

Revisão bibliográfica: biomarcadores na doença inflamatória intestinal

Literature review: biomarkers in inflammatory bowel disease

Revisión bibliográfica: biomarcadores en la enfermedad inflamatoria intestinal

Débora Maciel Pimentel de Brito^{1*}, Larissa Lima do Nascimento¹, Verônica de Jesus Oliveira Barreto¹, Ana Beatriz da Cruz Lopo de Figueiredo¹, Adriana Caroline Medeiros Tavares¹, Kamilla Fernanda Oliveira da Silva Reis¹, Arlene dos Santos Pinto¹, Aline de Vasconcellos Costa e Sá Storino¹, Wilson Marques Ramos Junior¹, Armando Holanda Guerra Junior¹, Jessé Bisconsin Torres¹, Maria José dos Santos Silva¹, Lorena Corrêa de Moraes¹, Juliana Rosseto de Araujo¹, Felipe Conrado Castro de Melo².

RESUMO

Objetivos: Tem-se por objetivo abordar o tema relacionado aos biomarcadores nas doenças inflamatórias intestinais que, em combinação com os atualmente disponíveis na prática clínica poderá melhorar significativamente a avaliação dos pacientes com DII. **Métodos:** Trata-se de uma pesquisa bibliográfica, de natureza qualitativa, realizada através de livros, artigos acadêmicos e periódicos especializados quanto ao tema escolhido. **Resultados:** Por definição estabelece-se que biomarcador é uma característica que é mensurada e avaliada objetivamente como indicadora de um processo biológico normal, de um processo patológico, ou de resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica. **Conclusão:** Atualmente, alguns biomarcadores, incluindo testes sorológicos e marcadores fecais, estão sendo utilizados na prática médica para avaliação da atividade da doença e do diagnóstico das doenças inflamatórias intestinais. A utilização dos já existentes e a descoberta de novos são de extrema importância para a prática clínica, no que tange ao diagnóstico e segmento dos pacientes com DII.

Palavras-chave: Biomarcadores, Inflamatórios, Fecais, Doenças, Intestinais.

ABSTRACT

Objectives: Thus, the subject of the present study is the biomarkers in inflammatory bowel disease. The objective of this study was to treat fecal inflammatory biomarkers, which, in combination with those currently available in clinical practice, could significantly improve the assessment of patients with IBD. **Methods:** This is a bibliographical research, of a qualitative nature, carried out through books, academic articles and specialized journals on the chosen theme. **Results:** By definition it is established that biomarker is a characteristic that is measured and evaluated objectively as an indicator of a normal biological process, a pathological process, or pharmacological response to a therapeutic intervention. **Conclusion:** Currently, some biomarkers, including serological tests and fecal markers, are being used in medical practice to assess disease activity and diagnosis of inflammatory bowel diseases.

Keywords: Biomarkers, Inflammatory drugs, Fecal diseases, Diseases, Intestinal.

¹ Hospital Universitário Getúlio Vargas Manaus-AM. * E-mail: dmacielpb@hotmail.com

² Fundação Hospital Adriano Jorge (FHAJ)Manaus-AM.

RESUMEN

Objetivos: De este modo, el tema del presente estudio es los biomarcadores en la enfermedad inflamatoria intestinal. Se tiene por objetivo tratar de los biomarcadores inflamatorios fecales que, en combinación con los actualmente disponibles en la práctica clínica podrá mejorar significativamente la evaluación de los pacientes con DII. **Métodos:** Se trata de una investigación bibliográfica, de naturaleza cualitativa, realizada a través de libros, artículos académicos y periódicos especializados en cuanto al tema escogido. **Resultados:** Por definición se establece que el biomarcador es una característica que se mide y se evalúa objetivamente como indicadora de un proceso biológico normal, de un proceso patológico, o de respuesta farmacológica a una intervención terapéutica. **Conclusión:** Actualmente, algunos biomarcadores, incluyendo pruebas serológicas y marcadores fecales, se están utilizando en la práctica médica para evaluar la actividad de la enfermedad y el diagnóstico de las enfermedades inflamatorias intestinales.

Palabras clave: Biomarcadores, Inflamatoria, Fecal, Enfermedades, Intestinales.

INTRODUÇÃO

As Doenças Inflamatórias Intestinais – DII, notadamente a Doença de Crohn e Retocolite Ulcerativa são entidades autoimunes relacionadas à redução da frequência de infecções entéricas, decorrente das melhorias nas condições de higiene e armazenamento de alimentos. É descrita em todo o mundo, mostrando uma tendência de crescimento de sua incidência, inclusive no Brasil, mas com predomínio nas populações nórdicas da Europa e América do Norte. São de evolução crônica, caracterizadas por períodos de atividade e/ou complicações, intercalados por fases de aparente acalmia. Os subtipos de DII derivam de componentes etiológicos similares. Estes, sendo de origem multifatorial, são resultados da interação de fatores ambientais, imunológicos e genéticos, que culminam em alterações na integridade da barreira da mucosa intraluminal. E a ativação da imunidade inata é decorrente do fluxo transepitelial de bactérias entéricas.

O quadro clínico decorre da localização anatômica da doença, bem como de sua extensão. Dessa forma, as apresentações podem variar desde diarreia, dor abdominal, perda ponderal, associado ou não a febre, podendo chegar até mesmo a manifestações extra-intestinais, como artralgias e lesões cutâneas.

Os biomarcadores inflamatórios fecais são substâncias geradas na mucosa intestinal ou que fluem para o lúmen intestinal em decorrência da permeabilidade da mucosa. São usados no dia a dia médico para avaliar atividade da doença e realizar diagnóstico das doenças inflamatórias intestinais.

Desse modo, o tema do presente estudo é biomarcadores na doença inflamatória intestinal. Como problemas de pesquisa pretende-se responder a seguinte questão: quais são considerados os principais novos biomarcadores nas doenças inflamatórias intestinais?

Tem-se por objetivo elencar os principais biomarcadores nos pacientes com DII.

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) não classificável é definida como um diagnóstico de exclusão, a qual é corroborada pela incerteza diagnóstica entre a Doença de Crohn (DC) e a Retocolite Ulcerativa (RCU). Nesse sentido, a relevância do tema escolhido decorre do fato de que essas entidades, de etiologia multifatorial, são condições crônicas caracterizadas por episódios de inflamação do trato gastrointestinal recorrentes e, o uso dos novos biomarcadores em combinação com os atualmente disponíveis na prática clínica poderá melhorar significativamente a avaliação dos pacientes com DII.

MÉTODOS

O presente estudo compreendeu uma revisão sistemática de literatura que abordou os biomarcadores da Doença Inflamatória Intestinal (DII) nas seguintes bases de dados da Biblioteca Virtual da Saúde: PubMed e PEDro. A estratégia de pesquisa foi realizada através da consulta pelos seguintes descritores e suas

combinações: Doença Inflamatória Intestinal (DII); biomarcadores, Doença de Crohn (DC); Retocolite Ulcerativa (RCU). Apenas artigos em português e inglês foram considerados para esta revisão. Além do idioma de publicação, foram considerados como limite na estratégia de busca os textos disponíveis na íntegra e a presença dos descritores no título ou resumo. Os critérios de inclusão das referências foram os seguintes: ensaios clínicos controlados, artigos que abordaram o tema escolhido e temas relacionados. Já os critérios de exclusão foram: artigos de revisões sistemáticas e estudos que não apresentem clareza nos resultados.

RESULTADOS

Após a busca inicial realizada com base nos títulos de 18 artigos que tratam dos biomarcadores na doença inflamatória intestinal, foram descartados 7 artigos, por estarem repetidos nas bases de dados, 5 por não atenderem aos objetivos propostos verificados através do título ou íntegra, restando assim 6 estudos que preencheram os critérios de inclusão. Estes descrevem os mais utilizados biomarcadores na doença inflamatória intestinal.

DISCUSSÃO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII), a qual abrange a Doença de Crohn (DC) e a Retocolite Ulcerativa (RCU), tem etiologia multifatorial e seus subtipos compartilham dos mesmos aspectos, caracteriza-se por ser uma condição crônica cujo marco é a recorrência de episódios de inflamação do trato gastrointestinal (KANAI T, et al., 2014).

Com a progressão contínua das tecnologias atuais, alguns estudos de cunho genético e metabólico surgiram para facilitar o desenvolvimento de novos biomarcadores. Naqueles pacientes com DII, os novos biomarcadores, associados a métodos convencionais, incluindo marcadores fecais e sorológicos, têm mostrado grande valia na determinação da atividade da doença inflamatória, assim como avaliação da resposta terapêutica farmacológica. (ISKANDAR N e CIORBA MA, 2012).

A proteína C-reativa (PCR) e Velocidade de Sedimentação Eritrocitária (VSE) são as mais usualmente avaliadas nas DII. A PCR é uma proteína produzida pelo fígado em decorrência de uma variedade de estímulos inflamatórios tanto crônicos quanto agudos. Citocinas associadas a DII na forma ativa (IL-6, TNF α e IL-1 β) estimulam a sua produção por hepatócitos acima dos valores de referência, marcadamente inferiores a 1mg/L. Na fase ativa da DII, estes níveis variam entre 5-200 mg/L, a depender do espectro de gravidade da doença e da capacidade do indivíduo de produzir a proteína (OGAWA K, et al., 2012).

Segundo Palmon; Brown; Abreu (2008), um amplo número de diversos biomarcadores sorológicos têm vindo a ser testados incluindo a α 1-glicoproteína ácida, a proteína amiloide A, α 2-globulina, lactoferrina, trombopoietina, procalcitonina e até a contagem de plaquetas, porém estes têm demonstrado menor validação em comparação à proteína C-reativa (PCR) (SERADA S, et al., 2012).

A VSE ainda estabelece uma rápida avaliação da resposta inflamatória aguda. Variados fatores influenciam tal marcador, dentre eles a idade, o gênero, a presença de anemia, discrasias sanguíneas e a gravidez (KOLHO KL, et al., 2012).

Novos marcadores estão sendo propostos. Dentre eles incluem-se as metaloproteinases da matriz, marcadores de peroxidação lipídica, citocinas como a IL-17A, 23 ou 12, a glicoproteína α 2 rica em leucina, eosinófilos ativados (ECP e EPX), o ativador de plasminogênio tipo uroquinase (upa), a proteína ligante de lipopolissacarídeos (LBP) e CD14 solúvel (LAKATOS L, et al., 2009).

A calprotectina é uma proteína citosólica ligadora de cálcio encontrada usualmente em neutrófilos e, em menor quantia, em monócitos e macrófagos reativos. É abundante em vários fluidos corporais na mesma proporção que o grau de inflamação gerado, bem como em condições inflamatórias agudas e crônicas. Pode permanecer estável nas fezes até 7 dias em temperatura ambiente devido sua resistência à

degradação bacteriana. Tem uma distribuição homogênea e propriedades que permitem a sua identificação em pequenas amostras fecais, podendo ser rapidamente quantificada pelo método de ELISA (KOLHO KL, et al., 2012).

Níveis altos de calprotectina (CP) em pacientes com DII são resultantes do aumento da infiltração de neutrófilos na túnica mucosa intestinal e a transmigração para o lúmen intestinal. Outras proteínas derivadas de neutrófilos, como elastase, mieloperoxidase e lisozima parecem ter potencial como marcadores de inflamação gastrointestinal. Contudo, a calprotectina apresenta vantagem em relação às outras, por representar 60% da proteína do citosol do neutrófilo. Consolidados em evidências científicas, os ensaios quantitativos da calprotectina tornam-se uma metodologia para estudo, diagnóstico e avaliação de recorrência pós-operatória das doenças inflamatórias intestinais (GUARDIOLA J, et al., 2015).

Por definição, a lactoferrina é uma glicoproteína que se liga ao ferro, podendo ser encontrada em secreções exócrinas de mamíferos, como por exemplo a saliva, lágrimas, secreções vaginais, fezes e leite materno, e é libertada a partir de grânulos de neutrófilos durante a inflamação, interagindo diretamente com patógenos do exterior. Receptores para lactoferrina foram encontrados em monócitos, linfócitos, neutrófilos, tecido intestinal e em certas bactérias, acreditando-se ter participação na resposta inflamatória aguda. As concentrações desta glicoproteína no lúmen intestinal aumentam com o influxo de neutrófilos na fase de inflamação, sendo proporcional em relação ao nível de recrutamento neutrofílico para o trato gastrointestinal. Pode ter função antimicrobiana, podendo ser resistente à proteólise nas fezes e manter-se estável até por até 5 dias (OGAWA K, et al., 2012).

Na RCU, a lactoferrina induz a produção de citocinas pró-inflamatórias e tem ação antimicrobiana. E, conforme mostrado em estudos, ela é utilizada como biomarcador cuja habilidade é de estimular e promover a proliferação de células epiteliais intestinais (YAMAMOTO, et al., 2014; BOHR S, et al., 2015).

A calgranulina C, também conhecida como S100A12 ou EN-RAGE (*extracellular, newly identified receptor for advanced glycation end-products*) é membro da família proteica S100. Por definição, é uma proteína citoplasmática presente nos neutrófilos e tem propriedades pró-inflamatórias, incluindo importante atividade quimiotática. Liga-se no receptor RAGE, ativando a via de transdução de sinal através do fator nuclear κB , o que conduz à geração de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β) e ao aumento da expressão de moléculas de adesão, como ICAM-1 e VCAM-1. Isto pode sugerir que esta proteína colabora para o processo inflamatório no intestino, e que suas concentrações poderão vir a refletir a presença e gravidade da inflamação intestinal (KOVACS M, et al., 2012).

A piruvato quinase (PK) é uma enzima chave na via glicolítica. É comprovada sua expressão por toda as células, em isoformas diméricas ou tetraméricas. A última (M1) está presente no músculo esquelético, coração e cérebro, enquanto a isoforma dimérica (M2) foi evidenciada em tecidos proliferativos e indiferenciados, sendo detectada tanto no plasma quanto nas fezes. A M2-PK é uma enzima citosólica que, após a destruição de leucócitos na via gastrointestinal, é liberada para o trânsito fecal (CZUB E, et al., 2014).

A atividade elevada da PK em neutrófilos pode ser vista em pacientes politraumatizados, naqueles com insuficiência cardíaca, tumores gastrointestinais e, ultimamente, na inflamação da bolsa ileal. M2-PK ainda foi detectada em fezes de pacientes com câncer colo-retal e proposto como potencial marcador de rastreio para esta doença. Já foi descrito que, uma vez que a DII ativa está intrinsecamente relacionada com a rápida divisão e renovação celular (esta retorna ao normal uma vez a inflamação resolvida), as concentrações fecais desta enzima poderiam estar elevadas naqueles indivíduos com DII (DUBINSKY MC, et al., 2010).

Quanto aos valores de referência dos biomarcadores, pode-se destacar os principais: PCR <10mg/l (aqueles valores cima de 10mg/l indicam processo inflamatório); VHS Adultos (masculino < 10mm e feminino <20 mm (método de Westergren); VHS em idosos (masculino <40mm e feminino <50mm); Calprotectina é considerada negativa quando valores inferior a 50 mcg/g, positivo baixo de 50 a 200 mcg/g e positivo se superior a 200 mcg/g; Lactoferrina pode variar entre 7,5 e 10 mg/g; valores de cut-off

superiores a 4 U/mL para a M2-PK, obtiveram sensibilidade e especificidade de 67% e 88%. A calprotectina fecal inferior a 150 mg/g parece indicar uma remissão da doença com menor risco de recorrência e um aumento deste marcador precocemente durante a remissão clínica pode ser um bom preditor de recorrência (COLLARES GB e PAULINO UHM, 2006; SILVA MM, 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, os avanços na tecnologia e estudos desenvolvidos com base na genômica, têm auxiliado no surgimento de novos biomarcadores inflamatórios fecais e sorológicos que podem ser utilizados na prática médica para diagnóstico das doenças inflamatórias intestinais e avaliação da atividade da doença. Dentre estes, os marcadores fecais são valiosos, devido sua especificidade ao trato gastrointestinal. As mais comumente utilizadas na avaliação das DII são a proteína C-reativa (PCR) e Velocidade de Sedimentação Eritrocitária (VSE). Porém por serem marcadores de inflamação sistêmica, apresentam limitação no diagnóstico e diferenciação dos subtipos. Além destas, um vasto número de biomarcadores sorológicos estão sendo testados, incluindo a α 1-glicoproteína ácida, a proteína amiloide A α 2- globulina, lactoferrina, trombopoietina, procalcitonina e até a contagem de plaquetas. Dentre os novos marcadores propostos incluem-se as metaloproteinases da matriz, marcadores de peroxidação lipídica, citocinas como a IL-17A, 23 ou 12, a glicoproteína α 2 rica em leucina, eosinófilos ativados (ECP e EPX), o ativador de plasminogênio tipo uroquinase (uPa) ou a proteína ligante de lipopolissacarídeos (LBP) e CD14 solúvel. Dessa forma sabe-se que, em conjunto com outros métodos convencionais, os biomarcadores são de extrema importância no diagnóstico e atividade da DII, tornando a descoberta de novos de extrema importância para a prática clínica, no que tange ao diagnóstico e segmento de pacientes com a enfermidade, com consequente melhoria da qualidade de vida destes. Com o avançar das novas tecnologias na área médica e biomédica, espera-se em breve o surgimento de novos biomarcadores que tenham sua acessibilidade disponibilizada tanto diagnóstico quanto para o prognóstico dos pacientes com DII.

REFERÊNCIAS

1. BOHR S, et al. The role of CHI3L1 (Chitinase-3-Like-1) in the pathogenesis of infections in burns in a mouse model. *PLoS One*. 2015; 10(11): e0140440.
2. COLLARES GB, PAULINO UHM. Aplicações clínicas atuais da proteína C reativa. *Revista Médica de Minas Gerais*, 2006; 16(4): 227-333.
3. CZUB E, et al. Comparison of fecal pyruvate kinase isoform M2 and calprotectin in acute diarrhea in hospitalized children. *Scientific Reports*, 2014; 4: 4769.
4. DUBINSKY MC, et al. Genome wide association (GWA) predictors of anti-TNF α therapeutic responsiveness in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2010; 16(8): 1357-1366.
5. GUARDIOLA J, et al. Fecal level of calprotectin identifies histologic inflammation in patients with ulcerative colitis in clinical and endoscopic remission. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2014; 12(11): 1865-1870.
6. ISKANDAR N, CIORBA MA. Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease: Current Practices and Recent Advances. *Translational Research*, 2012; 159(4): 313–325.
7. KANAI T, et al. Diet, microbiota, and inflammatory bowel disease: lessons from Japanese foods. *Korean Journal of Internal Medicine*, 2014; 29(4): 409-415.
8. KAUL A, et al. Serum Anti-glycan Antibody Biomarkers for Inflammatory Bowel Disease Diagnosis and Progression: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2012; 18(10): 1872-1884.
9. KOLHO KL, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor suPAR as a marker for inflammation in pediatric inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2012; 47(8-9): 951-955.
10. KOVACS M, et al. Pancreatic autoantibodies and autoantibodies against goblet cells in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Journal Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2012; 55(4): 429-435.
11. LAKATOS L, et al. Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2009; 15(3): 365-374.
12. OGAWA K, et al. Profiles of circulating cytokines in patients with Crohn's disease under maintenance therapy with infliximab. *Journal of Crohn's an Colitis*, 2012; 6(5): 529-535.

13. PALMELA C, et al. New trends in inflammatory bowel disease. *GE Portuguese Journal of Gastroenterology*, 2015; 22(3): 103-111.
14. SERADA S, et al. Serum leucinerich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2012; 18(11): 2169-2179.
15. SILVA MM. Biomarcadores na doença inflamatória intestinal. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) – Instituto de Ciência Biomédicas Abel Salazar. Universidade do Porto, Porto, 2013; 53 p.
16. YAMAMOTO T, et al. Fecal calprotectin and lactoferrin as predictors of relapse in patients with quiescent ulcerative colitis during maintenance therapy. *International Journal of Colorectal Disease*, 2014; 29(4): 485-491.