

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
CAROL DAVILA, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
GASTROENTEROLOGIE**

***EVALUAREA CLINICĂ, BIOLOGICĂ ȘI ENDOSCOPICĂ A SEVERITĂȚII
BOLII INFLAMATORII INTESTINALE***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. MIRCEA MIHAI DICULESCU

Student-doctorand:

DR. DORINA BANEOTE CĂS. CALAGIU

2019

CUPRINS

INTRODUCERE

PARTEA GENERALĂ – DATE DIN LITERATURA DE SPECIALITATE

Listă abrevieri

Capitolul 1.

Epidemiologia Bolii Inflammatory Intestinale și factori de risc	1
1.1 Epidemiologia bolii inflamatorii intestinale	1
1.1.1 Incidenta bolii inflamatorii intestinale	2
1.1.2 Prevalența bolii inflamatorii intestinale	3
1.1.3 Mortalitatea bolii inflamatorii intestinale	3
1.2 Factori de risc genetici	4
1.3 Factori de risc interni – Microbiom	5
1.4 Factori de risc externi – de mediu	6
1.4.1 Alăptat	6
1.4.2 Factori socio-economici și igiena	7
1.4.3 Apendicectomie	7
1.4.4 Infecții	8
1.4.5 Medicamente	9
1.4.6 Fumat	10
1.4.7 Dietă	11
1.4.8 Stil de viață și stres	11

Capitolul 2.

Etiologie și patogeneză	12
2.1 Rolul mediului	12
2.2 Rolul geneticii	12
2.3 Rolul microbiomului	14
2.4 Rolul sistemului imunitar	17
2.4.1 Sistemul Imunitar Innăscut	17
2.4.2 Sistemul Imunitar Dobândit	18
2.5 Alți factori	20

Capitolul 3.

Evaluarea clinică a Bolii Inflammatory Intestinale și evoluția naturală	21
3.1 Recto-colita ulcero-hemoragică	21
3.1.1 Definiție	21
3.1.2 Evaluarea clinică	21
3.1.3 Evaluarea activității bolii	22
3.1.4 Evoluția naturală a bolii	24
3.2 Boala Crohn	24
3.2.1 Definiție	24

3.2.2	Evaluarea clinică	25
3.2.3	Evaluarea activității bolii	27
3.2.4	Evoluția naturală a bolii	28
Capitolul 4.		
	Complicații intestinale și extraintestinale ale Bolii Inflamatorii Intestinale.....	30
4.1	Complicații intestinale	30
4.1.1	Complicații intestinale non-neoplastice	30
4.1.2	Complicații intestinale neoplastice	34
4.2	Complicații extraintestinale	36
Capitolul 5.		
	Evaluarea biologică a Bolii Inflamatorii Intestinale.....	44
5.1	Biomarkeri genetici	44
5.2	Biomarkeri ai diagnosticării și diferențierii BII	45
5.3	Biomarkeri ai activității clinice	46
5.4	Biomarkeri ai screeningului de cancer colorectal	51
5.5	Biomarkeri în studiu	51
Capitolul 6.		
	Evaluarea endoscopică și imagistică a Bolii Inflamatorii Intestinale.....	53
6.1	Evaluarea endoscopică	53
6.1.1	Diagnosticul endoscopic al BII	53
6.1.2	Evaluarea endoscopică a severității bolii	55
6.1.3	Noi tehnici endoscopice de evaluare	56
6.2	Evaluarea histologică	57
6.3	Evaluarea imagistică	59
Capitolul 7.		
	Managementul medical și indicațiile chirurgicale ale Bolii Inflamatorii Intestinale.....	63
7.1	Managementul medical	63
7.1.1	Aminosalicilați	63
7.1.2	Corticosteroizi	64
7.1.3	Imunomodulatori	65
7.1.4	Terapia biologică	66
7.1.5	Antibiotice	68
7.1.6	Alte terapii suportive	68
7.2	Indicațiile chirurgicale	69
Capitolul 8.		
	Monitorizarea pacienților cu Boală Inflamatorie Intestinală	70
PARTEA SPECIALĂ		
Capitolul 9.		
	Motivația și obiectivele cercetării	74
9.1	Motivația studiului	74

9.2	Obiectivele cercetării	74
Capitolul 10.		
	Material și metodă	76
10.1	Material	76
10.2	Metodă	77
10.2.1	Criterii de includere în studiu	77
10.2.2	Criterii de excludere din studiu	78
10.2.3	Analize efectuate la înrolare	78
10.2.4	Vindecarea mucosală	85
10.2.5	Atitudine terapeutică	85
10.2.6	Monitorizare pacienți	86
10.2.7	Prelucrare statistică date	86
Capitolul 11.		
	Caracteristicile loturilor – rezultate statistice	90
11.1	Caracteristicile lotului de studiu și al lotului martor	90
11.2	Stadializarea pacienților cu BII în lotul studiu și lotul control	100
11.3	Rezultatele parametrilor biologici în lotul studiu și lotul control	106
11.4	Rezultate statistice privind stadializarea bolii în lotul de studiu și lotul control	126
11.4.1	Boala Crohn	126
11.4.2	Rectocolita ulcerohemoragică	136
11.5	Rezultate statistice privind clasificarea endoscopică a pacienților în lotul studiu și control	139
11.6	Rezultate statistice privind maniestările extraintestinale și intervențiile chirurgicale ale pacienților din lotul studiu și control	147
Capitolul 12.		
	Rezultatele analizei statistice	151
12.1	Rezultatele lotului de studiu	151
12.2	Rezultatele lotului control	188
Capitolul 13.		
	Discuții	201
13.1	Date epidemiologice	201
13.2	Criterii clinice de severitate	202
13.2.1	Vârsta la debut și durata bolii	202
13.2.2	Stadializarea pacienților după localizare și formă boală	202
13.2.3	Pusee de activitate	203
13.2.4	Manifestări extraintestinale	204
13.2.5	Intervenții chirurgicale	204
13.3	Criterii biologice de severitate	204
13.3.1	Markeri biologici – VSH	204
13.3.2	Markeri biologici – hemoglobina	205
13.3.3	Markeri biologici – PCR	205
13.3.4	Markeri biologici – IL6	207

13.3.5	Markeri fecali – calprotectina fecală	208
13.3.6	Markeri fecali – lactoferina fecală	209
13.4	Criterii endoscopice de severitate	211
Capitolul 14.		
Concluzii și contribuții personale		213
14.1	Concluzii	213
14.2	Contribuții personale	214
Bibliografie		218
Anexe		

INTRODUCERE

Boala inflamatorie intestinală, cu cele două forme ale sale - Boala Crohn și Rectocolita Ulcerohemoragică, reprezintă o formă cronică de afectare intestinală, care fluctuează în timp alternând între episoade de remisiune și de activitate cu diferite grade de severitate. Întrucât etiopatogeneza este în continuare incomplet elucidată, și evoluția bolii și răspunsul la diferite linii de tratament au cursuri neașteptate. Menținerea remisiunii pe o perioadă cât mai lungă și evitarea apariției puseurilor de activitate, sunt obiectivele principale ale clinicianului pentru a duce la o îmbunătățire a calității vieții pacienților, și la evitarea complicațiilor pe termen scurt sau lung date de o boală activă. În ciuda tuturor progreselor tehnologice și medicale și a conduitei terapeutice cu un impact favorabil asupra evoluției bolii, tratamentul actual al acestei patologii, deși mult îmbunătățit rămâne la stadiul de tratament suportiv decât curativ.

Creșterea incidenței bolii în ultimii ani, implicațiile personale și sociale pe care această patologie le manifestă, au făcut ca interesul pentru studierea bolii inflamatorii intestinale să fie din ce în ce mai mare în ultima perioadă. Acesta este motivul și pentru care ea face subiectul lucrării noastre de cercetare. Importanța temei este în creștere întrucât și afecțiunea a devenit mult mai cunoscută, iar noutatea și actualitatea sunt date de metodele noi de investigație care își propun o caracterizare mai bună a bolii astfel încât liniile noi de tratament să inducă o remisiune cât mai rapidă și de durată.

Preocuparea generală atât la nivel național dar mai ales internațional, este de a găsi o modalitate de a monitoriza activitatea inflamatorie, cât mai neinvazivă cu putință, astfel încât să putem preveni puseele iminente de activitate prin modificări ale schemei de tratament, întărind astfel conceptul de – treat to target – tratament țintit. Așa cum s-a demonstrat de-a lungul timpului, remisiunea clinică nu se corelează întotdeauna cu remisiunea endoscopică sau cu cea histologică. Atât remisiunea clinică cât și cea biologică sunt facil de investigat, dar din păcate nu sunt suficiente pentru a putea decide planul de tratament al unui pacient pe o perioadă îndelungată.

Vindecarea mucosală dovedită endoscopic, rămâne markerul cel mai de încredere în stabilirea prognosticului unui pacient și a deciziilor viitoare de terapie. Dezavantajul este reprezentat de invazivitatea investigației de endoscopie, care implică un disconfort și o complianță redusă din partea pacienților, costuri crescute spitalicești, absenteism de la locul de

muncă și posibile reacții adverse legate de investigație și de pregătirea necesară anterioară procedurii.

În prima parte a lucrării, partea generală, am efectuat o prezentare scurtă, pe capitole, a informațiilor cunoscute sau încă în studiu despre boala inflamatorie intestinală subliniind importanța descoperirii unor tehnici noi de investigație și a unor parametri de evaluare non invazivi și utilitatea lor în practica clinică.

Partea specială a lucrării descrie toate etapele cercetării începând cu motivația și ipoteza de studiu, obiectivele cercetării, metodologia cu metodă și protocol, partea descriptivă statistică a rezultatelor, discuțiile aferente rezultatelor și concluziile obținute.

Cercetarea nu ar fi putut fi realizată fără colaborarea unui întreg colectiv, format din medici gastroenterologi, de medicină internă, medicină de laborator, anatomo-patologie și un întreg personal de asistenți medicali cu pregătire adecvată investigațiilor specifice. Fiecare pacient a avut un diagnostic histopatologic concludent de boală inflamatorie intestinală și fiecare probă recoltată a fost fixată și depozitată în condiții potrivite.

Au existat și limitări ale cercetării – numărul de pacienți participanți la studiu a fost relativ mic, astfel încât în viitor o continuare a cercetării pe un lot mai mare ar putea furniza informații folositoare. Perioada de urmărire a pacienților a fost și ea insuficientă, o perioadă mai lungă putând contribui la o analiză mai eficientă a evoluției pacienților. De asemenea o monitorizare mai frecventă, cu recoltarea mai multor probe biologice și efectuarea unui panel de parametri, ar realiza o evaluare mai corectă a activității bolii.

PARTEA GENERALĂ

CAPITOLUL NR.1 EPIDEMIOLOGIA BOLII INFLAMATORII INTESTINALE ȘI FACTORI DE RISC

Primul capitol ne introduce în lumea bolii inflamatorii intestinale, aducând informații referitoare la epidemiologie – incidența, prevalența, mortalitatea bolii și de asemenea discutând factorii de risc incriminați în patogeneza bolii.

CAPITOLUL NR. 2 ETIOLOGIE ȘI PATOGENEZĂ

Deși etiologia nu poate fi încă stabilită cu exactitate, ultimele cercetări au arătat că BII

este rezultatul unei combinații complexe între un *sistem imun* dezechilibrat care declanșează din cauza unui *factor de mediu*, un răspuns exagerat și prelungit față de *flora intestinală proprie* la anumiți indivizi *susceptibili genetic* [89].

CAPITOLUL NR. 3 EVALUAREA CLINICĂ A BOLII INFLAMATORII INTESTINALE ȘI EVOLUȚIA NATURALĂ

În acest capitol sunt descrise pentru cele două forme de boală, simptomele și semnele caracteristice care ajută la stabilirea diagnosticului, modalitățile de evaluare a activității bolii și evoluția naturală în timp.

CAPITOLUL NR. 4 COMPLICAȚII INTESTINALE ȘI EXTRAINTESTINALE ALE BOLII INFLAMATORII INTESTINALE

Complicațiile intestinale care pot apărea în timp, se referă atât la cele non-neoplastice – de severitate a bolii, cât și neoplastice - displazice și canceroase. BII poate fi considerată o afecțiune sistemică întrucât pe lângă manifestările principale ale tractului GI, prezintă și numeroase complicații extraintestinale și este asociată și cu alte afecțiuni autoimune care se manifestă independent de afectarea intestinală [214].

CAPITOLUL NR. 5 EVALUAREA BIOLOGICĂ A BOLII INFLAMATORII INTESTINALE

Diagnosticarea unei afecțiuni intestinale este complexă, implicând atât evaluări clinice, de laborator, imagistice dar și investigații invazive care sunt consumatoare de timp, resurse, inconfortabile pentru pacient și uneori însoțite de complicații [241]. În acest capitol sunt trecuți în revistă biomarkerii cunoscuți și utilizați în practică – genetici, ai diagnosticării și diferențierii, ai activității clinice, ai screeningului de cancer colorectal precum și cei în studiu – ai metabolomului, proteomici și genetici.

CAPITOLUL NR. 6 EVALUAREA ENDOSCOPICĂ ȘI IMAGISTICĂ A BOLII INFLAMATORII INTESTINALE

Rolul endoscopiei este esențial în evaluarea inițială/periodică a pacienților, prin avantajul oferit de examinarea directă a mucoasei GI și posibilitatea recoltării probelor de biopsie [272]. Examenul histologic face parte din etapele obligatorii diagnosticării bolii inflamatorii intestinale, în multe cazuri reprezentând investigația definitivă. Biopsierea și examenul anatomo-patologic permit diferențierea de alte patologii posibile (colite infecțioase,

medicamentoase, ischemice, asociate diverticulozei sau terapiei radice), aspectul macroscopic nefiind întotdeauna patognomic și nici datele clinice nefiind concludente [300].

Evaluarea imagistică își aduce contribuția în BII atunci când tehnicile endoscopice nu o pot face, fiind utilă atât în stabilirea diagnosticului, evaluarea extinderii și severității bolii, diagnosticarea complicațiilor și a manifestărilor extraintestinale, efectuarea screeningului displazic precum și în monitorizarea răspunsului la tratament și modificarea la nevoie a acestuia [307].

CAPITOLUL NR. 7 MANAGEMENTUL MEDICAL ȘI INDICAȚIILE CHIRURGICALE ALE BOLII INFLAMATORII INTESTINALE

În acest capitol sunt prezentate sumar liniile de tratament clasic folosite în practica clinică, terapiile noi apărute precum și tipurile de abordări folosite în alegerea tratamentului potrivit fiecărui pacient. Tratamentul chirurgical devine, la un moment în evoluția BII, esențial pentru îmbunătățirea calității vieții pacienților. Decizia privind momentul intervenției, trebuie să ia în calcul comportamentul bolii, localizarea, patternul, răspunsul la medicație, vârsta, starea de sănătate și calitatea vieții pacientului.

CAPITOLUL NR. 8 MONITORIZAREA PACIENȚILOR CU BOALĂ INFLAMATORIE INTESTINALĂ

Un aspect important în evoluția bolii inflamatorii, este monitorizarea periodică a pacienților, astfel încât posibilele complicații sau reacții adverse care pot apărea, să fie evitate la timp. Periodicitatea depinde de mai mulți factori – tipul de tratament, prezența sau absența simptomatologiei, vârsta și tipul de boală.

PARTEA SPECIALĂ

CAPITOLUL NR. 9 MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Boala inflamatorie intestinală este o afecțiune a cărei etiologie, evoluție și tratament este încă în plină desfășurare. Complexitatea bolii, cu nenumăratele complicații posibile duc la afectarea importantă a calității vieții pacienților, și la costuri spitalicești mari privind investigațiile, tratamentul necesar, internările repetate precum și absenteismul de la locul de muncă.

Ipoteza cercetării noastre a pornit de la ideea unei necesități în creștere a descoperirii unui marker non invaziv de evaluare a activității bolii, care să se coreleze eficient cu vindecarea

mucosală și reprezentând astfel un substitut pentru eventualele endoscopii. În cadrul cercetării noastre, obiectivele științifice au inclus evaluarea clinică, biologică și endoscopică a severității BII, evaluarea markerilor deja cunoscuți, din punct de vedere al sensibilității și specificității lor în detectarea activității bolii, evaluarea unor markeri noi și de asemenea corelația acestor markeri cu vindecarea mucosală. Obiectivele secundare au vizat compararea celor două loturi studiate, determinând astfel importanța unei monitorizări atente, periodice și impactul ei asupra evoluției pacienților.

CAPITOLUL NR.10 MATERIAL ȘI METODĂ

Evaluarea activității bolii este esențială atât în diagnosticarea cât și în controlul pacienților cu BII. Remisiunea clinică s-a dovedit insuficientă în stabilirea cu acuratețe a stării de activitate astfel încât remisiunea endoscopică a devenit obligatorie, reprezentând și unul dintre scopurile terapiei medicale [365]. Vindecarea mucosală, care definește remisiunea endoscopică, reprezintă supresia efectivă și susținută a inflamației intestinale. Rectocolita ulcerohemoragică necesită pentru a defini vindecarea mucosală absența modificărilor inflamatorii – friabilitate, eroziuni sau ulcerații [366]. În cazul Bolii Crohn definirea vindecării mucosale este reprezentată de absența ulcerațiilor [367]. Studiile au arătat că menținerea vindecării mucosale pe termen lung îmbunătățește evoluția bolii sau chiar o încetinește – necesitatea spitalizării și a intervențiilor chirurgicale redusă, utilizarea primelor linii de tratament pentru controlul bolii, risc de reactivare a bolii scăzut [365].

Studiul a fost efectuat pe două loturi de pacienți cu boală inflamatorie intestinală, cu criterii asemănătoare de înrolare și a căror urmărire s-a efectuat timp de un an. Monitorizarea periodică a pacienților cu BII este unul dintre punctele cheie în vederea obținerii unui rezultat favorabil la tratament. Pacienții cu boală inflamatorie intestinală prezintă poate într-un procent mai mare față de alte afecțiuni, o complianță scăzută la aceasaa monitorizare frecventă, datorată atât unor factori independenți dar și dependenți de pacient. Pornind de la această idee, s-au constituit și cele două loturi ale cercetării – lotul de studiu și lotul control.

Lotul de studiu a cuprins 65 de pacienți, care au fost inițiați pe terapie biologică, și care au fost urmăriți la perioade prestabilite- înrolare, 6 luni, 12 luni și la fiecare puseu înregistrat în plus. Analizele efectuate au cuprins recoltarea de markeri biologici serici și fecali și evaluarea endoscopică pentru consemnarea vindecării mucosale. Rezultatele obținute au fost consemnate în tabel Excell și prelucrate statistic pentru obținerea informațiilor necesare.

Lotul control alcătuit din 32 de pacienți, care au necesitat de asemenea terapie biologică, au fost înrolați și monitorizați apoi mai puțin frecvent decât lotul studiu, acesta reprezentând unul din punctele cheie ale studiului – evaluarea importanței unei monitorizări frecvente și atente a pacienților și impactul monitorizării asupra evoluției ulterioare. Pacienții din lotul control au fost monitorizați la înrolare și la prezentarea în timpul puseelor de activitate, sau la 12 luni de la înrolare iar analizele efectuate au constat în markeri biologici și fecali și evaluare endoscopică.

CAPITOLUL NR.11 CARACTERISTICILE LOTURILOR – REZULTATE STATISTICE

În acest capitol au fost prezentate rezultatele analizei statistice privind caracteristicile pacienților – număr pacienți în fiecare lot privind tipul de boală, împărțirea în funcție de sex, vârstă, vârsta medie și mediană, durata bolii, împărțirea în funcție de comportamentul față de fumat, în funcție de stadializare în diferite momente de evoluție.

De asemenea au fost prezentate procentele pacienților în funcție de valoarea de cut-off a fiecărui parametru biologic evaluat – VSH, PCR, Hb, calprotectina fecală și în funcție de aspectele regăsite la endoscopie în diferite momente de evoluție a bolii.

CAPITOLUL NR. 12 REZULTATE OBTINUTE ÎN URMA ANALIZEI STATISTICE

12.1 Rezultatele lotului de studiu

Lotul de studiu alcătuit din cei 65 de pacienți cu terapie biologică sau combo, a prezentat la 6 luni o rata de remisiune de 67% - 43 pacienți în remisiune și 33% - 22 pacienți în atac. Ulterior la 12 luni 71% din pacienți au fost în remisiune – 46 de pacienți și 19 pacienți – 29% au prezentat semne de activitate a bolii.

Au fost evaluați la 6 și 12 luni CF și IL6 și la 12 luni PCR și LF. Rezultatele statistice sunt prezentate pentru fiecare parametru în parte.

Tabel 12.1.1 Repartiția pacienților cu BII după CF, în corelație cu MH, la 6 luni

Calprotectina și Mucosal healing (MH) la 6 luni - BII					
Calprotectina la 6 luni	Mucosal healing la 6 luni				Total
	MH(-)		MH(+)		
	N	%	N	%	N
Calprotectina $\leq 150 \mu\text{g/g}$	6	13.33	39	86.67	45
Calprotectina $> 150 \mu\text{g/g}$	16	80	4	20	20
Total	22	33.85	43	66.15	65
Testul Kruskal-Wallis – P = 0.0001					

Tabel 12.1.2 CF – test diagnostic pentru MH la 6 luni, pentru pacienții cu BII

Calprotectina ca test pentru mucosal healing la 6 luni – BII	
Sensibilitate	90.70%
Specificitate	72.73%
Valoare predictivă pozitivă	86.67%
Valoarea predictivă negativă	80.00%
Clasificat corect	84.62%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.8333

Tabel 12.1.7 Repartiția pacienților cu BII după CF, în corelație cu MH, la 12 luni

Calprotectina și Mucosal healing (MH) la 12 luni - BII					
Calprotectina la 12 luni	Mucosal healing la 12 luni				Total
	MH(-)		MH(+)		
	N	%	N	%	
Calprotectina ≤ 150 $\mu\text{g/g}$	5	10.42	43	89.58	48
Calprotectina > 150 $\mu\text{g/g}$	14	82.35	3	17.65	17
Total	19	29.23	46	70.77	65
Testul Kruskal-Wallis – P = 0.0001					

Tabel 12.1.8 CF – test diagnostic pentru MH la 12 luni, pentru pacienții cu BII

Calprotectina ca test pentru mucosal healing la 12 luni - BII	
Sensibilitate	93.48%
Specificitate	73.68%
Valoare predictivă pozitivă	89.58%
Valoarea predictivă negativă	82.35%
Clasificat corect	87.69%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.8358

Tabel 12.1.13 Repartiția pacienților cu BII după IL6, în corelație cu MH, la 6 luni

Interleukina-6 și Mucosal healing (MH) la 6 luni - BII					
Interleukina-6 la 6 luni	Mucosal healing la 6 luni				Total
	MH(-)		MH(+)		
	N	%	N	%	
Interleukina-6 ≤ 3.8 pg/ml	12	27.27	32	72.73	44
Interleukina-6 > 3.8 pg/ml	10	47.62	11	52.38	21
Total	22	33.85	43	66.15	65
Testul Kruskal-Wallis – P = 0.1077					

Tabel 12.1.14 IL6- test diagnostic pentru MH la 6 luni, pentru pacienții cu BII

Interleukina-6 ca test pentru mucosal healing la 6 luni - BII	
Sensibilitate	74.42%
Specificitate	45.45%
Valoare predictivă pozitivă	72.72%
Valoarea predictivă negativă	47.61%
Clasificat corect	66.15%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.5994

Tabel 12.1.19. Repartiția pacienților cu BII după IL6, în corelație cu MH, la 12 luni

Interleukina-6 și Mucosal healing (MH) la 12 luni - BII					
Interleukina-6 la 12 luni	Mucosal healing la 12 luni				Total
	MH(-)		MH(+)		
	N	%	N	%	
Interleukina-6 \leq 3.8 pg/ml	9	20	36	80	45
Interleukina-6 $>$ 3.8 pg/ml	10	50	10	50	20
Total	19	29.23	46	70.77	65
Testul Kruskal-Wallis – P = 0.0149					

Tabel 12.1.20 IL6 – test diagnostic pentru MH la 12 luni, pentru pacienții cu BII

Interleukina-6 ca test pentru mucosal healing la 12 luni - BII	
Sensibilitate	78.26%
Specificitate	52.63%
Valoare predictivă pozitivă	80.00%
Valoarea predictivă negativă	50.00%
Clasificat corect	70.07%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.6545

Tabel 12.1.25. Repartiția pacienților cu BII după PCR, în corelație cu MH, la 12 luni

PCR și Mucosal healing (MH) la 12 luni - BII					
PCR la 12 luni	Mucosal healing la 12 luni				Total
	MH(-)		MH(+)		
	N	%	N	%	
PCR \leq 5 mg/l	10	22.73	34	77.27	44
PCR $>$ 5 mg/l	9	42.86	12	57.14	21
Total	19	29.23	46	70.77	65
Testul Kruskal-Wallis – P = 0.0978					

Tabel 12.1.26 PCR – test diagnostic pentru MH la 12 luni, la pacienții cu BII

PCR ca test pentru mucosal healing la 12 luni - BII	
Sensibilitate	73.91%
Specificitate	47.36%
Valoare predictivă pozitivă	77.27%
Valoarea predictivă negativă	42.85%
Clasificat corect	70.77%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.6064

Tabel 12.1.31. Repartiția pacienților cu BII după LF, în corelație cu MH, la 12 luni

LACTOFERINA și Mucosal healing (MH) la 12 luni - BII					
LACTOFERINA la 12 luni	Mucosal healing la 12 luni				Total
	MH(-)		MH(+)		
	N	%	N	%	
LACTOFERINA ≤ 10 mg/l	9	19.15	38	80.85	47
LACTOFERINA > 10 mg/l	10	55.56	8	44.44	18
Total	19	29.23	46	70.77	65
Testul Kruskal-Wallis – P = 0.0042					

Tabel 12.1.32 LF – test diagnostic pentru MH la 12 luni, pentru pacienții cu BII

LACTOFERINA ca test pentru mucosal healing la 12 luni - BII	
Sensibilitate	82.61%
Specificitate	52.63%
Valoare predictivă pozitivă	80.85%
Valoarea predictivă negativă	55.56%
Clasificat corect	73.85%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.6762

12.2 Rezultatele lotului control

Lotul control format din 32 de pacienți cu tratament biologic și criterii asemănătoare ca și lotul de studiu, a prezentat la 12 luni de la evaluare o rată a remisiunii de 53% - 17 pacienți și 15 pacienți au prezentat forme active de boală – 47%.

Tabel 12.2.1 Repartiția pacienților cu BII după CF, în corelație cu MH la 12 luni

Calprotectina și Mucosal healing (MH) la 12 luni - BII - Martori					
Calprotectina la 12 luni	Mucosal healing la 12 luni				
	MH(-)		MH(+)		Total
	N	%	N	%	N
Calprotectina ≤ 150 $\mu\text{g/g}$	4	23.53	13	76.47	17
Calprotectina > 150 $\mu\text{g/g}$	11	73.33	4	26.67	15
Total	15	46.88	17	53.13	32

Testul Kruskal-Wallis – P = **0.005**

Tabel 12.2.2 CF - test diagnostic pentru MH la 12 luni, la pacienții cu BII

Calprotectina ca test pentru mucosal healing la 12 luni – BII - Martori	
Sensibilitate	76.47%
Specificitate	73.33%
Valoare predictivă pozitivă	76.47%
Valoarea predictivă negativă	73.33%
Clasificat corect	75.00%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.7490

Tabel 12.2.7 Repartiția pacienților cu BII după PCR, în corelație cu MH la 12 luni

PCR (<i>polymerase chain reaction</i>) și Mucosal healing (MH) la 12 luni – BII - Martori					
PCR la 12 luni	Mucosal healing la 12 luni				
	MH(-)		MH(+)		Total
	N	%	N	%	N
PCR ≤ 5 mg/l	9	45	11	55	20
PCR > 5 mg/l	6	50	6	50	12
Total	15	46.88	17	53.13	32

Testul Kruskal-Wallis – P = 0.7871

Tabel 12.2.8 PCR - test diagnostic pentru MH la 12 luni, la pacienții cu BII

PCR ca test pentru mucosal healing la 12 luni – BII - Martori	
Sensibilitate	64.70%
Specificitate	40.00%
Valoare predictivă pozitivă	55.00%
Valoarea predictivă negativă	50.00%
Clasificat corect	53.13%
AUROC (Aria de sub curba ROC)	0.5235

CAPITOLUL NR. 13 DISCUȚII

Studiul nostru a fost efectuat pe o perioadă de patru ani într-un centru universitar din București, unde prezentarea pacienților este atât prin urgență cât și prin ambulator. Avantajele efectuării acestui studiu au fost reprezentate de o adresabilitate bună a pacienților într-un spital mare din România, unde tehnica medicală este disponibilă colectivului medical într-un procent destul de bun, de posibilitatea colaborării cu alte specialități atunci când se impunea, de costurile realizabile necesare cercetării.

Dezavantajele pe de altă parte au fost și ele importante din cauza limitelor pe care le-au impus cercetării. Unul dintre aspecte este numărul redus de pacienți inclus în studiu – acest fapt se datorează incidenței nu foarte mari a acestei boli în România, a înrolării deficitare din cauza intervalului de timp redus, a complianței scăzute a pacienților și a criteriilor care trebuiau întrunite, și a includerii unui singur centru universitar în studiu. Un alt dezavantaj de menționat este perioada scurtă de urmărire a pacienților care nu aduce informații suficiente sau concludente asupra obiectivelor. O altă limitare a cercetării este faptul că nu s-au realizat evaluări histologice concomitent cu evaluarea endoscopică – definiția vindecării mucoale este încă controversată, unele studii susținând necesitatea absenței modificărilor histologice alături de cele mucoale pentru a susține definiția. Un alt aspect important este imposibilitatea efectuării unui panel de mai multe analize periodic din cauza costurilor crescute.

În ultima perioadă, în domeniul bolii inflamatorii intestinale, cercetările au fost ținute spre găsirea unui marker neinvaziv care să coincidă cu activitatea mucoasă, ușurând astfel munca clinicienilor și crescând complianța pacienților la investigații. Acest aspect rămâne nerezolvat, întrucât este bine știut că remisiunea clinică nu coincide cu remisiunea endoscopică și/sau histologică și de aceea, nevoia de a identifica parametri cât mai sugestivi pentru vindecarea mucoasă este în continuă creștere. Direcția în care poate continua cercetarea noastră implică atât markerii investigați până acum, dar și alți markeri care alături de cei cunoscuți să furnizeze informații utile. De asemenea este importantă și frecvența recoltării markerilor în stabilirea exactă a utilității lor – o evaluare repetată ar aduce informații suplimentare. Un studiu viitor ar trebui să evalueze și corelația parametrilor studiați cu prezența/absența modificărilor histologice.

Lotul de studiu a fost alcătuit din 65 de pacienți – 22 cu boala Crohn (10 femei și 12 bărbați) și 43 cu RCUH (24 femei și 19 bărbați), iar lotul control 32 pacienți – 14 cu BC (8 femei și 6 bărbați) și 18 cu RCUH (7 femei și 11 bărbați). Nu s-au observat diferențe semnificative în constituirea celor două loturi din punct de vedere al tipului de boală sau al *sexului* pacienților.

Din punct de vedere al *mediului de viață*, în lotul de studiu 80% din pacienți trăiesc în mediul urban și 20% din pacienți în mediul rural. Lotul control prezintă rezultate asemănătoare – 75% din pacienți fac parte din mediul urban și 25% din mediul rural. Datele sunt conforme cu cele din literatură [45].

Vârsta medie de boală a pacienților din lotul de studiu a fost de 45 de ani în rândul pacienților cu BC și 41 de ani la cei cu RCUH și o mediană de 46 de ani BC și 36 RCUH. Lotul control prezintă o valoare medie a vârstei de 43 de ani pentru BC și 48 de ani pentru RCUH și mediana de 39.5 BC și 46.5 pentru RCUH. Nu s-au dovedit diferențe semnificative între cele două loturi iar datele coincid cu cele cunoscute din literatura de specialitate [4,5].

Fumatul s-a dovedit în cazul lotului de studiu un factor de risc pentru BC, pacienții fumători fiind semnificativ statistic mai numeroși- 11 cu BC față de 6 cu RCUH și foști fumători 1 cu BC și 14 cu RCUH. În cazul lotului control nu s-au dovedit diferențe semnificative între cele două tipuri de boală – fumători 8 BC, 4 RCUH și foști fumători 3 BC și 9 RCUH dar analiza statistică a evidențiat un procent mai mare de fumători în cadrul lotului control (37,5% fumători lot control față de 26.15% lot studiu și foști fumători 37.5% lot control față de 23.08% lot studiu).

Factorul de risc genetic a fost și el analizat în cadrul celor două loturi, și s-a dovedit semnificativ statistic atât pentru lotul de studiu – 17% din pacienți prezintă rude gr I afectate cât și pentru lotul control – 15% pacienți; date asemănătoare cu cele din literatură [3].

Conform datelor cunoscute, incidența bolii inflamatorii intestinale este în creștere și la extremele de vârstă – populație pediatrică sau de vârstă a 3-a, ducând astfel la forme mai severe de boală [19,21].

Un alt factor de severitate evaluat în cadrul bolii, a fost *tipul de boală* manifestat de pacient la înrolare și apoi periodic la evaluare. După clasificarea Montreal au fost încadrați atât pacienții lotului de studiu cât și control. Analiza statistică a evidențiat diferențe semnificative între cele două loturi studiate din perspectiva tipului de manifestare al bolii. Astfel, la evaluarea

de la înrolare și de la 6 luni, au fost semnificativ mai mulți pacienți cu BC cu pattern B1-nestenoizant, nepenetrant în lotul de studiu față de lotul control – $p=0.0147$ și 0.0164 .

Criteriile biologice de severitate au reprezentat și obiectivul principal al cercetării noastre, scopul fiind de a demonstra o corelație cu puseele de activitate și anume cu prezența sau absența vindecării mucoale dovedită endoscopic. Au fost analizați ca și parametri sangvini VSH, Hb, PCR, IL6 iar ca și markeri fecali calprotectina și lactoferina fecală.

Markerii sangvini nu au prezentat semnificație statistică pentru nici unul dintre loturi și nici pentru vindecare mucoasă, cu excepția IL6 la 12 luni- care are rezultate promițătoare pentru lotul studiu și pentru grupul cu RCUH.

Calprotectina fecală este un marker de încredere, intens utilizat în practica clinică în diagnosticarea și monitorizarea pacienților. Analiza statistică a evidențiat diferențe semnificative în grupul cu BC din lotul studiu față de lotul control și față de grupul cu RCUH – semnificativ mai mulți pacienți cu valori mari ale CF.

La 12 luni de la înrolare, pacienții din lotul de studiu au prezentat în număr de 46 vindecare mucoasă – 43 cu valori mici ale CF și 3 cu valori mari ale CF și 19 pacienți fără vindecare mucoasă - 5 cu CF mică și 14 cu CF mare. Împărțirea pacienților a prezentat semnificație statistică bună – $p=0.0001$ cu sn 93.48%, sp 73.68%, vpp 89.58%, vpn 82.35% și AUROC 0.8358. În cazul lotului control, analiza statistică a evidențiat semnificație statistică mai mică a CF comparativ cu lotul de studiu. La evaluarea de la 12 luni pentru toți pacienții cu BII, CF a prezentat o sn de 76.47%, sp 73.33%, vpp 76.47%, vpn 73.33%, AUROC 0.7490 ca și test diagnostic. Pacienții au fost în număr de 17 cu vindecare mucoasă - 13 cu CF mică și 4 cu CF mare și 15 fără vindecare mucoasă – 4 cu CF mică și 11 cu CF mare.

Lactoferina fecală a fost un alt parametru evaluat la pacienții din cadrul lotului de studiu în vederea stabilirii utilității ei în practica clinică. Lotul de studiu a prezentat o împărțire semnificativă a pacienților cu BII la 12 luni – 46 pacienți cu vindecare mucoasă – 38 cu LF mică și 8 cu LF mare și 19 pacienți fără vindecare mucoasă – 9 pacienți cu LF mică și 10 pacienți cu LF mare. Rezultatele statistice arată o sn de 82.61% a LF, sp 52.63%, vpp 80.85%, vpn 55.56% și AUROC de 0.6762.

Endoscopia cu sau fără biopsie rămâne modalitatea de necontestat în stabilirea corectă a stării de activitate a bolii inflamatorii intestinale. În studiul nostru, a fost utilizată pentru

diagnosticarea pacienților, clasificarea lor corectă la fiecare vizită, stabilirea prezenței sau absenței vindecării mucosale și la obținerea unei corelații cu parametrii biologici studiați.

La înrolare în lotul studiu, pacienții au fost împărțiți în funcție de modificările endoscopice găsite în timpul investigației. Analiza statistică a evidențiat semnificativ mai mulți pacienți cu modificări de severitate în lotul control față de lotul de studiu. La evaluarea de la 1 an, analiza statistică a relevat semnificativ mai mulți pacienți activi cu RCUH în lotul control față de cei cu BC și mai mulți pacienți cu BC activi în lotul control față de lotul de studiu.

Tabelele 13.3.1 și 13.3.2 evidențiază utilitatea parametrilor biologici studiați în monitorizarea activității inflamatorii subclinice – stabilirea prezenței sau absenței vindecării mucosale. Calprotectina fecală prezintă rezultatele cele mai promițătoare în diagnosticarea vindecării mucosale la ambele forme de boală în cele două loturi. Analiza statistică a evidențiat utilitatea markerului IL6 în cazul RCUH în prezicerea vindecării mucosale și de asemenea a lactoferinei fecale. PCR nu prezintă o corelație pozitivă cu activitatea inflamatorie, prezentând rezultatele cele mai slabe.

Tabel 13.3.1 Rezultate statistice pentru lot studiu

		SN	SP	VPP	VPN	AUROC
<i>CF 6 luni</i>	BII	90.7%	72.73%	86.67%	80%	0.8333
	BC	88.89%	76.92%	72.73%	90.91%	0.8291
	RCUH	90.63%	72.73%	90.63%	72.73%	0.8168
<i>IL6 6 luni</i>	BII	74.42%	45.45%	72.72%	47.61%	0.5994
	BC	63.64%	54.55%	58.33%	60%	0.5909
	RCUH	78.12%	36.36%	78.12%	36.36%	0.5724
<i>CF 12 luni</i>	BII	93.48%	73.68%	89.58%	82.35%	0.8358
	BC	92.31%	55.56%	75%	83.33%	0.7393
	RCUH	93.94%	90%	96.88%	81.82%	0.9197
<i>IL6 12 luni</i>	BII	78.26%	52.63%	80%	50%	0.6545
	BC	69.23%	33.33%	60%	42.86%	0.5128
	RCUH	81.82%	70%	90%	53.85%	0.7591
<i>PCR 12 luni</i>	BII	73.91%	47.36%	77.27%	42.85%	0.6064
	BC	69.23%	44.44%	64.28%	50%	0.5684
	RCUH	75.75%	50%	83.33%	38.46%	0.6288
<i>LF 12 luni</i>	BII	82.61%	52.63%	80.85%	55.56%	0.6762
	BC	76.92%	44.44%	66.67%	57.14%	0.6068
	RCUH	84.85%	60%	87.5%	54.55%	0.7242

Tabel 13.3.2 Rezultate statistice lot control

		SN	SP	VPP	VPN	AUROC
CF 12 luni	BII	76.47%	73.33%	76.47%	73.33%	0.7490
	BC	70%	100%		57.14%	0.500
	RCUH	85.71%	63.64%	60%	87.5%	0.7468
PCR 12 luni	BII	64.7%	40%	55%	50%	0.5235
	BC	60%	25%	66.67%		0.5750
	RCUH	71.43%	45.46%	45.46%	71.43%	0.5844

Tabel 13.3.3 Analiza Cox- Calprotectina fecală – indicator al activității

Regresie Cox multivariată: Calprotectina la includere (primul puseu) – ca indicator al absenței Mucosal Healing după 12 luni de urmărire			
	Absența Mucosal Healing după 12 luni de urmărire (MH12-)		
	HR	IC95%	P
Calprotectina la includere (primul puseu)	0.82	0.33 - 2.04	0.677
Cazuri vs martori	0.89	0.36 - 2.18	0.794
Vârsta	1.02	0.99 - 1.05	0.125
Sex (Bărbați vs Femei)	3.19	1.18 - 8.66	0.023
Fumat	1.43	0.88 - 2.33	0.150
IBD (Rectocolita ulcerohemoragică vs Boala Crohn)	1.26	0.56 - 2.85	0.579
Durata Bolii	0.95	0.89 - 1.01	0.076
Complicații extraintestinale	1.12	0.52 - 2.44	0.767
VSH la includere (primul puseu)	0.82	0.34 - 2	0.665
PCR la includere (primul puseu)	1.77	0.72 - 4.35	0.213
Hb la includere (primul puseu)	0.97	0.75 - 1.25	0.814

S-a efectuat analiza multivariată de regresie Cox pentru calprotectina fecală, în vederea stabilirii utilității în a prezice activitatea inflamatorie. S-a utilizat pentru analiză valoarea calprotectinei de la înrolare – primul puseu, și s-a dovedit o valoare scăzută în corelația cu vindecarea mucosală de la 12 luni de urmărire. O explicație pentru acest rezultat ar putea fi capacitatea scăzută a CF în prezicerea cu acuratețe pe termen lung a activității bolii.

CAPITOLUL NR. 14 CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

În urma analizei datelor clinico-biologice și endoscopice ale pacienților cu boală inflamatorie intestinală și a interpretării rezultatelor obținute statistic, am obținut următoarele concluzii:

1. Date generale epidemiologice

- Cele două loturi studiate au fost constituite asemănător în ceea ce privește tipul de boală și sexul pacienților.
- Mediul urban este predominant ca și mediu de viață al pacienților atât în lotul studiu cât și cel control.
- Vârsta medie de boală a pacienților din cele două loturi corespunde cu datele cunoscute din literatură.
- Fumatul este factor de risc pentru pacienții cu BC și de asemenea pacienții fumători au fost mai numeroși în cadrul lotului control.
- Factorul de risc genetic a fost semnificativ statistic pentru ambele loturi studiate.

2. Criterii clinice severitate

- Vârsta la debut reprezintă un criteriu de severitate în ambele loturi studiate.
- Stadializarea bolii nu a relevat diferențe semnificative între cele două loturi
- Patternul bolii poate reprezenta un marker de severitate – dar perioada de urmărire a pacienților a fost insuficientă pentru a putea concluziona.
- În lotul de studiu au fost semnificativ mai mulți pacienți cu forme mai ușoare față de lotul control, din perspectiva tipului de manifestare al bolii (B1- nestenozant, nepenetrant).
- Puseele de activitate au fost mai dese în lotul control față de lotul de studiu – dar fără semnificație statistică – lot insuficient și perioada scurtă urmărire.
- Manifestările extraintestinale au fost prezente în proporții asemănătoare la cele două loturi studiate.
- Intervențiile chirurgicale reprezintă un alt criteriu de severitate- numărul pacienților cu BC fiind semnificativ statistic mai mare decât al celor cu RCUH. Între cele două loturi nu s-au observat diferențe semnificative.

3. Criterii biologice severitate

- PCR
 - În lotul studiu la înrolare, pacienții cu BC au prezentat semnificativ mai mulți valori mari ale PCR decât cei cu RCUH.
 - Lotul control la înrolare – pacienții cu RCUH au fost semnificativ mai mulți cu valori mari ale PCR decât cei din lotul de studiu.
 - În timpul puseului, pacienții din lotul control au prezentat valori mai mari ale PCR față de cei din lotul de studiu.
 - Cut-off-ul de 5mg/l pentru PCR nu s-a dovedit un discriminator pentru vindecare mucosală la 12 luni pentru loturile studiate.
 - Valorile PCR variază cu locația și extensia bolii, date conforme cu datele din literatură.
- IL6
 - Valoarea de cut-off de 3.8 pg/ml pentru IL6 nu s-a dovedit un discriminator pentru vindecare mucosală la 6 luni pentru pacienții cu BII din lotul de studiu.
 - La 12 luni, IL6 a prezentat rezultate statistice bune pentru vindecare mucosală pentru pacienții cu BII din lotul de studiu și pentru cei cu RCUH, dar nu și pentru BC.
- CF
 - La înrolare s-au înregistrat mai mulți pacienți cu BC cu valori mari ale CF față de pacienții cu RCUH din lotul de studiu și față de cei cu BC din lotul control.
 - Cut-off-ul de 150μg/g este un bun discriminator pentru vindecarea mucosală atât la 6 cât și la 12 luni, și pentru IBD în general cât și pentru BC și RCUH în particular.
 - CF se corelează mai bine cu activitatea endoscopică din RCUH față de BC
 - În cazul BC, sn și sp markerului sunt mai mici în formele de afectare ileală față de afectarea ileocolonică.
 - Valorile repetate în evoluție prezic mai bine activitatea endoscopică.

- Calprotectina de la înrolare nu reprezintă un indicator al absenței vindecării mucoale de la 12 luni.
- LF
 - Cut-off-ul de 10 mg/l este la 12 luni un bun discriminator pentru vindecare mucosală, pentru BII în general și pentru RCUH, dar nu și pentru BC .

4. Criterii endoscopice severitate

- Modificările endoscopice de severitate se referă la prezența ulcerațiilor, pseudopolipilor, hiperemiei marcate și a friabilității.
- Pacienții din lotul control la înrolare au prezentat în număr semnificativ mai mare modificări de severitate decât cei din lotul de studiu.
- La evaluarea de la 1 an pacienții cu BC din lotul control au fost semnificativ mai mulți cu afectare mucosală decât cei din lotul de studiu, iar în cadrul lotului control cei cu RCUH i-au depășit numeric pe cei cu BC.
- La evaluarea de la 6 luni, rata de remisiune endoscopică în lotul de studiu a fost de 67% (43 pacienți), date asemănătoare cu cele din literatură [352].
- La evaluarea de la 12 luni, 71% din pacienți din lotul de studiu au prezentat vindecare mucosală (46 pacienți)
- Lotul control a prezentat o rată a remisiunii endoscopice de 53% la 12 luni (17 pacienți).

5. Monitorizarea frecventă periodică și monitorizarea la nevoie

- Pacienții monitorizați mai frecvent din lotul de studiu au prezentat rate de remisiune mai bune decât cei din lotul control.
- Puseele de activitate ale pacienților din lotul control au fost mai severe decât cele ale pacienților din lotul de studiu, ca urmare a monitorizării mai rare, doar la nevoie.
- Rezultatele statistice ale parametrilor biologici studiați au fost mai slabe în cazul lotului control, unde monitorizarea nu a fost frecventă.

În urma acestor concluzii, mai multe aspecte importante ar fi de reținut :

1. Pentru evaluarea severității BII pot fi folosite atât criteriile clinice, biologice și endoscopice – dar evaluarea vindecării mucoale endoscopice reprezintă ținta terapiei.
2. Dintre parametrii biologici studiați- calprotectina fecală și-a dovedit utilitatea în stabilirea severității puseelor și în corelarea cu vindecarea mucosală atât la 6 cât și la 12 luni.
3. IL6 și LF ar putea fi factori discriminatori buni pt vindecare mucosală, mai ales în cazul RCUH.
4. PCR nu reprezintă specificitate și sensibilitate bună în cazul BII, corelarea cu vindecarea mucosală fiind slabă.
5. Monitorizarea frecventă reprezintă una dintre metodele de control ale bolii, analiza noastră ilustrând rezultate mai bune ale pacienților din lotul studiu – pusee de activitate mai puține, cu forme mai puțin agresive și rate de remisiune mai mari la 12 luni de la inițiere tratament.

În ultima perioadă, în domeniul bolii inflamatorii intestinale, cercetările au fost ținute spre găsirea unui marker neinvaziv care să coincidă cu activitatea mucosală, ușurând astfel munca clinicienilor și crescând complianța pacienților la investigații. Acest aspect rămâne nerezolvat, întrucât este bine știut că remisiunea clinică nu coincide cu remisiunea endoscopică și/sau histologică și de aceea, nevoia de a identifica parametri cât mai sugestivi pentru vindecarea mucosală este în continuă creștere. Direcția în care poate continua cercetarea noastră implică atât markerii investigați până acum, dar și alți markeri care alături de cei cunoscuți să furnizeze informații utile. De asemenea este importantă și frecvența recoltării markerilor în stabilirea exactă a utilității lor – o evaluare repetată ar aduce informații suplimentare. Un studiu viitor ar trebui să evalueze și corelația parametrilor studiați cu prezența/absența modificărilor histologice.

Bibliografie selectivă :

3. Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*, 12, 205–217, 2015.
4. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*, 126, 1504-1517, 2004.
5. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW and Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*, 142: 46-54, 2012.
19. Damas OM et al. Phenotypic manifestations of inflammatory bowel disease differ between Hispanics and non-Hispanic whites: results of a large cohort study. *Am J Gastroenterol*, 108, 231–239, 2013.
21. Benchimol EI, Fortinsky KJ, Gozdyra P, Van den Heuvel M, Van Limbergen J, Griffiths AM. Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review of international trends. *Inflamm Bowel Dis*, 17, 423–439, 2011.
45. Soon IS, Molodecky NA, Rabi DM, Ghali WA, Barkema HW, Kaplan GG. The relationship between urban environment and the inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol*, 12, 51, 2012.
89. Yi-Zhen Zhang, Yong-Yu Li. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J Gastroenterol*, 20(1), 91-99, 2014.
214. Vavricka SR, Schoepfer A, Scharl M, Lakatos PL, Navarini A, Rogler G. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*, 21, 8, 2015.
241. Soubières AA, Poullis A. Emerging role of novel biomarkers in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*, 7, 41-50, 2016.
272. Chan G, Fefferman DS, Farrell RJ. Endoscopic Assessment of Inflammatory Bowel Disease: Colonoscopy/ Esophagogastroduodenoscopy. *Gastroenterol Clin N Am*, 41, 271–290, 2012.
300. Rubio CA, Orrego A, Nesi G, et al. Frequency of epithelioid granulomas in colonoscopic biopsy specimens from paediatric and adult patients with Crohn's colitis. *J Clin Pathol*, 60, 1268-72, 2007.
307. Zakeri N, Pollok RCG, Diagnostic imaging and radiation exposure in inflammatory

bowel disease. *World J Gastroenterol*, 22, 2165-2178, 2016.

352. Danese S, Vermeire S, Hellstern P, Panaccione R, Rogler G, Fraser G, Kohn A, Desreumaux P, Leong RW, Comer GM, Cataldi F, Banerjee A, Maguire MK, Cheryl Li, Rath N, Beebe J, Schreiber S. Randomised trial and open-label extension study of an anti-interleukin-6 antibody in Crohn's disease (ANDANTE I and II). *Gut*, 68, 40-48, 2019.

365. Atreya R, Neurath MF. Current and Future Targets for Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Disease. *Visceral Medicine*, 33, 82-88, 2017.

366. D'Haens G, Sandborn WJ, Feagan BG, Geboes K, Hanauer SB, Irvine EJ, Lémann M, Marteau P, Rutgeerts P, Schölmerich J, Sutherland LR. A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 132, 763–786, 2007.

367. Rutgeerts P, Van Assche G, Sandborn WJ, Wolf DC, Geboes K, Colombel JF, Reinisch W. Adalimumab induces and maintains mucosal healing in patients with Crohn's disease: data from the EXTEND trial. *Gastroenterology*, 142, 1102–1111, 2012.

Listă lucrări științifice publicate :

1. The genesis of inflammatory bowel disease. Yesterday, Today, Tomorrow.
Revista *Archives of the Balkan Medical Union*, vol 50, Nr. 3, 399-405, 2015
<https://umbalk.org/wp-content/uploads/2018/07/ARCHIVES-of-the-Balkan-Medical-Union-Volume-50-Number-3-September-2015.pdf>
2. Endoscopic evaluation of Inflammatory Bowel Disease. What to use, when to use?.
Revista *Acta Medica Transilvanica*, vol 24, Nr. 3, 70-77, 2019.
<http://www.amsibiu.ro/Arhiva/2019/Nr3-en/Calagiu.pdf>
3. Poster prezentat la Congresul National de Gastroenterologie, Hepatologie si Endoscopie Digestiva iunie 2017
How does the environmental risk factors influence the prevalence of IBD in a retrospective study in Romania.
Revista *Journal of Gastrointestinal and Liver disease*, vol 26, Nr. 3, 66, 2017