezentând astfel o legătură funcțională între NOD2 și ATG16L1. Aceste două gene sunt unele dintre cele mai importante gene asociate cu boala Crohn (103-105)

3.2. Factorii de mediu

Un număr important de factori de mediu joacă un rol în patogenia bolilor inflamatorii intestinale. Printre aceștia se pot enumera fumatul, dieta, unele tratamente medicamentoase, apartenența geografică, mediul social, stresul, elementele psihologice.

3.3. Bolile inflamatorii în raport cu poluarea aerului

3.3.1. Relația dintre poluarea aerului, fumat și bolile inflamatorii intestinale

Poluarea aerului cu particule și fumatul este asociat cu apariția bolii Crohn având un impact negativ asupra evoluției bolii (112, 126). Spre deosebire de aceasta, colita ulcerativă apare mai frecvent la nefumători sau la foști fumători iar evoluția bolii este influențată pozitiv de fumat.

3.3.2. Mecanismele prin care poluarea aerului poate determina afectarea țesutului intestinal ar fi: efectul direct al poluanților asupra celulelor epiteliale, alterarea răspunsului imun, efectul asupra microflorei intestinale.

3.3.3. Boala inflamatorie intestinală: interrelația genetică- mediu

Descoperirea implicării genetice în etiopatogenia bolilor inflamatorii intestinale a reprezentat un element important în ultima decadă. Totuși, numai 20% dintre cazuri se pot explica astfel. Se sugerează că probabilitatea ca factorii de mediu să contribuie mai mult decât componenta genetică la patogeneza bolilor inflamatorii intestinale este mai mare (160).

3.4. Factorii microbieni

Microbiomul intestinului uman numără aproximativ 1150 de specii bacteriene (165).

O serie de studii au dovedit faptul că în bolile inflamatorii intestinale se produce o reducere și o instabilitate a biodiversității microbiomului fecal în comparație cu subiecți sănătoși (167, 168).

Un alt element important ce trebuie analizat este stratul de mucus, strat format din două sub-straturi. Stratul exterior este slab aderent și propice dezvoltării bacteriene și stratul intern care este un strat aderent care în mod normal este steril. În bolile inflamatorii intestinale și în mod special în boala Crohn, în stratul intern aderent se evidențiază prezența bacteriilor (170, 171).

În boala Crohn a fost evidențiată un fenotip de E. Coli aderent și invaziv (AIEC). S-a dovedit că AIEC poate induce colită granulomatoasă atât in vitro cât și la animale de experiență (câini boxeri) (174).

3.5. Factorii imunologici

Se cunosc trei ipoteze care caută să explice interacțiunea dintre triggerul antigenic și răspunsul imun al gazdei, în cazul bolilor inflamatorii intestinale, atât la nivelul mucoasei cât și la nivel sistemic.

Prima ipoteză sugerează că triggerul antigenic este reprezentat de patogenii microbieni.

A doua ipoteză sugerează că triggerul antigenic din boala inflamatorie intestinală poate fi un antigen comun ce apare în dietă sau un agent microbial non-patogenic față de care apare o reacție imună anormală, reacție mediată de celulele CD4⁺, ceea ce poate duce la distrugerii tisulare.

A treia ipoteză susține că triggerul antigenic este produs de celulele proprii ale pacientului și în special de celulele epitelului intestinal. În această teorie “autoimună” apare un răspuns adecvat împotriva unui antigen intraluminal, dietetic sau microbial datorită similarității dintre antigenul luminal și proteina de pe celulele epiteliale. În prezent se cunosc 2 auto-anticorpi care sunt mai specifici și pot fi evidențiați în colita ulcerativă și pot avea rol în patogenia bolii și anume pANCA și anticorpii direcționați spre tropomiozină. Mai multe studii au confirmat prevalența crescută, în proporție de 80%, a anticorpilor pANCA la pacienții cu colita ulcerativă și o prevalență mai mare la cei care asociază colangită sclerozantă primitivă.

Patogeneza bolii inflamatorii intestinale a fost dominată de răspunsul imun al celulelor T. O serie de evidențe arată că disfuncții în căile de răspuns imunitar înnăscut sau dobândit determină răspunsul aberant inflamator de la nivelul intestinului.

3.5.1. Imunitatea înnăscută

Răspunsul imun înnăscut se bazează pe detectarea căilor moleculare asociate microbilor, prin intermediul unor structuri specializate cum ar fi toll-like receptors (TLRs) de la suprafața celulei și nucleotide oligomerization domain- (NOD-) like receptors (NLRs) în citoplasmă. TLRs și NLRs sunt distribuite în mucoasa gastro-intestinală fiind mai prezente în epiteliu și în celulele imune și non-imune ale laminei propria. Se pare că TLRs suferă procesul de „down-regulation” (scăderea concentrației la aplicarea de stimuli), în timp ce NLRs joacă un rol critic în apărarea mucoasei intestinale. Susceptibilitatea la boala Crohn se poate asocia cu anormalitățile NOD2 și NLRs.

Citokina IL-23 are un rol cheie atât în imunitatea înnăscută cât și cea dobândită și are rol în inducerea unui răspuns precoce împotriva microbilor.

3.5.2. Imunitatea dobândită

Boala Crohn se caracterizează printr-un răspuns imun Th1 în timp ce colita ulcerativă este o boală mediată Th2. Date experimentale duc spre o reconsiderare a paradigmei Th1/Th2 atât în boala Crohn cât și în colita ulcerativă.

3.5.3. Rolul citokinelor în bolile inflamatorii intestinale

Inflamația reprezintă cel mai comun tip de răspuns pe care organismul uman îl folosește ca mecanism de apărare la factorii agresori din mediu (187). Frecvența și gradul inflamației depind de aria de țesut afectată.

Se consideră că există două modele de răspuns ale celulelor non-imune ale mucoasei intestinale și anume: un **model unidirecțional** în care toate celulele non-imune ale mucoasei au o atitudine pasivă, așteptând să fie lezate și eventual să moară ca urmare a acțiunilor celulelor imune efectoare (188) și un **model bidirecțional sau multidirecțional** în care se consideră că toate tipurile de celule ce populează mucoasa au un rol activ în imunitatea intestinală și în inflamație.

3.5.3.1. Citokinele pro-inflamatorii

Citokinele pro-inflamatorii au un rol important în bolile inflamatorii intestinale și includ mai multe tipuri (187):

Tumor – Necrosis Factor – α (TNF- α) este produs de macrofage, monocite și de celule diferențiate T. TNF- α își exercită efectele pro-inflamatorii printr-o producție crescută de IL-1 β și IL-6. Expresia de TNF- α a fost identificată atât în țesutul colonic cât și în macrofage atât în boala Crohn cât și în colita ulcerativă (203).

TNF-like 1A (TL1A) este o citokină a cărei participare la procesul inflamator intestinal a fost relativ recent demonstrată. Este secretată de celule prezentatoare de antigen (APC), de celulele T precum și de celulele endoteliale. TL1A se pare că stimulează secreția de INF- γ prin stimularea celulelor Th.

IL-1 alături de TNF- α este important în patogeneza bolii inflamatorii intestinale datorită acțiunii de mediere up-regulatorie și activitate pro-inflamatorie. În colita ulcerativă, IL-1, inhibitorul său natural IL-1Ra și TGF-beta 1 (transforming growth factor beta1) guvernează întinderea și durata procesului inflamator.

Nivelele de IL-6 și de sIL-6R se pot corela cu multiple manifestări clinice ce apar atât în boala Crohn cât și în colita ulcerativă. IL-6 este implicată în procesele de fibrogenză (196, 215-218).

IL-18 este produs de celulele epiteliului intestinal și a fost identificat inițial ca factor de producere a IFN- γ . Echilibrul între IL-18 și inhibitorul său natural IL-18BP (IL-18-binding

protein) poate avea un rol în patogenia bolii inflamatorii intestinale (225). S-a evidențiat o creștere a producției locale de IL-18 în situația unor leziuni cronice față de control în boala Crohn (226).

Citokina IL12 poate acționa sinergic cu IL-18 în a promova producția de IFN- γ producând inflamația severă a intestinului (228).

Recent, a fost identificată o nouă celulă T, numită Th17 și caracterizată prin producerea de IL-17 și care a fost identificată ca având un rol important în răspunsul inflamator (230).

IL-17 favorizează producerea multor factori pro-inflamatorii, inclusiv a TNF- α , IL-6, și IL-1 β ceea ce a dus la concluzia că IL-17 are un rol foarte important în amplificarea și localizarea inflamației (232-234). IL-17 influențează activitatea fibroblaștilor în boala Crohn (235).

IL-12 și IL-23 aparțin familiei IL-12 de citokine heterodimerice cu efect pro-inflamator. IL-12 induce producerea de IFN- γ .

Se pare că IL-23 este esențial pentru manifestările cronice ale inflamației intestinale spre deosebire de IL -12 care nu are această importanță. Recent a fost descris și IL -27.

3.5.3.2. Citokinele anti-inflamatorii și citokinele imunomodulatoare

Citokinele cu efect anti-inflamator au un rol mult mai puțin bine caracterizat în legătură cu boala inflamatorie intestinală. Acest grup de citokine include IL-4 și TGF- β .

IL-4 are un efect stimulator pentru celulele B și T și au efecte imuno-stimulante în intestin.

TGF- β este o citokină inhibitoare ce recunoaște a fi o cheie reglatoare a homeostaziei imunologice și a răspunsului inflamator. Reducerea activității TGF- β este considerată a fi responsabilă pentru dezvoltarea unor dezordini autoimune printre care și boala inflamatorie intestinală (242).

IL-10 este o citokină cu efect anti-inflamator care inhibă atât prezentarea antigenului cât și eliberarea citokinelor pro-inflamatorii. O inactivare a IL-10 la șoareci a dus la creșterea producției de IL-12 și de IFN- γ (245, 246). În boala Crohn, în situația apariției inflamației și a granuloamelor, nivelul de IL-10 evidențiat a fost scăzut.

3.5.3.3. Alte citokine cu rol în IBD

Alte citokine ca IL-21 și IL -22 pot juca un rol și în inducerea bolii inflamatorii intestinale ca și în alte boli autoimune.

IL-21 acționează asupra epiteliului intestinal menținând inflamația indusă de Th1 prin inducerea producerii de IFN- γ (249, 250).

IL-22 are rol pro-inflamator și este crescut atât în boala Crohn cât și în colita ulcerativă (236, 255, 256).

IL-13: Colita ulcerativă este caracterizată printr-un răspuns imun Th2 în care IL-13 (produs de celulele NKT) poate determina deteriorarea funcției barierei epiteliale (262). IL-13 semnalizând prin receptorul (IL-13Ra) este foarte important în inducerea fibrozei cauzate de producția de TGF- β 1.

3.5.3.4. Factori genetici, factori de mediu, elemente privitoare la microbiomul intestinal și elemente imune caută să arate mecanismele prin care este indus acest grup de boli.

Capitolul 4. Diagnosticul de boală inflamatorie intestinală la pacientul adult

4.1. Anamneza

Trebuie să furnizeze elemente despre: Antecedente de diaree (sanguinolentă sau mucoasă), dureri abdominale, vărsături, pierdere în greutate, manifestări extra-intestinale, prezența fistulelor, afectare perianală (în cazul bolii Crohn), febră, istoricul apariției simptomatologiei, posibilele manifestări extraintestinale, antecedente în ce privește prezența unor infecții intestinale, istoric de tuberculoză sau contact de tuberculoză, medicație, antecedente heredo-colaterale de boli inflamatorii intestinale, boală celiacă, cancer colo-rectal, fumat.

4.2. Simptomatologia

Simptome legate de leziunile inflamatorii ale tractului digestiv: diaree, constipație, spasme severe la nivel intestinal – urgență, tenesme, crampe abdominale și dureri, greața, vărsături, febră, lipsa poftei de mâncare, pierdere în greutate, oboseală, transpirații nocturne, scăderea ratei de creștere, amenoree primară.

Complicații: hemoragii, perforații intestinale, abcese intra-abdominale ce pot apare în cazul bolii Crohn, stricturi sau obstrucții, fistule și afectare perianală (important în boala Crohn), megacolonul toxic, malignitatea, colangită primară sclerozantă, prezența adenocarcinomului intestinului subțire.

4.3. Complicații

4.3.1. Complicațiile extraintestinale: artrita - cea mai comună complicație, spondilita anchilozantă, pioderma gangrenosum, eritemul nodos, irită, uveită, episclerită, colangită sclerozantă primară, osteoporoză, tromboembolism venos, necroză avasculară, evenimente ischemice arteriale, complicații psihiatrice, steatohepatita nonalcoolică, nefrolitiază și litiază biliară.

4.4. Examenul fizic al pacientului de boală inflamatorie intestinală

- A. Examenul general evaluează: starea generală, paloarea, cașexia, statusul nutrițional, TA și puls, temperatura corpului, greutate și înălțime.
- B. Regiunea abdominală: masă abdominală, distensie, sensibilitate abdominală, lipsa sunetelor de tranzit intestinal (ocluzie), hepatomegalie, prezența unor cicatrici chirurgicale.
- C. Regiunea perianală: zone inflamate, fisuri, fistule, abcese, stricturi, prezența unor mase la nivelul rectului.
- D. Examenul fizic extra-intestinal: examinarea cavității bucale, a ochilor, a tegumentelor și a articulațiilor. Prezența: ulcerelor aftoase, artropatiilor, uveitei, episcleritei, eritemului nodos, pioderma gangrenosum, sindromul Sweet, colangită primară sclerozantă (manifestare a bolii cronice de ficat), boală osoasă în context metabolic.

4.5. Analizele de laborator

- A. Examinarea scaunului include: examen copro-parazitologic, identificarea prezenței *Clostridium difficile*, prezența hemoragiilor oculte în scaun, prezența Cytomegalovirusului, determinarea calprotectinei, lactoferină, α 1-antitripsin
- B. Examinarea sanguină include efectuarea: hemogramei, VSH-ului, proteinei C reactive și nivelul oromucoidului, a electroliților și nivelul albuminei, nivelul feritinei, nivelul calciului, magneziului, nivelul de vitamină B12.
- C. Enzime hepatice și teste funcționale hepatice – INR (international normalized ratio), bilirubină, albumină, colesterol, transaminaze.
- D. Testul HIV (testul imunodeficienței umane),
- E. Testul p-ANCA și testul ASCA.
- F. Testul pentru anticorpi de boală celiacă.
- G. Teste pentru a exclude tuberculoza intestinală - în arii cu probabilitate mare.

4.6. Imagistică și endoscopie : radiografie abdominală pe gol, tranzit baritat – radiografie, sigmoidoscopie, colonoscopie, endoscopie gastro-intestinală superioară.

Evaluarea imagistică transversală: tomografie computerizată (CT), ultrasonografie, imagistică prin rezonanță magnetică (MRI), capsulele endoscopice, push enteroscopia, enteroscopia cu dublu balon, colangiopancreatografie prin rezonanță magnetică (MRCP) sau colangiopancreatografia retrogradă endoscopică (ERCP), DEXA (Dual-Energy X-Ray absorptiometry), radiografie pulmonară.

4.7. Histopatologie Se poate practica biopsia ce este prelevată în timpul endoscopiei.

4.8. Criterii de diagnostic în colita ulcerativă și în boala Crohn : Criteriile OMS-ului de diagnostic ale bolii Crohn (71, 72).

4.9. Diferențe între colita ulcerativă și boala Crohn: din punct de vedere clinic, endoscopic și radiologic, histopatologic și ținând cont de markerii biologici.

4.9.1. Considerații diagnostice: identifică elemente de supraveghere și tratament: Pacienții trebuie să fie urmăriți până la 3-6 luni după primul atac, administrarea tratamentului pentru tuberculoză dacă este cazul, supravegherea pentru cancerul colo-rectal.

4.10. Diagnostic diferențial între colita ulcerativă și boala Crohn: de efectuat diagnostic diferențial între cele două entități și cu alte boli de tipul colită infecțioasă, colită ischemică, colită post-radioterapie, purpură Henoch-Schönlein, colită colagenoasă sau colită limfocitară, boala Behçet, colită complicată cu HIV, colită cronică în cadrul diverticulitei, enteropatie post tratament cu medicamente anti-inflamatoare non-steroidiene, enterită eozinofilică, limfom intestinal, cancer de colon.

4.10.1. Bolile inflamatorii intestinale și tuberculoza intestinală: identifică elementele de diferență între cele două entități.

4.11. Definiții. Sunt definite, atât în boala Crohn cât și în colita ulcerativă noțiunile de boală activă, remisiune, răspuns, recidivă, recurență, boală localizată, boală extinsă, pacient nou.

Capitolul 5. Investigații imagistice utilizate în diagnosticul bolilor inflamatorii intestinale

5.1. Recomandările elaborate de Colegiul American de Radiologie pentru investigare. Cuprinde o evaluare a metodelor de investigație imagistică în bolile inflamatorii intestinale în cazul pacienților adulți în stare acută, cu suspiciune de boală Crohn, a pacienților adulți care nu sunt în stare acută sau la o prezentare inițială, cu suspiciune de boală Crohn, a pacienților adulți cunoscuți cu boală Crohn ce se prezintă în puseu acut sau în cazul pacienților adulți cu boală Crohn cunoscută, stabili, cu simptome ușoare și/ sau în supraveghere.

5.2. Evaluarea de ansamblu a modalităților de investigație imagistică în boala Crohn

5.2.1. Entero-CT este practicat pe scară largă. Se enumeră recomandările investigației.

5.2.2. Entero-CT/CT enteroclysis versus CT abdomen/pelvis standard - Se enumeră recomandările investigației.

5.2.3. Examinarea radiologică a tractului gastro-intestinal pentru diagnosticarea bolii Crohn a inclus examenul baritat al intestinului subțire, pasajulul baritat prin sondă nazo-duodenală (CT enteroclysis).

5.2.4. Radiografia abdominală : Are utilitate limitată la stadiile incipiente ale bolii Crohn. Radiografia abdominală poate fi utilă în formele severe de boală prin evidențierea complicațiilor cum ar fi ocluziile sau perforația intestinală.

5.2.5. Medicina nucleară: Examinarea scintigrafică include scintigrafia cu Tc 99 și fluorine-18-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose și tomografia cu emisie de pozitroni FDG-PET/CT. Această investigație joacă un rol minor în diagnosticarea bolii Crohn. Ar putea avea un rol limitat în urmărirea cazurilor deja diagnosticate.

5.2.6. Rezonanța magnetică (entero-RM/RM enteroclysis): Cu ajutorul acestei metode de investigație se poate vizualiza cu acuratețe modificările ce apar la nivelul peretelui intestinal în fazele incipiente ale bolii Crohn.

5.2.7. Ultrasonografia:

Ultrasonografia trans-abdominală, este o metodă non-invazivă cu posibilitate de abordare mare, puțin costisitoare și care nu presupune expunerea la radiații ionizante. Sensibilitatea metodei este între 75% și 94%, și specificitatea între 67% și 100% (291-293). Metoda a fost utilizată cu succes pentru efectuarea screening-ului la cei ce au o simptomatologie ce te îndreaptă spre acest diagnostic.

5.2.7.1. Aspectul normal al intestinului subțire din punct de vedere ultrasonografic: Este caracterizat prin prezența a cinci straturi concentrice alternând un semnal hiperecogen și un semnal hipocogen. Grosimea normală a peretelui intestinal este considerată a fi < 3-4 mm, < 1,5-3 mm în ileonul terminal la adulți și ≤ 5 mm și < 2 mm la nivelul colonului la copii.

5.2.7.2. Evaluarea ultrasonografică în boala Crohn: Investigația ultrasonografică intestinală este o manevră de primă linie în diagnosticul suspiciunii de boală Crohn (265). De asemenea, această investigație este foarte utilă în procesul de urmărire a evoluției bolii la pacienții deja diagnosticați cu boală Crohn.

5.2.7.3. Evaluarea ultrasonografică în investigarea precoce a pacienților cu suspiciune de boală Crohn : Cel mai important semn în ecografia standard ce poate duce spre un diagnostic

de boală Crohn o reprezintă *îngroșarea pereților intestinali*. S-a obținut o sensibilitate de 75-94% și o specificitate de 67-100% (294, 307).

5.2.7.4. Evaluarea extinderii leziunilor în boala Crohn: Din punct de vedere al evaluării extinderii leziunilor, rezultatele sunt destul de echivoce în ceea ce privește corelarea dintre ecografia standard cu elementele puse în evidență prin intermediul investigațiilor radiografice sau elementele obținute intraoperator (313, 314).

5.2.7.5. Evaluarea activității inflamatorii în boala Crohn: S-a încercat realizarea unui index al activității inflamatorii intestinale, index elaborat pornind de la gradul de îngroșare al peretelui intestinal și la structura multistrat al acestuia.

5.2.7.6. Evaluarea complicațiilor abdominale ale bolii Crohn: aspectul ecografic în cazul stenozelor, fistulelor, abceselor intra-abdominale, hipertrofia țesutului gras mezenteric, evoluția post-operatorie și apariția recăderilor în cazul bolii Crohn.

5.2.7.7. Colita ulcerativă: Există o serie de studii ce au evaluat utilitatea ecografiei standard în diagnosticarea colitei ulcerative cu o sensibilitate între 48 – 100% și o specificitate între 82 – 90%.

5.2.7.8. Concluzii referitoare la utilitatea investigării ecografice în bolile inflamatorii intestinale și în special în boala Crohn: Investigația ecografică permite investigarea zonelor greu accesibile endoscopic cum ar fi investigarea patologiei murale și extramurale ale intestinului subțire. Cel mai mare câștig în evaluarea ultrasonografică a tractului digestiv a fost obținut prin apariția Ultrasonografiei cu Contrast al Intestinului Subțire (SICUS), investigație superioară ecografiei trans-abdominale standard.

Capitolul 6. Investigația endoscopică în bolile inflamatorii intestinale

6.1. Boala Crohn: Apar următoarele modificări: inflamația, prezența unor ulcere cu aspect de piatră de pavaj, leziuni ulcerative de tip aftos, cruțarea zonei rectală, afectare perianală, prezența fistulelor.

6.2. Colita ulcerativă: Apar următoarele modificări: procesul inflamator este limitat în general la rect, prezența unor ulcere discrete sau întinse, leziuni ulcerative de tip aftos.

6.3. Diferențele endoscopice dintre boala Crohn vs. colita ulcerativă: diferențe în localizare, aspectul mucoasei, prezența fistulelor și al ulcerărilor.

6.4. Evaluarea gradului de distribuție și întindere al bolii: stabilirea distribuției și întinderii bolii este esențială în a face diferența între boala Crohn și colita ulcerativă. Aceasta, în vederea stabilirii unei conduite terapeutice și a evaluării riscului de apariție a cancerului colo-rectal.

6.5. Sisteme de scoruri utilizare în evaluarea bolilor inflamatorii intestinale din punct de vedere endoscopic : Există mai multe sisteme de scorare pentru a evalua severitatea și progresia bolilor inflamatorii intestinale (333).

Astfel, pentru boala Crohn se poate utiliza Scorul Endoscopic Simplu (SES), Indexul Endoscopic de Severitate (EIS) și scorul Rutgeerts ce evaluează recurența postoperatorie, dar nu are nici un rol în evaluarea remisiei post tratament medicamentos.

6.6. Rectosigmoidoscopia: Această metodă este utilă și în situația unui diagnostic diferențial cu o cauză infecțioasă.

6.7. Esogastroduodenoscopia: rol semnificativ în diagnosticul inițial al bolii inflamatorii intestinale.

6.7.1. Colita ulcerativă: se recomandă a se efectua endoscopia gastro-duodenală la pacienții la care colonoscopia inițială face greu diferența între colita ulcerativă și boala Crohn.

6.7.2. Boala Crohn: rolul endoscopie gastro-duodenale nu este așa de clar definit. În practica pediatrică s-a constatat că endoscopia gastro-duodenală poate face un diagnostic diferențial între boala Crohn și colita ulcerativă (329, 342).

6.7.3. Localizarea și extinderea leziunilor: Cele mai comune localizări ale bolii la nivelul tractul gastro-intestinal superior sunt la nivelul antrului gastric și la nivelul duodenului.

6.8. Endoscopia intestinului subțire prin intermediul capsule endoscopice: permite evaluarea întinderii leziunilor, cuantificarea răspunsului la terapie sau detectarea apariției recăderilor.

6.9. Alte roluri ale endoscopiei : Endoscopia poate fi utilizată în scop terapeutic.

6.9.1. Hemoragiile: După identificarea sursei de sângerare, trebuie instituită terapia administrată endoscopic.

6.9.2. Stricturne: Dilatarea cu balon endoscopic a fost utilizată pentru a trata stricturile benigne ce pot apare în boala inflamatorie intestinală cu un succes între 51% - 85%.

6.9.3. Colangiopancreatografia retrogradă: Colangiopancreatografia endoscopică retrogradă (ERCP) are rol important în diagnosticarea colangitei pancreatice primare, a colangitei sclerozante.

6.9.4. Utilizare endoscopică a ultrasunetelor permite a se diferenția între colita ulcerativă și boala Crohn, determinarea gradul de activitate al bolii, diferențierea față de colitele infecțioase, permite evaluarea afectării perianale, prezența abceselor, prezența fistulelor și a limf-adenopatiilor.

6.10. Concluzii

Concluzia ce se poate desprinde este că endoscopia joacă un rol foarte important în diagnosticarea colitei ulcerative și a bolii Crohn, în diferențierea colitei ulcerative de boala Crohn sau de afecțiuni inflamatorii intestinale de alte etiologii, în detectarea displaziilor și evaluarea riscului de a dezvolta cancer colo-rectal precum și pentru aplicarea terapierilor pe cale endoscopică.

PARTEA SPECIALĂ A TEZEI DE DOCTORAT

Capitolul 7. Obiectivele studiului

Obiectivul principal al tezei este reprezentat de identificarea unor parametri noi, clinici, biologici sau imagistici, care se asociază statistic cu criteriile de evoluție severă pentru bolile inflamatorii intestinale.

Obiectivele specifice sunt reprezentate de:

A. Analiza parametrilor demografici ai bolilor inflamatorii intestinale.

- B. Determinarea utilității parametrilor clinici, inclusiv scorurile dovedite a fi utile pentru estimarea gradului de activitate, în predicția evoluției pacienților.
- C. Determinarea profilului markerilor biologici ai acestor pacienți: markerii inflamatori (VSH, proteina C reactivă, calprotectina fecală), biochimici (colesterol, trigliceride, proteine totale, albumină umană).
- D. Determinarea utilității ecografiei simple în identificarea gradului de activitate și predicție a evoluției bolii.
- E. Determinarea utilității elastografiei cu unde acustice (ARFI) în identificarea gradului de activitate și predicției a evoluției bolii.
- F. Determinarea utilității elastografiei cu unde acustice ca metodă de monitorizare a pacienților cu boli inflamatorii intestinale.

Capitolul 8: Material și metode

8.1. Loturile din cadrul studiului

Studiul a folosit două loturi: lotul de studiu, care a inclus pacienții cu boli inflamatorii intestinale și lotul de control care a fost folosit pentru a evalua capacitatea diagnostică a testelor și pentru a exclude variabilitatea aleatoare a datelor.

8.2. Lotul de studiu

Lotul de studiu a avut următoarele criterii de includere: prezența unei boli inflamatorii intestinale, indiferent de gradul de activitate sau stadiul acesteia, vârsta peste 18 ani, acordul pacientului de a participa în studiu și de a efectua investigațiile necesare în acest sens, disponibilitatea de a fi urmărit în timp pentru monitorizarea afecțiunii inflamatorii intestinale.

Pacienții din lotul de studiu au fost pacienți cu boli inflamatorii intestinale, prezenți consecutiv și internați în secția de Gastroenterologie a Spitalului Universitar de Urgență București.

8.3. Lotul de control

Lotul de control a avut următoarele criterii de includere: absența unui diagnostic de boală inflamatorie intestinală, absența comorbidităților semnificative, fiind admise: sindromul de intestin iritabil, boala de reflux gastro-esofagian, gastrita și diagnostice non-gastroenterologice (hipertensiunea arterială, diabet zaharat, afecțiuni psihiatrice).

Pacienții din lotul de control au fost selectați astfel încât să prezinte similitudine în ceea ce privește parametrii demografici cu pacienții din lotul de control.

Capitolul 9. Investigațiile efectuate

9.1. Evaluarea parametrilor clinici

9.1.1. Anamneza : Parametrii notați: numărul de scaune/zi, caracteristicile scaunului, prezența/absența sângelui în scaun, precum și caracteristicile acestuia, prezența/absența durerilor abdominale, starea generală subiectivă a pacientului, consumul cronic de

medicamente, evoluția greutății, evaluarea simptomelor sugestive pentru afectare extraintestinală asociată bolii inflamatorii intestinale (tulburări oculare, articulare, fistulă anală, abces perianal, complicații cutanate etc.).

9.1.2. Examenul clinic a urmărit: temperatura internă a pacientului, înălțimea și greutatea pacientului, rata cardiacă, tensiunea arterială, evaluarea prezenței unor mase abdominale, Prezența semnelor sugestive pentru complicații extraintestinale ale bolilor inflamatorii intestinale, incluzând evaluarea regiunii anale, evaluarea aparatului vizual, evaluarea mobilității și sensibilitatea articulară, evaluarea aspectului tegumentelor, prezența semnelor sugestive pentru alte comorbidități.

9.2. Evaluarea parametrilor de laborator

9.2.1. Sânge venos: S-au evaluat: valoarea hemoglobinei, hematocritului, a VSH-ului, proteina C reactivă, calprotectina fecală, proteine totale, profilul lipidic, incluzând colesterol total, HDL-Colesterol, LDL-Colesterol, VLDL-Colesterol și trigliceride totale, coagulograma – include măsurarea timpului de protrombină, INR -ul, în funcție de timpul de protrombină, timpul de tromboplastină activată parțial, prezența eventualelor de comorbidități (markeri virali, markeri tumorali).

Aparatele folosite pentru identificarea probelor au fost: Hemograma a fost lucrată cu aparatul CELL-DYN 370 (Abbot Diagnostics), aparatul folosind procedeele de MAPSS din patru unghiuri optice și flow-citometrie fluorescență în trei culori. Viteza de sedimentare a fost măsurată folosind eprubete standardizate. Biochimia a fost lucrată cu aparatul ARCHITECT c 8000 (Abbot Diagnostics). Coagularea a fost lucrată cu aparatul ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory). Markerii virali au fost lucrați cu aparatul Access 2 Immunoassay System (Immunoassay System). Coproculturile au fost efectuate prin însămânțare pe mediu AABTL. Calprotectina fecală a fost măsurată prin metodă imunoenzimatică cu detecție fluorimetrică.

9.2.2. Probe din materii fecale - determinarea calprotectinei fecale.

9.3. Endoscopia digestivă

9.3.1. Colonoscopia: La toți pacienții s-a efectuat colonoscopie completă, cu vizualizarea și descrierea fiecărui segment intestinal accesibil endoscopic. Elementele notate pentru fiecare segment au fost: prezența și intensitatea eritemului, scăderea sau absența vizibilității vascularizației, friabilitatea mucoasei/sângerarea spontană, prezența eroziunilor/ulcerațiilor, prezența aspectului de piatră de pavaj, prezența zonelor de stenoză.

9.3.2. Endoscopia digestivă superioară: La pacienții cu boală Crohn s-a efectuat endoscopie digestivă superioară. Au fost notate eventualele leziuni identificate endoscopic, atât cele sugestive pentru boală Crohn, cât și cele fără legătură.

9.3.3. Examen cu video-capsulă: La pacienții cu boală Crohn s-a efectuat și un examen cu video-capsulă pentru identificarea eventualelor leziuni prezente pe intestinul subțire. S-a notat prezența sau absența leziunilor.

9.4. Histopatologie: În cadrul colonoscopiei s-au prelevat biopsii multiple etajate, din fiecare segment al tubului digestiv. Pentru fiecare probă au fost notate din rezultatul

anatomopatologic: modificarea arhitecturii criptelor, prezența semnelor de inflamație, localizarea modificărilor – doar la nivel superficial sau/și în profunzime, prezența abceselor criptice, prezența granuloamelor, prezența hiperplaziei neuronale, prezența hipertrofiei musculare, prezența metaplaziei celulelor Paneth.

9.5. Ecografia abdominală simplă: Ecografia abdominală simplă a urmărit identificarea unor parametrii intestinali, modificați în bolile inflamatorii intestinale. Au fost notate, de asemenea, eventualele modificări care ar putea contribui la diagnosticul unei afecțiuni extraintestinale.

9.6. Elastografia ARFI: S-a efectuat la toți pacienții din loturile de studiu și de control.

Capitolul 10. Elastografia cu unde acustice (ARFI)

10.1. Principiu de funcționare: se bazează pe principiul propagării undelor acustice în țesut. La acest nivel poate apărea fenomenul de atenuare, care este reprezentat de absorbția undelor și de difracția acestora.

10.2. Aparatul de studiu: s-a folosit aparatul Siemens S2000.

10.3 Rezultate anterioare ale metodei : La pacienții cu fibroză hepatică elastografia ARFI permite evaluarea cantitativă a gradului de fibroză.

10.4 Rezultate anterioare în bolile inflamatorii intestinale : metoda face distincția între inflamația intestinului și fibroza acestuia care apare în boala Crohn.

10.5. Protocol de funcționare

10.5.1. Pregătirea pacientului: Se poate efectua o pregătire prealabilă cu produse ce conțin simeticonă.

10.5.2. Pregătirea materialelor : aparat de ecografie cu funcție de elastografie ARFI – Siemens Acuson S2000 și sondă cu funcție de elastografie ARFI, compatibilă cu aparatul – Siemens 4C1.

10.5.3. Tehnica de lucru : Se efectuează măsurători cantitative din cele mai relevante zone, minim 10 măsurători relevante.

Capitolul 11. Protocolul de investigații

11.1. Investigația inițială: prima investigație are loc simultan cu introducerea în studiu a pacienților. S-a efectuat evaluare clinică, biologică, ecografie abdominală simplă, elastografie ARFI, endoscopiei digestive inferioare și, pentru cei cu boala Crohn, endoscopie digestivă superioare și utilizarea capsulei endoscopice.

11.2. Urmărirea pacienților: toți pacienții au fost urmăriți 3 ani de la investigarea inițială, fiind investigați la fiecare 6 luni. S-a făcut o evaluare completă și s-au notat date referitoare la evoluția în timp a pacientului și modificările survenite în medicația administrată pacientului.

11.3. Fișa pacientului: datele obținute de la fiecare pacient au fost introduse în câte o fișă individuală tip prezentată în teză.

11.4. Tabel cu date și date calculate

11.4.1. Indicele de masă corporală (IMC) – calculat după formula standard.

11.4.2. Indicele de severitate Truelove-Witts: gradul de activitate al bolii a fost încadrat într-una din categoriile „ușoară”, „moderată” sau „severă”.

11.4.3. Indexul Sutherland de activitate : Scorul total de activitate al bolii (egal cu suma scorurilor itemurilor).

11.4.4. Indexul Harvey-Bradshaw; Scor total de activitate al bolii (egal cu suma scorurilor itemilor).

11.4.5. Scorul „Crohn’s Disease Activity Score” (CDAI): evaluarea activității și complicațiilor bolii.

11.4.6. Scorul Mayo: calculat după formula standard.

11.4.7. Subscorul endoscopic Mayo: a fost calculat plecând de la imaginile din segmentul cel mai sever afectat de boală.

11.4.8. Scorul SES-CD : des folosit în studii clinice.

11.4.9. Forma activă de boală: Pacientul a fost inclus în categoria activă de boală dacă are cel puțin un scor (clinic, biologic sau endoscopic) care să aibă valori crescute peste maximum admis în forma de remisiune a bolii.

Capitolul 12. Analiza statistică

12.1. Uneltele folosite: Datele au fost prelucrate și stocate într-un tabel cu ajutorul Microsoft Excel.

Pentru analiza statistică s-a folosit IBM SPSS Statistics 23, folosindu-se funcțiile Explore, Crosstabs, Independent Samples T Test, Paired T Test, Non-Parametric Tests, Correlate și ROC Curve.

12.2. Parametrii de statistică descriptivă:

12.2.1. Media aritmetică: se calculează după formule standard.

12.2.2. Mediană: se calculează după formule standard.

12.2.3. Cuartilele: sunt cuartila inferioară (sau prima cuartilă sau percentila 25%), a doua cuartilă (sau percentila 50%) este mediana, cuartila superioară (sau a treia cuartilă sau percentila 75%).

12.2.4. Percentilele: Determinarea acestora s-a efectuat prin metoda rangului cel mai apropiat.

12.2.5. Minimumul și maximumul: Reprezintă valorile cea mai mare, respectiv cea mai mică dintr-o serie de date. Este o măsură a împrăștierei datelor.

12.2.6. Deviația standard: Reprezintă măsură mai precisă decât minimul și maximum de împrăștiere a datelor.

12.3. Parametrii utilizați pentru toate testele statistice

12.3.1. Rezultatul statistic al testului : Acesta reprezintă valoarea calculată matematic în cadrul testului. Semnificația și modul de notare a acestuia (t , f , χ^2) diferă pentru fiecare test.

12.3.2. Numărul de grade de libertate (df): Reprezintă numărul de valori în cadrul unui test statistic care pot varia.

12.3.3. P-value: Acesta reprezintă o măsură a probabilității că ipoteza nulă (H_0) să fie adevărată.

12.4. Analiza distribuției normale a datelor: Distribuția normală a datelor permite efectuarea testelor parametrice pentru analiza statistică ulterioară.

12.4.1. Construirea histogramei și desenarea curbei de normalitate pe aceasta: potrivirea bună a curbei de normalitate cu datele prezente indică o distribuție normală a datelor.

12.4.2. Testul statistic Shapiro-Wilk: Păstrarea ipotezei nule ($p > 0.05$) indică distribuția normală a populației.

12.4.3. Testul statistic Kolmogorov-Smirnov: Ipotezele testului sunt similare cu cele ale testului Shapiro-Wilk.

12.5. Teste pentru variabile categorice: testele statistice folosite pentru determinarea semnificației statistice a asocierii a două variabile categorice au fost testul Fisher exact și testul Chi pătrat.

12.5.1. Testul Fisher exact: permite estimarea semnificației asocierii între două tipuri de clasificări.

12.5.2. Testul Chi pătrat (χ^2): Testul chi pătrat compară populația dată cu o distribuție proprie (distribuția chi pătrat), construită pe baza presupunerii că cele două variabile date sunt independente și normal distribuite.

12.6. Teste parametrice pentru variabile continue

12.6.1. Testul t Student: Acest test permite compararea mediilor a două seturi de date.

12.6.2. Testul ANOVA (Analysis of Variance) : Acest test reprezintă o generalizare a testului t student, care permite evaluarea asocierii semnificativ statistice între mediile a mai mult de două seturi de date.

12.7 Teste neparametrice pentru variabile continue

12.7.1. Testul Mann-Whitney U: Ipotezele și semnificația acestui test sunt similare cu cele ale testului t student.

12.7.2. Testul Kruskal-Wallis: Acest test este echivalentul neparametric al testului ANOVA, având ipoteze și semnificație similară.

12.8. Teste pentru determinarea concordanței asocierii între două variabile: Aceste teste pot determina nu numai dacă există o corelație semnificativ statistică, dar și cât de strânsă este legătura între cele două variabile asociate.

12.8.1. Coeficientul de corelare Pearson (Pearson Product Moment Correlation Coefficient): Acest test a fost folosit pentru estimarea corelației variabilelor provenite din populații cu distribuție normală.

12.8.2. Coeficientul Kendall tau (Kendall's rank coefficient of correlation): Acest test a fost folosit pentru estimarea corelației variabilelor care nu au provenit din populații cu distribuție normală.

12.9 Clasificarea binară: Clasificarea binară a rezultatelor permite evaluarea preciziei diagnostice a unui test. Această clasificare se face în funcție de rezultatul testului (pozitiv sau negativ) și rezultatul real (pozitiv sau negativ).

12.9.1. Sensibilitatea testului: Aceasta reprezintă capacitatea testului de a identifica corect pacienții care au un rezultat real pozitiv.

12.9.2. Specificitatea testului: Aceasta reprezintă abilitatea unui test de a identifica corect pacienții care au rezultat real negativ.

12.9.3. Valorile predictiv pozitivă și negativă: Aceasta reprezintă proporția din rezultatele pozitive care sunt adevărat pozitive, respectiv proporția din rezultatele negative care sunt adevărat negative.

12.10. Curba ROC (Receiver Operator Characteristic) și aria de sub curbă : Curba ROC este construită prin desenarea pe un grafic a punctelor obținute prin calcularea sensibilității (axa y) și a inversului specificității. Cuantificarea rezultatului curbei ROC se poate face prin calcularea ariei de sub curbă (AUROC), care va avea valori cuprinse între 0 și 1.

Capitolul 13. Rezultate

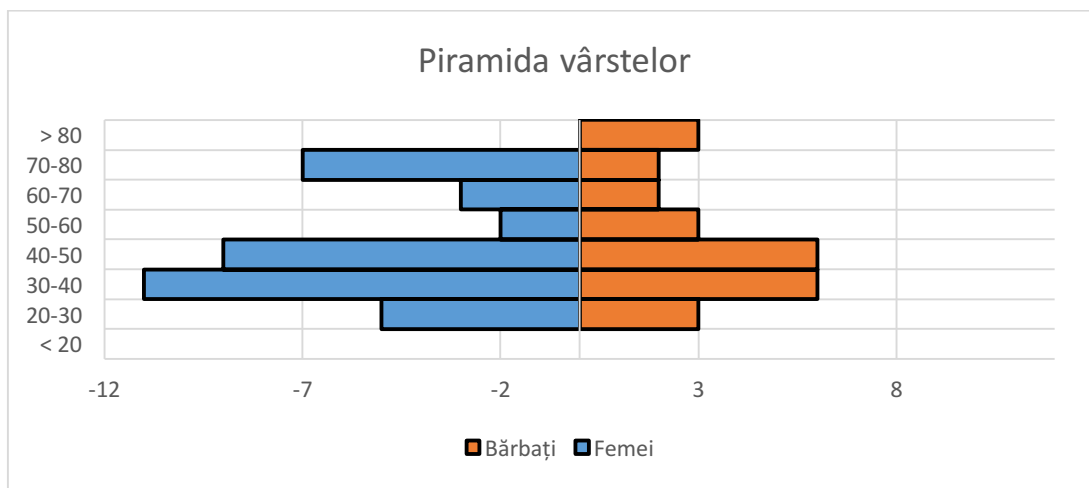
13.1. Alcătuirea loturilor și caracteristici demografice

13.1.1. Lotul de studiu

Lotul de studiu a fost alcătuit din 75 de pacienți. Dintre aceștia au fost excluși 13 pacienți, datorită comorbidităților gastro-intestinale prezente care ar fi făcut dificilă investigarea obiectivă a acestor pacienți sau datorită rezultatelor incomplete la finalul studiului. Lotul final de studiu a inclus, astfel, 62 pacienți.

Distribuția pe sexe: Pacienții au avut o distribuție echilibrată între cele două sexe, lotul având 25 bărbați (40,3%) și 37 de femei (59,7%).

Distribuția pe vârste: Vârsta pacienților a fost cuprinsă între 23 și 89 de ani, media vârstelor fiind 48,50 ani, iar mediana 43 ani.



Figură 8. Piramida vârstelor la lotul de studiu

Patologia inflamatorie intestinală: lotul de studiu a inclus 19 pacienți (30,6%) cu boală Crohn și 43 de pacienți (69,4%) cu colită ulcerativă.

Comorbidități asociate au inclus: hipertensiunea arterială (15 pacienți – 24,2%), diabet zaharat (9 pacienți – 14,5%), insuficiență venoasă cronică (2 pacienți – 3,2%), limfom Hodgkin în remisiune (2 pacienți – 3,2%).

13.1.2. Lotul de control

Lotul de control a fost alcătuit din 60 de pacienți.

Distribuția pe sexe: Pacienții au avut o distribuție echilibrată între cele două sexe, lotul având 28 bărbați (46,7%) și 32 de femei (53.3%).

Distribuția pe vârste: Vârsta pacienților a fost cuprinsă între 25 și 82 de ani, media vârstelor fiind 49,05 ani, iar mediana 50 ani.

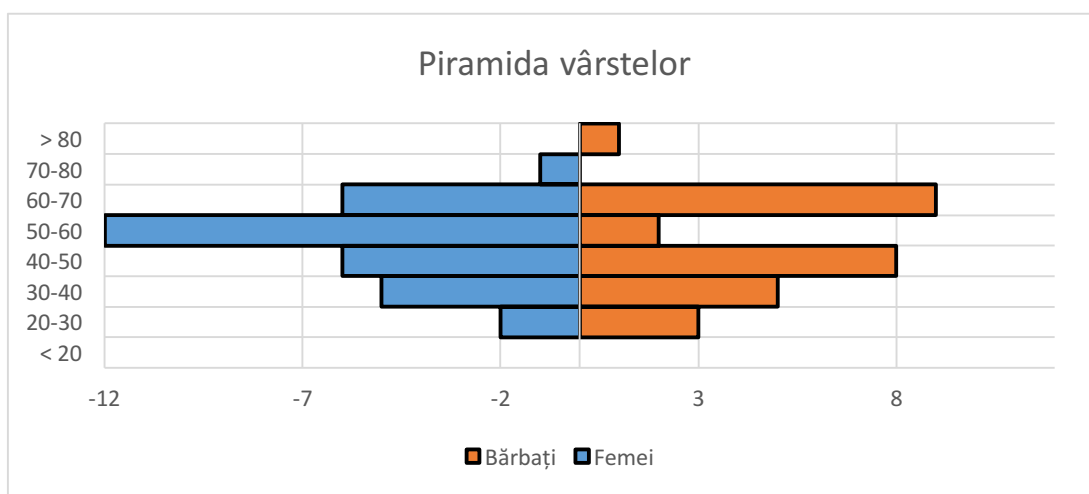


Figura (tabel) 38. Piramida vârstelor la lotul de control

Diagnosticile pacienților incluși în lotul de control: aceștia au avut diagnosticul de intestin iritabil, pentru a exclude posibilitatea ca modificările să fie date de modificări nespecifice la nivelul intestinului. Comorbiditățile includ: hipertensiune arterială (17 pacienți, 28,3%), boală de reflux gastroesofagian (9 pacienți, 15%), gastrită eritematoasă (9 pacienți, 15%), diabet zaharat (6 pacienți, 10%), sindrom anxios-depresiv (4 pacienți, 6,7%).

13.1.3. Comparatie a caracteristicilor demografice: Cele două loturi au fost similare din punct de vedere al caracteristicilor demografice, lucru evidențiat și prin teste statistice.

13.2. Criterii clinice

13.2.1. Vârsta la debut: a pacienților din lotul de studiu acoperă toate vârstele și prezintă două peak-uri.

13.2.2. Durata bolii: Dintre pacienți, o parte au fost cazuri noi diagnosticate de boli inflamatorii intestinale (29 cazuri – 46,8%), altele fiind cazuri deja în evidența clinicii, pe perioade variabile de timp, cuprinse între 1 lună și > 5 ani.

13.2.3. Forma activă de boală: Au fost 29 pacienți (46,8 %) cu forme active de boală, toate cazurile fiind nou descoperite. Dintre pacienții cu boala Crohn, 11 au avut forme active de boală, iar 8 au fost în remisiune. În ceea ce privește colita ulcerativă, 18 pacienți au avut forme active de boală, ceilalți 25 fiind în remisiune.

13.3. Criterii de evoluție severă

După evaluarea la 12 luni, au fost luați în calcul mai mulți parametri pentru a constitui criterii de evoluție severă. Acestea au inclus:

- A. Necesitatea creșterii gradului terapiei (recăderi sub terapia inițială) – 38 pacienți, 61,3%
- B. Prezența zonelor de strictură sau stenoză – 26 pacienți, 41,9%
- C. Indicația chirurgicală (colectomie), indiferent dacă aceasta a fost efectuată ulterior sau nu – 7 pacienți, 11,3%
- D. Mortalitate datorată, direct sau indirect, bolii inflamatorii intestinale – 1 pacient, 1,6%

13.4. Criterii biologice – analize de laborator

13.4.1. Markerii inflamatori

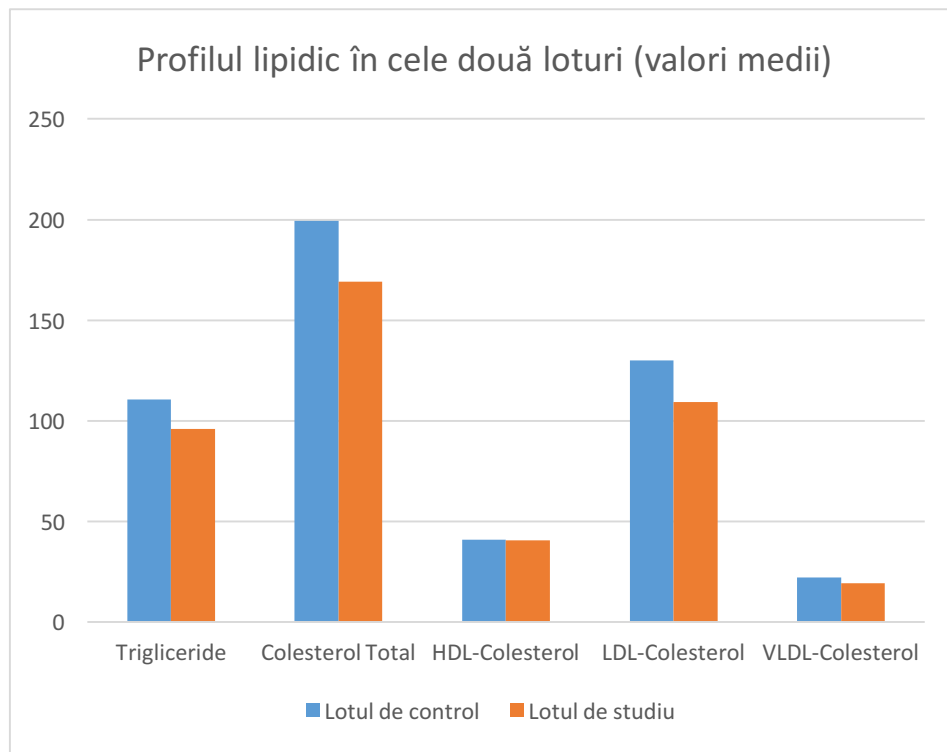
A fost investigată capacitatea markerilor inflamatori de a prezice evoluția în timp a pacienților. Analiza bivariată a concluzionat că următorii indici de corelație (analiză Pearson) arată o corelația între markerii inflamatori și evoluția în timp a bolii inflamatorii intestinale.

Corelație Pearson (r)	VSH	PCR	Calprotectina
Creșterea terapiei	0,321	0,340	0,600
Apariția stenozelor	0,069	0,105	0,554
Indicația chirurgicală	0,043	0,256	0,435

Tabel 46. Corelația între markerii infalamatori și evoluția în timp

13.4.2. Profilul lipidic

13.4.2.1. Lotul de studiu față de lotul de control



Figură 20. Profilul lipidic în cele două loturi

13.4.2.2. Pacienții cu boală Crohn față de cei cu colită ulcerativă

Analiză	Boală Crohn	Colită ulcerativă	Lot control	Rezultat	p-value
Trigliceride	95,24 mg/dl	96,24 mg/dl	110,62 mg/dl	F(2, 119) = 2,035	0,135
Colesterol Total	177,16 mg/dl	165,84 mg/dl	199,45 mg/dl	F(2, 119) = 4,915	0,009
HDL-Colesterol	34,80 mg/dl	43,38 mg/dl	40,87 mg/dl	F(2, 119) = 2,209	0,114
LDL-Colesterol	123,31 mg/dl	103,20 mg/dl	129,87 mg/dl	F(2, 119) = 3,159	0,046
VLDL-Colesterol	19,04 mg/dl	19,24 mg/dl	22,12 mg/dl	F(2, 119) = 2,035	0,135

Tabel 48. Profilul lipidic la pacienții cu boală Crohn față de cei cu colită ulcerativă (ANOVA).

13.4.2.3. Pacienții cu boală activă față de cei în remisiune

A fost evaluat, de asemenea, profilul lipidic la pacienții cu boală activă vs. cei în remisiune, per total, precum și în boala Crohn și în colita ulcerativă separat.

Analiză	Boală activă	Remisiune	t	df	p-value
Trigliceride	95,07 mg/dl	96,70 mg/dl	-0,160	60	0,874
Colesterol Total	151,59 mg/dl	184,88 mg/dl	-3,121	60	0,003
HDL-Colesterol	37,71 mg/dl	43,42 mg/dl	-1,229	60	0,224
LDL-Colesterol	94,85 mg/dl	122,11 mg/dl	-3,031	60	0,004
VLDL-Colesterol	19,01 mg/dl	19,33 mg/dl	-0,160	60	0,874

Tabel 50. Profilul lipidic la pacienții cu boală activă vs. cei în remisiune, per total.

S-a evaluat și corelația fiecărei fracțiuni lipidice cu evoluția în timp a bolii inflamatorii.

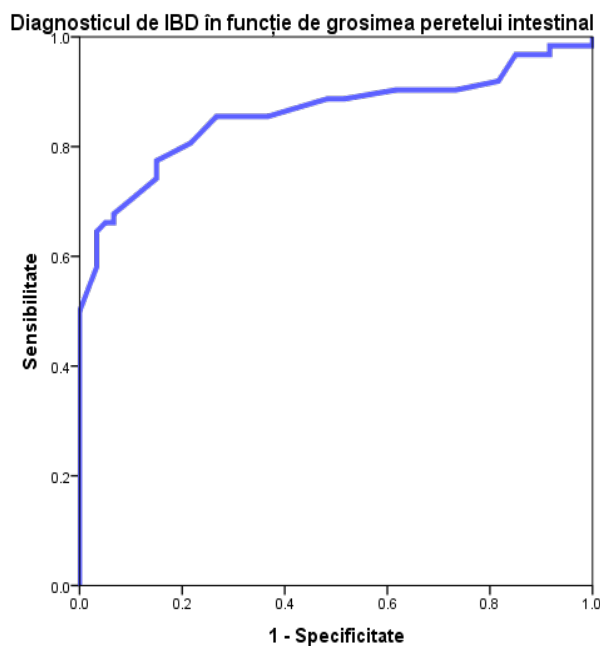
13.5. Ultrasonografia abdominală

13.5.1. Grosimea peretelui intestinal în diagnosticul bolilor inflamatorii intestinale

Grosimea peretelui abdominal este crescută semnificativ la pacienții cu boala inflamatorie intestinală față de lotul de control.

	Boală Crohn	Colită ulcerativă	Lot de control	de	Rezultat statistic	p-value
Diagnostic	6,84	5,60	3,31		F(2,119) 32,481	= < 0,001

Tabel 58. Asocierea dintre modificările de grosime ale peretelui intestinal și diagnosticul de boală inflamatorie intestinală



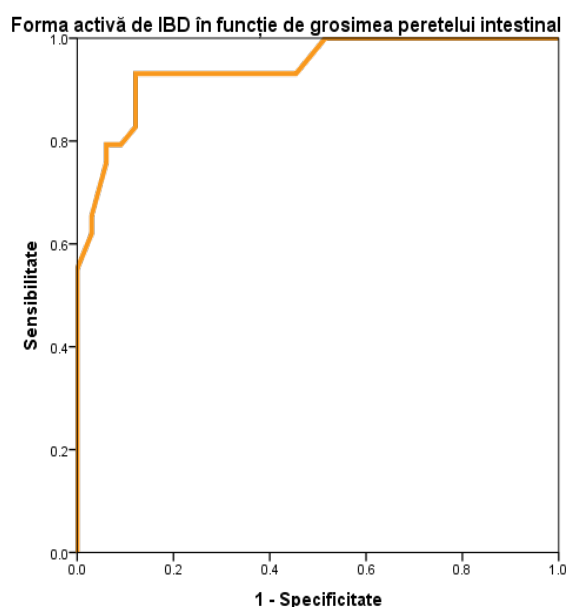
Figură 32. Curba ROC în identificarea pacienților cu IBD în funcție de grosimea peretelui intestinal

Testul prezintă o sensibilitate de 85,5% și o specificitate de 74,3%, folosind o valoare prag de 4 mm.

13.5.2. Grosimea peretelui intestinal în diagnosticul formei active de boală inflamatorie intestinală.

	Formă activă	Remisiune	t	df	p-value
Boală Crohn	8,81	4,12	-4,347	17	< 0,001
Colită ulcerativă	7,18	4,46	-5,376	41	< 0,001
Total	7,80	4,38	-7,012	60	< 0.001

Tabel 61. Asocierea dintre modificările de grosime ale peretelui intestinal și forma de boală inflamatorie intestinală (IBD) activă



Figură 34. Curba ROC pentru identificarea formei activă de IBD în funcție de grosimea peretelui intestinal

Testul prezintă o sensibilitate de 93,1% și o specificitate de 88,9%, folosind o valoare prag de 5,5 mm.

13.5.3. Grosimea peretelui intestinal în predicția recăderilor și necesității creșterii terapiei

	Formă severă	Staționar	t	df	p-value
Boală Crohn	6,88	6,50	0,152	17	0,881
Colită ulcerativă	6,18	5,04	1,787	25,62	0,086
Total	6,49	5,16	2,440	50,30	0.018

Tabel 63. Asocierea dintre modificările de grosime ale peretelui intestinal în predicția recăderilor

13.5.4. Grosimea peretelui intestinal și predicția apariției ulterioare a stricturilor

	Formă severă	Staționar	t	df	p-value
Boală Crohn	7,35	5,73	-1,001	17	0,331
Colită ulcerativă	6,90	5,04	-2,209	14,41	0,006
Total	7,12	5,15	-2,86	31,80	0,007

Tabel64. Asocierea dintre modificările de grosime ale peretelui intestinal și apariția ulterioară a stricturilor

13.5.5. Grosimea peretelui intestinal și predicția necesității ulterioare a colectomiei

	Formă severă	Staționar	t	df	p-value
Boală Crohn	5,80	7,12	0,705	17	0,490
Colită ulcerativă	7,46	5,46	-1,616	41	0,114
Total	6,51	5,91	-0,580	60	0,564

Tabel 65. Asocierea dintre modificările de grosime ale peretelui intestinal și indicația de colectomie

13.5.6. Asocieri – Boala Crohn

	Coefficient de corelație (r)	AUROC	Cutoff (mm)	Sensibilitate	Specificitate
Boală activă	0,726	0,977	5,5	99,9 %	87,5 %
Necesitatea creșterii terapiei	0,037	0,489	5,5	60,0 %	43,3 %
Apariția stenozelor	0,236	0,692	5,5	69,2 %	50,0 %
Indicația de colectomie	0,168	0,450	5,5	50,0 %	26,7 %

Tabel 66. Asocieri între grosimea peretelui intestinal și criteriile de evoluție severe pentru boala Crohn (coeficient de corelație Spearman și AUROC)

13.5.7. Asocieri – Colita ulcerativă

	Coefficient de corelație (r)	AUROC	Cutoff (mm)	Sensibilitate	Specificitate
Boală activă	0,643	0,917	5,5	88,9 %	92,0 %

Necesitatea creșterii terapiei	0,273	0,657	5,5	57,1 %	72,3 %
Apariția stenozelor	0,409	0,741	5,5	69,2 %	70,0 %
Indicația de colectomie	0,245	0,779	8,0	66,7 %	90 %

Tabel 67. Asocieri între grosimea peretelui intestinal și criteriile de evoluție severe pentru colita ulcerativă (coeficient de corelație Spearman și AUROC)

13.5.8. Asocieri – Toate IBD

	Coeficient de corelație (r)	AUROC	Cutoff (mm)	Sensibilitate	Specificitate
Boală activă	0,671	0,941	5,5	93,1 %	88,9 %
Necesitatea creșterii terapiei	0,255	0,650	5,5	60,5 %	66,7 %
Apariția stenozelor	0,382	0,718	5,5	69,2 %	63,9 %
Indicația de colectomie	0,075	0,606	5,5	57,1 %	40,0 %

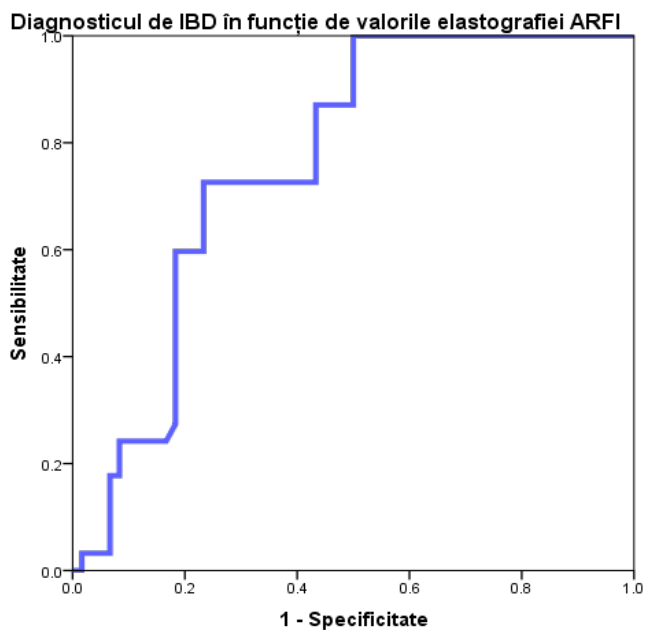
Tabel 68. Asocieri între grosimea peretelui intestinal și criteriile de evoluție severe pentru bolile inflamatorii intestinale per total (coeficient de corelație Spearman și AUROC)

13.6. Elastografia ARFI

13.6.1. Elastografia ARFI în diagnosticul bolilor inflamatorii intestinale

	Boală Crohn	Colită ulcerativă	Lot control	de	Rezultat statistic	p-value
Diagnostic	2,82	2,77	2,47		F(2,119) 12,236	= < 0,001

Tabel 69. Asocierea dintre modificările elastografice ale peretelui intestinal și diagnosticul de boală inflamatorie intestinală



Figură 39. Curba ROC în identificarea pacienților cu IBD în funcție de elastografia ARFI

13.6.2. Elastografia ARFI în diagnosticul formei active de boală inflamatorie intestinală

	Formă activă	Remisiune	t	df	p-value
Boală Crohn	2,79	2,88	0,766	17	0,454
Colită ulcerativă	2,91	2,68	-2,645	41	0,012
Total	2,86	2,72	-1,925	60	0,059

Tabel 72. Asocierea dintre modificările de elastografice și forma activă de boală inflamatorie intestinală

13.6.3. Elastografia ARFI în predicția recăderilor și necesității creșterii terapiei

	Formă severă	Staționar	t	df	p-value
Boală Crohn	2,87	2,44	2,614	17	0,018
Colită ulcerativă	2,87	2,68	2,027	41	0,046
Total	2,87	2,66	3,263	59,20	0,002

Tabel 73. Asocierea dintre modificările elastografice și recăderile ulterioare

13.6.4. Elastografia ARFI și predicția apariției ulterioare a stricturilor

	Formă severă	Staționar	t	df	p-value
Boală Crohn	2,95	2,56	-4,480	17	< 0,001
Colită ulcerativă	2,90	2,72	-1,427	14,79	0,174
Total	2,92	2,69	-3,147	41,35	0,003

Tabel 74. Asocierea dintre modificările elastografice și apariția ulterioară a stricturilor

13.6.5. Elastografia ARFI și predicția necesității ulterioare a colectomiei

	Formă severă	Staționar	t	df	p-value
Boală Crohn	3,12	2,75	-3,299	17	0,004
Colită ulcerativă	3,32	2,73	-3,657	41	0,001
Total	3,21	2,74	-4,699	60	< 0,001

Tabel 75. Asocierea dintre modificările elastografice și indicația ulterioară de colectomie

13.6.6. Asocieri – Boala Crohn

	Coefficient de corelație (r)	AUROC	Cutoff (m/s)	Sensibilitate	Specificitate
Boală activă	0,183	0,358	2,8	54,5 %	37,5 %
Necesitatea creșterii terapiei	0,535	0,941	2,6	88,2 %	99,9 %
Apariția stenozelor	0,736	0,917	2,8	99,9 %	84,3 %
Indicația de colectomie	0,625	0,900	3,0	99,9 %	86,7 %

Tabel 76. Asocieri între valorile elastografice și evoluția ulterioară în boala Crohn

13.6.7. Asocieri – Colita ulcerativă

	Coefficient de corelație (r)	AUROC	Cutoff (m/s)	Sensibilitate	Specificitate
Boală activă	0,382	0,708	2,8	66,7 %	76,0 %
Necesitatea creșterii terapiei	0,306	0,618	2,75	52,4 %	50,0 %

Apariția stenozelor	0,273	0,640	2,8	61,5 %	70,0 %
Indicația de colectomie	0,496	0,963	3,3	99,9 %	92,5 %

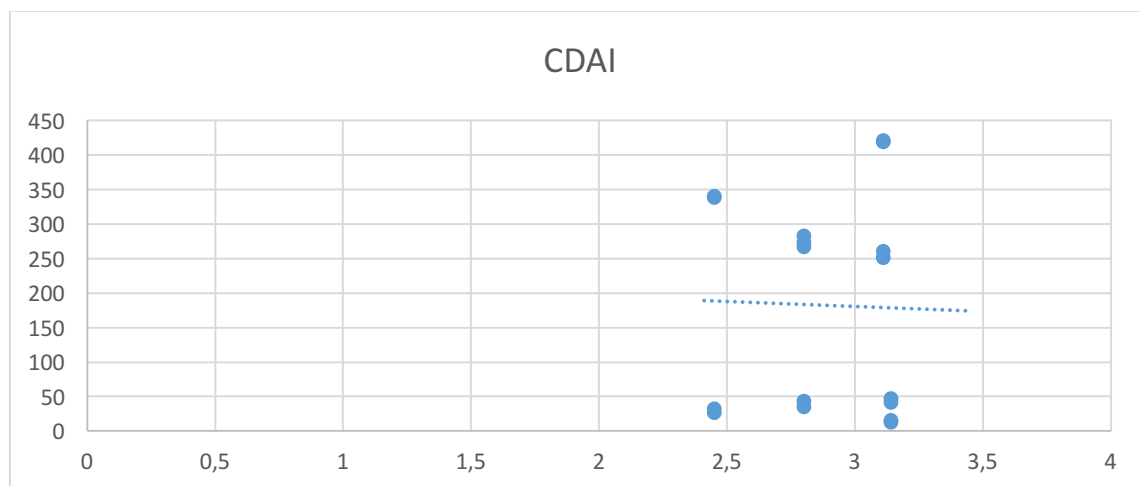
Tabel 77. Asocieri între valorile elastografice și evoluția ulterioară în colita ulcerativă

13.6.8. Asocieri – Toate IBD

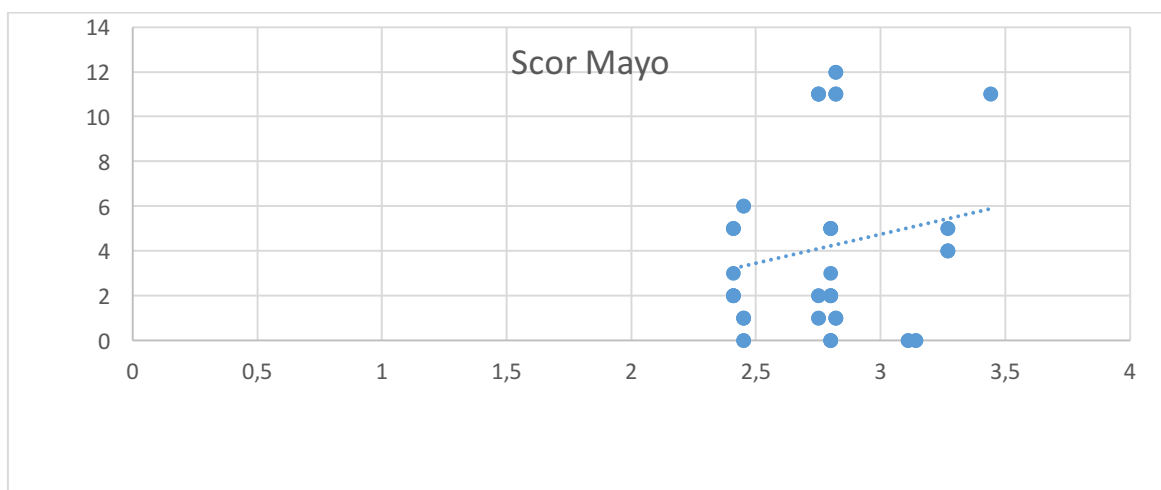
	Coeficient de corelație (r)	AUROC	Cutoff (m/s)	Sensibilitate	Specificitate
Boală activă	0,241	0,643	2,8	62,1 %	66,7 %
Necesitatea creșterii terapiei	0,349	0,681	2,8	57,9 %	70,8 %
Apariția stenozelor	0,396	0,729	2,8	69,2 %	69,4 %
Indicația de colectomie	0,519	0,926	3,0	85,7 %	87,3 %

Tabel 78. Asocieri între valorile elastografice și evoluția ulterioară în bolile inflamatorii intestinale

13.6.9. Elastografia ARFI comparativ cu parametrii clinici



Figură 44. Asocieria între rezultatele elastografice și CDAI



Figură 45. Asocierea între rezultatele elastografice și scorul Mayo

13.6.10. Elastografia ARFI comparativ cu parametrii biologici

	Parametru	Test	Rezultat statistic	p-value
Boală Crohn	VSH	Regresie Liniară	$VSH = 60 * SWR - 7$	0,738
		Independent Samples T Test	$t(14,003) = -0,537$	0,600
		Fisher Exact Test		0,530
	CRP	Regresie Liniară	$CRP = 59 * SWR - 119$	0,234
		Independent Samples T Test	$t(17) = -0,390$	0,701
		Fisher Exact Test		0,557
Calprotectina fecală	Regresie Liniară	$Calp = 322 * SWR - 516$	0,230	
	Independent Samples T Test	$t(17) = -2,614$	0,018	
Colită ulcerativă	VSH	Regresie Liniară	$VSH = 1,8 * SWR + 20$	0,853
		Independent Samples T Test	$t(40,616) = 0,568$	0,573
		Fisher Exact		0,062
	CRP	Regresie Liniară	$CRP = 42 * SWR - 96$	0,033
	Calprotectina fecală	Regresie Liniară	$Calp = 597 * SWR - 1382$	< 0,001

SWR = Rezultatul mediu al elastografiei; Calp = rezultatul calprotectinei fecale; CRP = proteina C reactivă; VSH = viteza de sedimentare

Tabel 80. Relația dintre rezultatele elastografice și rezultatele parametrilor biologici

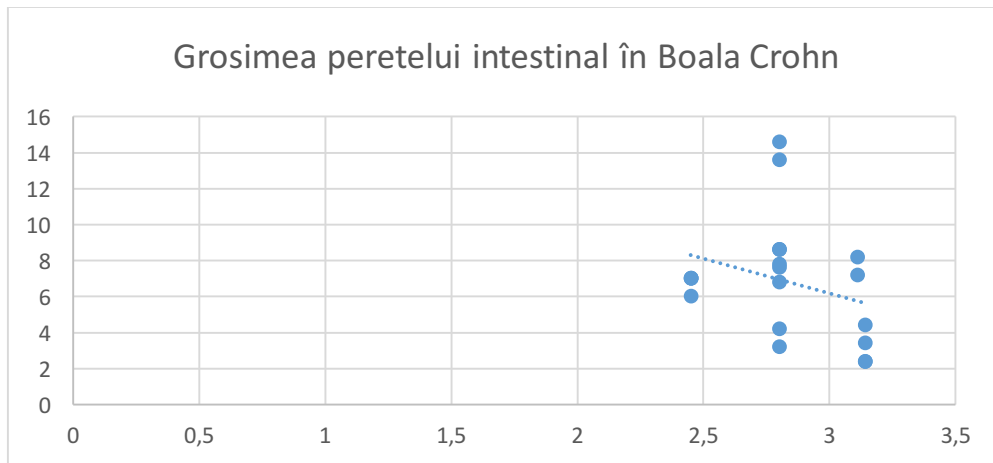
13.6.11. Elastografia ARFI comparativ cu parametrii endoscopici

	Scor	Test	Rezultat statistic	p-value
Boală Crohn	SES-CD	One-Way ANOVA	$F(2,27) = 16,977$	$< 0,001$
Colită ulcerativă	Mayo ES	One-Way ANOVA	$F(3,50) = 1,603$	0,200
Colită ulcerativă	Mayo ES	Independent Samples T Test	$t(19,674) = 2,130$	0,046

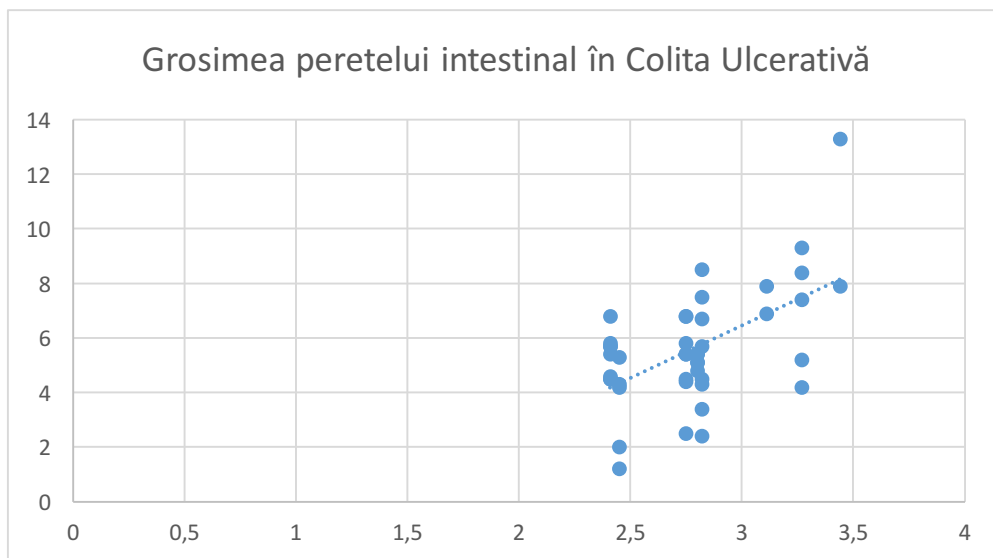
SES-CD = Simple endoscopic score for Crohn's Disease; Mayo ES = Mayo Endoscopic Subscore

Tabel 81. Relația dintre elastografia ARFI și scorurile de evaluare endoscopică

13.6.12. Elastografia ARFI comparativ cu parametrii ultrasonografici



Figură 54. Asocierea rezultatelor elastografice cu grosimea peretelui intestinal în boala Crohn



Figură 55. Asocierea rezultatelor elastografice cu grosimea peretelui intestinal în colita ulcerativă

Capitolul 14. Discuții

14.1. Date demografice

Bolile inflamatorii intestinale reprezintă un grup de afecțiuni cu incidență și prevalență crescută, atât la nivel european cât și în România. Aceste afecțiuni cronice au dificultăți de management și impact economic semnificativ (369).

În **lotul de studiu** pacienții cu colită ulcerativă au fost mai numeroși decât cei cu boală Crohn (43 vs. 19). Acest lucru este parțial în concordanță cu datele epidemiologice din România.

Din punct de vedere al **vârstei**, pacienții au avut vârste variate acoperind întreg spectrul vârstelor adulte. Nu au existat pacienți cu vârsta mai mică de 18 ani. A fost remarcată, totuși, o creștere a numărului de pacienți în intervalul de vârstă între 30-40 ani și în intervalul 70-80 ani. Aceste date sunt similare cu cele din alte țări europene (369).

În ceea ce privește distribuția pe **sexe**, contrar datelor din literatură, care arată o ușoară predominanță a sexului masculin (370), lotul de studiu a avut o ușoară predominanță a sexului feminin.

Lotul de control a inclus pacienți cu o patologie parțial similară din punct de vedere al simptomatologiei – sindromul de intestin iritabil. De asemenea, s-a urmărit similitudinea din punct de vedere al caracteristicilor demografice cu lotul de studiu, pentru a exclude diferențe cauzate de predominanța unor categorii de vârstă, sex etc.

14.2. Criterii clinice

Vârsta de debut a bolii, incidența este crescută în decada a 2-a de viață (în total 50% din cazuri) și în decada 7-a a vieții (14,3 % din cazuri), restul decadelor având în total împreună 35,7%. Rezultatele sunt similare cu cele din literatură (19).

În ceea ce privesc **comorbiditățile** lotului de studiu, cele mai frecvente au fost cele cu prevalență mare în populația generală: hipertensiunea arterială (371), insuficiența venoasă cronică (372).

Din punct de vedere al **rasei și etniei**, toți subiecții din ambele loturi au fost de rasă albă, non-latino, non-africană.

14.3. Criterii de severitate

În cadrul studiului au fost luați în considerare mai mulți factori de evoluție severă a bolii pacienților.

Cel mai simplu parametru considerat a fost **apariția recăderii și necesitatea creșterii terapiei pentru a induce remisiunea bolii**. Dintre pacienții din lotul de studiu 38 (61,3 %) au avut recădere după terapia inițială și au necesitat introducerea dozelor mai mari de tratament. Comparativ cu datele din literatură acest lucru este relativ similar.

Un alt criteriu care a fost luat în considerare a fost **apariția în timp a zonelor de stricturi și/sau stenoză**, formele severe ale acestora (cu ocluzie intestinală) necesitând intervenție chirurgicală în urgență. Un număr de 26 (41,9 %) dintre pacienți au fost incluși în această

categorie, aceștia dezvoltând zone de stenoză la un interval de până la 3 ani după efectuarea investigațiilor inițiale.

În final, a fost luat în considerare și criteriul cazurilor **care au necesitat intervenție chirurgicală în perioada de observație (de 3 ani)**. Un număr total de șapte pacienți au necesitat intervenție chirurgicală și colectomie, fie în urgență pentru complicațiile directe (ocluzie), fie datorită eșecului total al terapiei medicamentoase.

O posibilă limitare a studiului este faptul că, cu toate că pacienții au fost incluși în studiu consecutiv în ordinea internării, fără a selecționa un eșantion, există totuși posibilitatea ca lotul să fi fost selecționat prin profilul de urgență al Spitalului Universitar de Urgență București. Pacienții s-au prezentat cel mai frecvent pentru simptomatologie avansată, cu rectoragii și deteriorare hemodinamică, cazurile prezentate pentru simptomatologie digestivă ce nu necesită internare în urgență fiind puține.

14.4. Criterii biologice

14.4.1. Markerii inflamatori

Markerii inflamatori au fost investigați și folosiți foarte mult în bolile inflamatorii intestinale, având rol în diagnosticul, evaluarea gradului de activitate și predicția evoluției (375).

Datele din literatură referitor la markerii inflamatorii sunt contradictorii.

Rezultatele studiului nostru prezintă *viteză de sedimentare* crescută la pacienții ce au avut boală activă, dar diferența nu a atins pragul de semnificație statistică pentru viteza de sedimentare, acesta rămânând un marker mai nespecific ($p = 0,073$). Pacienții care au avut valori crescute ale vitezei de sedimentare au necesitat creșterea terapiei. Nu au existat corelații suplimentare cu necesitatea introducerii terapiei biologice sau necesitatea efectuării ulterioare a colectomiei, valorile crescute ale vitezei de sedimentare neputând aduce informații suplimentare despre posibila evoluție severă.

În ceea ce privește predicția recăderilor și nevoia creșterii dozelor de medicamente sau a introducerii claselor mai puternice de medicamente folosite, *proteina C reactivă* a fost crescută la pacienții ce au necesitat creșterea terapiei, atingând pragul de semnificație statistică ($p = 0,011$). În ceea ce privește corelații suplimentare cu necesitatea introducerii terapiei biologice sau necesitatea efectuării ulterioare a colectomiei, valorile obținute în cadrul studiului nu susțin utilitatea proteinei C reactive.

În studiul prezent, *calprotectina fecală* a avut caracter predictiv mult îmbunătățit față de proteina C reactivă și viteza de sedimentare, având caracter predictiv moderat (indice de corelație Pearson între 0,600 pentru predicția recăderilor și 0,435 pentru predicția necesității colectomiei, $p < 0,001$).

Comparativ cu literatura, datele din studiul nostru sunt similare cu majoritatea celor din literatură, caracterul predictiv fiind explicat probabil prin sensibilitatea și specificitatea mult mai bună a calprotectinei pentru afecțiunile intestinale, în timp ce viteza de sedimentare și proteina C reactivă sunt nespecifice.

14.4.2. Profilul lipidic

Au existat numeroase studii care au abordat modificările profilului lipidic în bolile inflamatorii intestinale. Anumiți factori precum inflamația, creșterea grosimii medii a carotidei, creșterea nivelului homocisteinei și creșterea rezistenței la insulină au rol în metabolismul lipidic al organismului și prezintă modificări la pacienții cu boli inflamatorii intestinale (389-393).

Prezentul studiu efectuat a încercat caracterizarea profilului lipidic la acești pacienți, acesta fiind o metodă cu costuri foarte reduse, analizele fiind incluse de multe ori în categoria celor de rutină.

Datorită mecanismelor fiziopatologice ne-am fi așteptat ca valorile trigliceridelor și colesterolului să fie crescute la pacienții cu boli inflamatorii intestinale, dar cu toate acestea, majoritatea fracțiilor lipidice au fost fie la fel cu cele din lotul de control, fie scăzute.

Nivelul trigliceridelor (valori medii: 95,94 mg/dl vs 110,62 mg/dl, p-value = 0,045), al *colesterolului total* (valori medii: 169,31 mg/dl vs 199,45 mg/dl, p-value = 0,003), al *LDL-Colesterolului* (valori medii: 109,36 mg/dl vs 129,87 mg/dl, p-value = 0,040) și al fracției *VLDL* (valori medii: 19,18 mg/dl vs 22,12 mg/dl, p-value < 0,045) au fost semnificativ scăzute în lotul de studiu față de lotul de control.

Această diferență a fost mai pronunțată la pacienții cu colită ulcerativă, atingând pragul de semnificație statistică în testul post-hoc Tukey, în timp ce boala Crohn nu a putut atinge acest prag.

Pacienții cu boala Crohn, în schimb, au avut valori scăzute pentru colesterol total și LDL în perioadele de activitate a bolii, înregistrând diferențe semnificativ statistice (p-value = 0,035 respectiv 0,013), în timp ce pacienții cu colită ulcerativă au avut diferențe nesemnificative statistic între perioada de activitate și cea de remisiune a bolii.

În ceea ce privește caracterul predictiv al evoluției în timp a bolii, modificările profilului lipidic nu au avut semnificație statistică pentru nici unul din criteriile de evoluție severă a studiului.

Nu au fost găsite date în literatură pentru a compara caracteristica de predicție a evoluției în timp a bolilor inflamatorii intestinale în funcție de profilul lipidic.

14.5. Ultrasonografia abdominală

Ecografia abdominală efectuată la nivelul intestinului subțire și gros poate releva multiple modificări. Cele mai frecvent întâlnite modificări sunt creșterea grosimii peretelui intestinal, modificările de structură a peretelui intestinal, modificări de semnal Doppler la nivelul vaselor intestinului subțire și gros.

Grosimea peretelui intestinal este cel mai studiat parametru identificabil ultrasonografic. Pe baza studiilor efectuate anterior (406), studiul prezent a utilizat valoarea de 5 mm grosime ca fiind grosimea maximă a intestinului normal, valorile superioare fiind considerate anormale, dar au fost investigate și alte valori prag, în special pentru evaluarea caracterului predictiv pentru indicația ulterioară chirurgicală.

În studiu prezent grosimea peretelui intestinal a fost semnificativ crescută la pacienții cu boli inflamatorii intestinale față de lotul de control, în cadrul studiului nostru grosimea de peste 4 mm a peretelui intestinal diagnosticând boala inflamatorie intestinală cu o sensibilitate de 85,5% și o specificitate de 74,3%.

Diferențierea formelor active de boală față de cele în remisiune a fost semnificativă statistic ($p < 0,001$), cu un indice de corelație intermediar ($r = 0,604$, Kendal tau B). Testul prezintă o arie de sub curbă de 0,941, o sensibilitate de 93,1% și o specificitate de 88,9%, folosind o valoare prag de 5,5 mm.

Valorile mari ale grosimii peretelui abdominal s-au asociat semnificativ cu apariția fibrozei și stenozelor ($p < 0,001$), acesta fiind cunoscut ca factor predictiv de evoluție severă (407).

Totuși, cu toate că pacienții care au necesitat creșterea terapiei sau instituirea terapiei biologice au prezentat valori mai mari ale grosimii peretelui abdominal la evaluarea inițială, diferența nu a atins pragul de semnificație statistică ($p = 0,881$ pentru boala Crohn respectiv $p = 0,086$ pentru colita ulcerativă). De asemenea, nu a existat corelație semnificativă între dimensiunea peretelui intestinal și necesitatea ulterioară de efectuare a colectomiei (p -value 0,490 pentru boala Crohn respectiv 0,114 pentru colita ulcerativă).

A fost realizată o corelație semnificativ statistică între dimensiunile crescute peste 5,5 mm ale peretelui intestinal în colita ulcerativă și apariția stricturilor.

Trebuie totuși menționat că proba a fost efectuată doar la pacienți care fie aveau deja stabilit un diagnostic de boală inflamatorie intestinală folosind alte criterii (clinic, endoscopic, biologic etc.), fie pacienți la care gradul de suspiciune pentru boala inflamatorie intestinală este foarte mare.

Trebuie, de asemenea, luat în considerare faptul că ultrasonografia este o metoda operator dependentă și pacient dependentă. Un alt studiu a identificat valori mult mai slabe ale sensibilității și specificității, dar acest studiu a investigat doar boala Crohn a intestinului subțire, acesta fiind o investigație mult mai dificilă decât investigarea colonului (408).

Comparativ cu literatura, au fost întâlnite rezultate similare în ceea ce privește diferențierea formelor active de boală (406), dar cu un indice de corelație mai slab ($r = 0,404$).

14.6. Elastografia ARFI

Evoluția pacienților cu boli inflamatorii intestinale poate fi severă în special prin numeroasele complicații ale acestor boli. Dintre aceste complicații, una dintre cele mai importante este fibroza intestinală apărută consecutiv inflamației cronice.

Ca urmare, în bolile inflamatorii intestinale putem avea îngroșarea peretelui intestinal, care poate fi prin edem inflamator, fie prin hipertrofia straturilor musculare, fie prin fibroza țesutului (424).

În cadrul acestui studiu pacienții cu boli inflamatorii intestinale au prezentat valori crescute ale vitezelor de propagare (medie 2,82 pentru boala Crohn, 2,77 pentru colita ulcerativă, 2,47 pentru lotul de control, p -value $< 0,001$). Nu au existat diferențe semnificative între boala Crohn și colita ulcerativă. Testul prezintă o sensibilitate de 72,6% și o specificitate de 61,7%, folosind o valoare prag de 2,5 m/s pentru diagnosticul de boală inflamatorie.

Boala inflamatorie activă a avut o creștere suplimentară a vitezelor de propagare, dar diferența a atins pragul de semnificație statistică doar pentru colita ulcerativă (p-value = 0,012).

În ceea ce privește criteriile de evoluție severă au fost obținute valori semnificativ statistice pentru predicția recăderii, nevoia creșterii dozelor și/sau introducerea unei clase de medicamente mai puternice (medie 2,87 vs 2,66; p-value 0,002).

A existat o asociere semnificativă între valorile elastografice determinate pe o zonă a intestinului și apariția ulterioară a zonelor de strictură și/sau stenoză la acest nivel, dar pragul de semnificație statistică a fost atins doar pentru boala Crohn și nu pentru colita ulcerativă (medie 2,90 vs. 2,72, p-value < 0,001).

Cea mai bună corelație a fost între valorile crescute ale vitezelor de propagare a undelor acustice (medie: 3,24 vs 2,73), la pacienții a căror evoluție, în anul consecutiv efectuării elastografiei, a necesitat colectomie (p-value < 0,001).

Testul a prezentat o sensibilitate și specificitate de 99,9% respectiv 86,7% (pentru boala Crohn) și 99,9% respectiv 92,5% (pentru colita ulcerativă) pentru predicția necesității efectuării colectomiei în următorii 3 ani de la efectuarea investigației.

Comparativ cu scorurile clinice în practica medicală curentă, valorile elastografiei ARFI au avut o asociere foarte bună cu scorul Mayo la pacienții cu colită ulcerativă (p = 0,006), dar nu cu scorul CDAI la pacienții cu boală Crohn (p = 0,541).

A existat o corelație între valorile elastografice obținute și unii parametrii de laborator. Calprotectina fecală a avut cea mai bună corelație dintre markerii inflamatori, având o asociere semnificativ statistică cu rezultatul elastografiei ARFI, atât pentru boala Crohn (p = 0,018), cât și pentru colita ulcerativă (p < 0,001). Suplimentar, în cazul colitei ulcerative a existat o relație liniară între cei doi parametrii, valorile crescute ale vitezelor de propagare prezicând valori crescute ale calprotectinei fecale.

Proteina C reactivă a prezentat asociere semnificativ statistică la pacienții cu colită ulcerativă (p = 0,033), existând, de asemenea, o relație liniară cu acest parametru.

Viteza de sedimentare a fost un parametru nespecific, acesta neavând nicio asociere semnificativă statistic cu rezultatele elastografiei ARFI.

În ceea ce privește comparația cu rezultatele endoscopice, vitezele de propagare au avut valori crescute la cei cu rezultate endoscopice cu scoruri de activitate crescut. În cazul bolii Crohn a existat asociere semnificativă cu scorul endoscopic SES-CD (p < 0,001), în timp ce în cadrul colitei ulcerative a existat asociere cu scorul endoscopic Mayo (p = 0,046).

Comparativ cu grosimea peretelui intestinal măsurată în cadrul ultrasonografiei abdominale, a existat asociere semnificativă statistic în cazul bolii Crohn (p-value = 0,015), valorile crescute ale vitezei de propagare determinate în cadrul elastografiei asociindu-se cu grosimi crescute (> 5 mm) ale peretelui abdominal. În cazul bolii Crohn nu a existat o relație liniară între cei doi parametrii mășurați (ARFI și grosimea peretelui intestinal), dar această relație a existat în cazul colitei ulcerative (p < 0,001).

Abilitatea metodei de a identifica necesitatea ulterioară de efectuare a colectomiei superioară măsurării simple a grosimii peretelui intestinal ar putea fi explicată prin abilitatea

aparaturii de a detecta îngroșarea datorată fibrozei sau hipertrofiei musculare, acestea fiind mult mai greu reversibile la tratament decât inflamația simplă (424).

De asemenea, nu au existat studii care să asocieze valorile obținute în cadrul elastografiei ARFI și metodele actuale de diagnostic.

Asocierea cu markerii inflamatori, în special a calprotectinei fecale, care are o specificitate crescută pentru identificarea formelor active de boală inflamatorie intestinală și de a prezice recăderea (435) sugerează posibilitatea folosirii acestei metode pentru monitorizarea pacienților cu boli inflamatorii intestinale.

În ceea ce privește comparația cu evaluarea endoscopică, asocierea a fost mai strânsă cu rezultatele colonoscopiei în cadrul bolii Crohn decât în cadrul colitei ulcerative, dar semnificativ statistic în ambele cazuri. Dat fiind posibilitatea bolii Crohn de a nu afecta zonele examinate în cadrul colonoscopiei, rezultatele sugerează mai degrabă un neajuns comun al celor două metode. Examinarea intestinului subțire ar putea fi îmbunătățită prin determinarea unui protocol standardizat de efectuare și efectuarea metodei prin apăsarea cu o presiune exactă, determinată electronic, precum cele folosite în cadrul studiilor pe model animal (361).

Rezultatele elastografiei ARFI se asociază cu valorile grosimii peretelui abdominal, măsurate prin ultrasonografie. Acest rezultat nu este surprinzător, având în vedere faptul că pacienții la care apare inflamația și fibroza secundară inflamației vor avea creștere atât a grosimii peretelui intestinal cât și a vitezei de propagare a undelor acustice.

Elastografia cu unde acustice prezintă totuși o serie de avantaje față de metodele clasice. Aceasta este o metodă neinvazivă, ceea ce reprezintă un avantaj chiar față de recoltarea de analize din sânge venos. Metoda este, astfel, ușor acceptată de către pacient, ceea ce, alături de faptul că se efectuează în timp real, permite o evaluare țintită și amănunțită a tractului intestinal.

Un alt avantaj al metodei este reprezentat de perspectiva cost-eficienței, metoda având materiale consumabile (gel ultrasonografic) mai puțin costisitoare decât probele folosite în prezent (kit-uri separate pentru fiecare probă).

Aceste avantaje ar propune elastografia ca o posibilă unealtă de monitorizare a pacienților cu boli inflamatorii intestinale, contribuind la decizia terapeutică.

Capitolul 15. Concluzii

Studiul prezent a relevat următoarele rezultate:

- Bolile inflamatorii intestinale sunt prezente la orice vârstă, dar numărul pacienților din studiu a fost mai mare pentru cei cu vârste în perioada 30-40 ani și 70-80 ani, confirmând datele epidemiologice existente.
- Incidența este crescută în decada a 2-a de viață și în decada 7-a a vieții, aceste două perioade acoperind 2/3 din cazurile nou descoperite.
- Un număr semnificativ de pacienți din lotul de studiu au avut evoluție severă (aproximativ 60%).

- Criteriile de severitate folosite includ apariția recăderilor și necesitatea creșterii terapiei, necesitatea introducerii terapiei biologice, apariția zonelor de strictură sau stenoză, indicația de colectomie.
- Viteza de sedimentare este un marker nespecific, cu corelație slabă pentru evaluarea activității bolii, proteina C reactivă și calprotectina fecală având corelații mult mai bune în acest sens.
- Calprotectina fecală este un marker inflamator mai sensibil și specific pentru bolile inflamatorii intestinale, având caracter predictiv pentru evoluția ulterioară a pacientului, în timp ce viteza de sedimentare și proteina C reactivă au prezis doar recăderile moderate, fără alte complicații.
- Profilul lipidic al pacienților cu boli inflamatorii intestinale este semnificativ modificat, aceștia prezentând valori semnificativ scăzute ale colesterolului total și LDL-Colesterolului.
- În cazul bolii Crohn modificările colesterolului sunt dependente de activitatea bolii, în timp ce în cazul colitei ulcerative acestea se corelează doar cu prezența bolii.
- Modificările profilului lipidic la pacienții cu boli inflamatorii intestinale nu pot prezice evoluția în timp a bolii, neexistând corelație cu nici unul din criteriile de evoluție severă.
- Grosimea peretelui intestinal la ultrasonografia abdominală poate fi de folos în diagnosticarea bolilor inflamatorii intestinale și a formei active de boală.
- Aceasta a fost semnificativ crescută la pacienții cu boli inflamatorii intestinale față de lotul de control. Grosimea de peste 4 mm a peretelui intestinal stabilește diagnosticul de boala inflamatorie intestinală cu o sensibilitate de 85,5% și o specificitate de 74,3%.
- Diferențierea formelor active de boală față de cele în remisiune a fost semnificativă statistic ($p < 0,001$), cu un indice de corelație intermediar ($r = 0,604$, Kendal tau B). Testul prezintă o arie de sub curbă de 0,941, o sensibilitate de 93,1% și o specificitate de 88,9%, folosind o valoare prag de 5,5 mm.
- Grosimea peretelui intestinal poate avea caracter predictiv pentru apariția zonelor de stricturi și stenoze la pacienții cu colită ulcerativă, dar nu la cei cu boală Crohn.
- Elastografia ARFI pentru intestin a avut o corelație mai slabă cu activitatea bolii și cu diagnosticul de boală inflamatorie intestinală decât grosimea peretelui intestinal, dar a avut cel mai bun caracter predictiv al evoluției dintre valorile studiate.
- Pacienții cu boli inflamatorii intestinale au prezentat valori crescute ale vitezelor de propagare. Nu au existat diferențe semnificative între boala Crohn și colita ulcerativă. Testul prezintă o sensibilitate de 72,6% și o specificitate de 61,7%, folosind o valoare prag de 2,5 m/s pentru diagnosticul de boală inflamatorie.
- Boala inflamatorie activă a avut o creștere suplimentară a vitezelor de propagare, dar diferența a atins pragul de semnificație statistică doar pentru colita ulcerativă.
- În ceea ce privește criteriile de evoluție severă, au fost obținute valori semnificativ statistice pentru predicția recăderii, nevoia creșterii dozelor și/sau introducerea unei clase de medicamente mai puternice, valorile fiind în special crescute la pacienții care au necesitat introducerea terapiei biologice cu infliximab sau adalimumab.

- Măsurarea valorilor elastografice au o sensibilitate de 70,4% și o specificitate de 72,4%, folosind o valoare prag de 2,8 m/s pentru prezicerea necesității introducerii terapiei biologice.
- A existat o asociere semnificativă între valorile elastografice determinate pe o zonă a intestinului și apariția ulterioară a zonelor de strictură și/sau stenoză la acest nivel, dar pragul de semnificație statistică a fost atins doar pentru boala Crohn și nu pentru colita ulcerativă.
- Cea mai bună corelație a fost între valorile crescute ale vitezelor de propagare a undelor acustice, la pacienții a căror evoluție, în anul consecutiv efectuării elastografiei, a necesitat colectomie.
- Testul a prezentat o sensibilitate și specificitate de 99,9% respectiv 86,7% (pentru boala Crohn) și 99,9% respectiv 92,5% (pentru colita ulcerativă) pentru predicția necesității efectuării colectomiei în următorii 3 ani de la efectuarea investigației.
- Abilitatea metodei de a identifica necesitatea ulterioară de efectuare a colectomiei superioară măsurării simple a grosimii peretelui intestinal ar putea fi explicată prin abilitatea aparatului de a detecta îngroșarea datorată fibrozei sau hipertrofiei musculare, acestea fiind mult mai greu reversibile la tratament decât inflamația simplă.
- De asemenea, nu au existat studii care să asocieze valorile obținute în cadrul elastografiei ARFI și metodele actuale de diagnostic.
- Testul a prezentat asociere cu unii markerii inflamatori, în special cu calprotectina fecală, ceea ce sugerează posibilitatea folosirii acestei metode pentru monitorizarea pacienților cu boli inflamatorii intestinale.
- În ceea ce privește comparația cu evaluarea endoscopică, asocierea a fost mai strânsă cu rezultatele colonoscopiei în cadrul bolii Crohn decât în cadrul colitei ulcerative, dar semnificativ statistic în ambele cazuri.
- Rezultatele elastografiei ARFI se asociază cu valorile grosimii peretelui abdominal, măsurate prin ultrasonografie.
- Elastografia cu unde acustice este o metodă neinvazivă, ușor acceptată de către pacient, se efectuează în timp real, permite o evaluare țintită și amănunțită a tractului intestinal și are o perspectivă cost-eficientă mai bună decât metodele folosite în prezent. Aceste avantaje ar propune elastografia ca o posibilă unealtă de monitorizare a pacienților cu boli inflamatorii intestinale, contribuind la decizia terapeutică.

Capitolul 16. Articole publicate în cadrul tezei

16.1. Cytokines in Inflammatory Bowel Disease

Articolul a fost publicat în numărul 2/2015 al Romanian Journal of Internal Medicine – România (ISSN: 1220-5818).

Site: <http://www.intmed.ro/images/rjim215/02%20Moldoveanu.pdf> .

Revistă indexată: Index Copernicus, PubMed.

16.2. Inflammatory Bowel Diseases and Air Pollution

Articolul a fost publicat în numărul 3, volumul 119 /2015, al Revistei Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași – România (ISSN-L: 2286-2560, ISSN online: 2286-2560, ISSN print: 0048-7848).

Site:

http://www.revmedchir.ro/uploads/1/5/7/2/15722076/30_final_moldoveanu_ac_mpl_act.pdf .

Revistă indexată: Index Medicus, Medline, PubMed.

Bibliografie selectivă

20. Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P, Wajda A. Epidemiology of Crohn's disease and ulcerative colitis in a central Canadian province: a population-based study. *Am J Epidemiol.* 1999;149(10):916-24.
24. Straus WL, Eisen GM, Sandler RS, Murray SC, Sessions JT. Crohn's disease: does race matter? The Mid-Atlantic Crohn's Disease Study Group. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(2):479-83.
40. Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Ollendorf D, Bousvaros A, Grand RJ, et al. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007;5(12):1424-9.
42. Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12 Suppl 1:S3-9.
49. Li X, Sundquist J, Sundquist K. Educational level and occupation as risk factors for inflammatory bowel diseases: A nationwide study based on hospitalizations in Sweden. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15(4):608-15.
50. Ekblom A, Wakefield A, Zack M, Adami H. The role of perinatal measles infection in the aetiology of Crohn's disease: a population-based epidemiological study. *Lancet.* 1994(344):508-10.
51. Montgomery S, Morris D, Pounder R, Wakefield A. Paramyxovirus infections in childhood and subsequent inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1999(116):796-803.
52. Montgomery S, Björnsson S, Jóhannsson J, Thjodleifsson B, Pounder R, Wakefield A. Concurrent viral epidemics in Iceland are a risk for inflammatory bowel disease. *Gut.* 1998(42):A41.
58. Victoria CR, Sassak LY, Nunes HR. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of Sao Paulo State, Brazil. *Arq Gastroenterol.* 2009;46(1):20-5.
59. Ng SC, Tang W, Ching JY, Wong M, Chow CM, Hui AJ, et al. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-pacific Crohn's and colitis epidemiology study. *Gastroenterology.* 2013;145(1):158-65 e2.
60. Geary RB, Richardson A, Frampton CM, Collett JA, Burt MJ, Chapman BA, et al. High incidence of Crohn's disease in Canterbury, New Zealand: results of an epidemiologic study. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12(10):936-43.
61. Wilson J, Hair C, Knight R, Catto-Smith A, Bell S, Kamm M, et al. High incidence of inflammatory bowel disease in Australia: a prospective population-based Australian incidence study. *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16(9):1550-6.
62. Okamoto R, Nagahor M, Watanabe M. Perspectives for IBD in Japan. *AGA Perspectives online.* 2013;9(2).
63. Asakura K, Nishiwaki Y, Inoue N, Hibi T, Watanabe M, Takebayashi T. Prevalence of ulcerative colitis and Crohn's disease in Japan. *J Gastroenterol.* 2009;44(7):659-65.
70. Ng SC, Tsoi KK, Kamm MA, Xia B, Wu J, Chan FK, et al. Genetics of inflammatory bowel disease in Asia: systematic review and meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18(6):1164-76.
71. Bernstein C, Eliakim A, Fedail S, Fried M, Geary R, Goh KL, et al. Inflammatory Bowel Disease. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines.* 2015.
72. Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, et al. Inflammatory bowel disease: a global perspective. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines.* 2009.
103. Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, et al. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med.* 2010;16(1):90-7.
104. Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, Hussey S, Kim YG, Magalhaes JG, et al. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol.* 2010;11(1):55-62.
105. Shaw MH, Kamada N, Warner N, Kim YG, Nunez G. The ever-expanding function of NOD2: autophagy, viral recognition, and T cell activation. *Trends Immunol.* 2011;32(2):73-9.
112. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? *World J Gastroenterol.* 2007;13(46):6134-9.

126. van der Heide F, Dijkstra A, Albersnagel FA, Kleibeuker JH, Dijkstra G. Active and passive smoking behaviour and cessation plans of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2010;4(2):125-31.
160. Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(6):458-66.
167. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut*. 2011;60(5):631-7.
168. Andoh A, Imaeda H, Aomatsu T, Inatomi O, Bamba S, Sasaki M, et al. Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gastroenterol*. 2011;46(4):479-86.
170. Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, Hampe J, Brant O, Folsch UR, et al. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut*. 2004;53(5):685-93.
171. Johansson ME, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(39):15064-9.
174. Simpson KW, Dogan B, Rishniw M, Goldstein RE, Klaessig S, McDonough PL, et al. Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in boxer dogs. *Infect Immun*. 2006;74(8):4778-92.
187. Moldoveanu AC, Diculescu M, Braticevici CF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Rom J Intern Med*. 2015;53(2):118-27.
188. Fiocchi C. Intestinal inflammation: a complex interplay of immune and nonimmune cell interactions. *Am J Physiol*. 1997;273(4 Pt 1):G769-75.
203. Stucchi A, Reed K, O'Brien M, Cerda S, Andrews C, Gower A, et al. A new transcription factor that regulates TNF-alpha gene expression, LITAF, is increased in intestinal tissues from patients with CD and UC. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(7):581-7.
225. Leach ST, Messina I, Lemberg DA, Novick D, Rubenstein M, Day AS. Local and systemic interleukin-18 and interleukin-18-binding protein in children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(1):68-74.
226. Pizarro TT, Michie MH, Bentz M, Woraratanadharm J, Smith MF, Jr., Foley E, et al. IL-18, a novel immunoregulatory cytokine, is up-regulated in Crohn's disease: expression and localization in intestinal mucosal cells. *J Immunol*. 1999;162(11):6829-35.
227. Okazawa A, Kanai T, Nakamaru K, Sato T, Inoue N, Ogata H, et al. Human intestinal epithelial cell-derived interleukin (IL)-18, along with IL-2, IL-7 and IL-15, is a potent synergistic factor for the proliferation of intraepithelial lymphocytes. *Clin Exp Immunol*. 2004;136(2):269-76.
228. Okamura H, Kashiwamura S, Tsutsui H, Yoshimoto T, Nakanishi K. Regulation of interferon-gamma production by IL-12 and IL-18. *Curr Opin Immunol*. 1998;10(3):259-64.
229. Micallef MJ, Tanimoto T, Kohno K, Ikegami H, Kurimoto M. Interleukin 18 induces a synergistic enhancement of interferon gamma production in mixed murine spleen cell-tumor cell cultures: role of endogenous interleukin 12. *Cancer Detect Prev*. 2000;24(3):234-43.
230. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature*. 2006;441(7090):231-4.
232. Ruddy MJ, Wong GC, Liu XK, Yamamoto H, Kasayama S, Kirkwood KL, et al. Functional cooperation between interleukin-17 and tumor necrosis factor-alpha is mediated by CCAAT/enhancer-binding protein family members. *J Biol Chem*. 2004;279(4):2559-67.
233. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*. 2005;6(11):1133-41.
234. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med*. 2005;201(2):233-40.

236. Jiang W, Su J, Zhang X, Cheng X, Zhou J, Shi R, et al. Elevated levels of Th17 cells and Th17-related cytokines are associated with disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Res*. 2014;63(11):943-50.
237. Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2003;52(1):65-70.
245. Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K, Muller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*. 1993;75(2):263-74.
246. Rennick DM, Fort MM. Lessons from genetically engineered animal models. XII. IL-10-deficient (IL-10(-/-) mice and intestinal inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000;278(6):G829-33.
249. Fantini MC, Monteleone G, Macdonald TT. New players in the cytokine orchestra of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13(11):1419-23.
250. Fina D, Caruso R, Pallone F, Monteleone G. Interleukin-21 (IL-21) controls inflammatory pathways in the gut. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2007;7(4):288-91.
255. Schmechel S, Konrad A, Diegelmann J, Glas J, Wetzke M, Paschos E, et al. Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(2):204-12.
256. Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, et al. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest*. 2008;118(2):534-44.
262. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest*. 2004;113(10):1490-7.
265. Van Assche G, Dignass A, Panes J, Beaugerie L, Karagiannis J, Allez M, et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis*. 2010;4(1):7-27.
294. Maconi G, Radice E, Greco S, Bianchi Porro G. Bowel ultrasound in Crohn's disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2006;20(1):93-112.
307. Parente F, Greco S, Molteni M, Anderloni A, Maconi G, Bianchi Porro G. Modern imaging of Crohn's disease using bowel ultrasound. *Inflamm Bowel Dis*. 2004;10(4):452-61.
313. Di Sabatino A, Fulle I, Ciccocioppo R, Ricevuti L, Tinazzi FP, Tinazzi S, et al. Doppler enhancement after intravenous levovist injection in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2002;8(4):251-7.
314. Parente F, Maconi G, Bollani S, Anderloni A, Sampietro G, Cristaldi M, et al. Bowel ultrasound in assessment of Crohn's disease and detection of related small bowel strictures: a prospective comparative study versus x ray and intraoperative findings. *Gut*. 2002;50(4):490-5.
329. Leighton JA, Shen B, Baron TH, Adler DG, Davila R, Egan JV, et al. ASGE guideline: endoscopy in the diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endosc*. 2006;63(4):558-65.
333. Jung SA. Differential diagnosis of inflammatory bowel disease: what is the role of colonoscopy? *Clin Endosc*. 2012;45(3):254-62.
349. Lovasz BD, Lakatos L, Horvath A, Szita I, Pandur T, Mandel M, et al. Evolution of disease phenotype in adult and pediatric onset Crohn's disease in a population-based cohort. *World J Gastroenterol*. 2013;19(14):2217-26.