

# Biomarcadores en enfermedad inflamatoria intestinal: pruebas de laboratorio, marcadores biológicos serológicos y fecales

**Autores** Beatriz Pernaleté 

**Afiliación** Gastroenteróloga, Internista. Coordinadora de la Consulta de Diarreas crónicas, Hospital "Dr. Domingo Luciani", Caracas. Venezuela. Correo electrónico: [beatrizpernalete@gmail.com](mailto:beatrizpernalete@gmail.com) ORCID: [0000-0002-8062-0677](https://orcid.org/0000-0002-8062-0677)

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2018; 72(4):97-102.

© Sociedad Venezolana de Gastroenterología. Caracas, Venezuela- ISSN 2477-975X.

**Fecha de recepción:** 03-11-2018

**Fecha de revisión:** 24-11-2018

**Fecha de Aprobación:** 12-12-2018

## Resumen

La enfermedad inflamatoria intestinal comprende la Enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa caracterizadas por inflamación idiopática crónica del tracto gastrointestinal, con períodos alternantes de actividad inflamatoria y remisión que hace necesario el empleo de marcadores de evolución de la enfermedad para aplicar a cada paciente, de forma precoz, la estrategia terapéutica más adecuada. La combinación de datos clínicos y paraclínicos ayudan a alcanzar este objetivo. Dado que los índices clínicos descritos hasta ahora son subjetivos con poca relación entre los síntomas y las lesiones intestinales, se han desarrollado biomarcadores que permitan el monitoreo de la mucosa para lograr la remisión clínica y la curación de la mucosa, que es la meta actual para conseguir remisión clínica sostenida, disminución de las hospitalizaciones, cirugías y la incidencia de cáncer de colon. La endoscopia es considerada el método más fidedigno para evaluar la curación mucosa, pero es un procedimiento invasivo y costoso. Es por ello que se han desarrollado marcadores serológicos y fecales para chequear la inflamación intestinal para así sustituir el procedimiento. De los primeros, los más empleados son la proteína C reactiva y la velocidad de sedimentación globular. Entre los fecales destacan la calprotectina, lactoferrina, elastasa de los polimorfonucleares y la lisozima, productos derivados todos ellos de la degradación leucocitaria. De ellos, el más estudiado y que pareciera tener coincidencia fidedigna con los hallazgos endoscópicos y la predicción de recaídas es la calprotectina fecal, que además cumple con muchos de los requisitos para ser un buen marcador.

**Palabras clave:** Colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal, biomarcadores.

## BIOMARKERS IN INTESTINAL INFLAMMATORY DISEASE: LABORATORY TESTS, SEROLOGICAL AND FECAL BIOLOGICAL MARKERS

### Summary

Inflammatory bowel disease includes Crohn's disease and ulcerative colitis characterized by chronic idiopathic inflammation of the gastrointestinal tract, with alternating periods of inflammatory activity and remission that makes necessary to use markers of disease evolution to be applied to each patient, in order to use precocious, the most appropriate therapeutic strategy. The combination of clinical and paraclinical data helps achieve this goal. Given that the clinical indexes described so far are subjective with little relationship between symptoms and intestinal lesions, biomarkers have been developed that allow monitoring of the mucosa to achieve clinical remission and mucosal healing, which is the current goal for achieve sustained clinical remission, decrease in hospitalizations, surgeries and the incidence of colon cancer. Endoscopy is considered the most reliable method to evaluate mucosal healing, but it is an invasive and expensive procedure. For this reason, serological and fecal markers have been developed to check intestinal inflammation to replace the procedure. Of the former, the most commonly used are C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. Fecals include calprotectin, lactoferrin, polymorphonuclear elastase and lysozyme, all products derived from leukocyte degradation. Of these, the most studied and that seems to have a reliable coincidence with the endoscopic findings and the prediction of relapse is fecal calprotectin, which also meets many of the requirements to be a good marker.

**Key words:** Ulcerative colitis, Crohn's disease, intestinal inflammatory disease, biomarkers.

Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) comprende básicamente a la Enfermedad de Crohn (EC) y la Colitis Ulcerosa (CU) caracterizadas por la inflamación idiopática del tracto gastrointestinal. El curso crónico de la enfermedad, con períodos alternantes de actividad inflamatoria y remisión hace necesario el empleo de una serie de marcadores de evolución de la enfermedad con el objetivo de aplicar a cada paciente, de forma precoz, la estrategia terapéutica más adecuada. La combinación de datos clínicos, biológicos, radiológicos endoscópicos e histológicos ayudará a alcanzar este objetivo.

Los marcadores de laboratorio han sido investigados en EII con el objetivo de establecer la actividad de la enfermedad, dado que los índices clínicos son subjetivos y hay poca relación entre los síntomas y las lesiones intestinales. Actualmente los objetivos terapéuticos son más ambiciosos y no solo se persigue el control de los síntomas, sino también la curación mucosa, que se ha asociado a remisión clínica sostenida, disminución de las hospitalizaciones, las cirugías y la incidencia de cáncer de colon. Para optimizar el devenir de estos pacientes, se requiere el monitoreo frecuente que evalúe la actividad de la enfermedad y la eficacia del tratamiento. La endoscopia es considerada el método más fidedigno para evaluar la inflamación y la curación mucosa, pero es un procedimiento invasivo, costoso, que requiere preparación del intestino, el entrenamiento del operador y no está exento de complicaciones. Es por ello que se requieren marcadores que puedan chequear la inflamación intestinal para así sustituir el procedimiento.<sup>1</sup>

Los marcadores biológicos pueden ser serológicos o fecales. De los primeros, los más empleados son la proteína C reactiva (PCR) y la velocidad de sedimentación globular (VSG). Menos usados: el fibrinógeno, plaquetas, leucocitos y citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6). Entre los marcadores fecales destacan la calprotectina, lactoferrina, la elastasa de los polimorfonucleares (PMN) y la lisozima, productos derivados todos ellos de la degradación leucocitaria.

En la EII, detonantes aún no identificados, estimulan las células del sistema inmune de la lámina propia de la mucosa intestinal (polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y células endoteliales) (Figura 1) lo que conduce a la producción de citoquinas inflamatorias inductoras de la síntesis de proteínas o reactantes de fase aguda, reflejo de la inflamación subyacente.<sup>2</sup> La fase aguda se caracteriza por un incremento de la elaboración de proteínas involucradas en la coagulación y fibrinólisis, tales como fibrinógeno, plasminógeno, factor VIII y protrombina: componentes del sistema de complemento inhibidores de proteinasas, y una variedad de proteínas como la PCR, ferritina, fibronectina. Otras, como la albúmina, transferrina,  $\alpha$ 2 macroglobulina y factor XII disminuyen en respuesta a la fase aguda.

Los componentes celulares sanguíneos pueden también indicar inflamación, mostrando elevación de la cuenta de glóbulos blancos y recuento plaquetario.<sup>3</sup> La VSG es una

medida indirecta de inflamación por aumento de la viscosidad del plasma por la elaboración de proteínas de fase aguda. Ella también se ve afectada por el hematocrito en la anemia y la policitemia y en condiciones fisiológicas como el envejecimiento y el embarazo, reduciendo su exactitud y especificidad en EII.<sup>4</sup> Pocos han sido los marcadores séricos extensamente validados en EII.

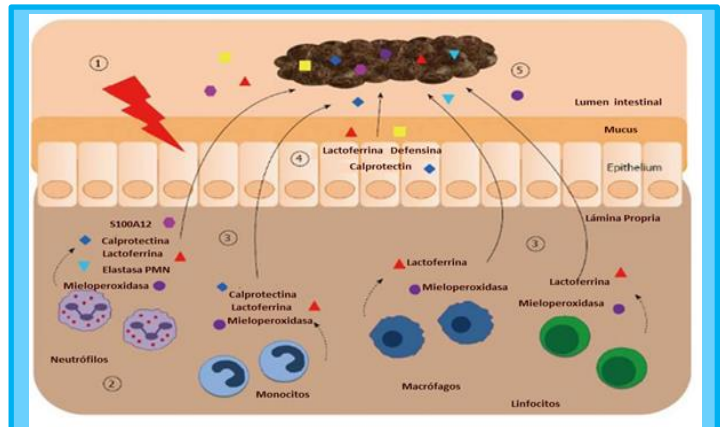


Figura 1. Detonantes de Enfermedad Inflamatoria Intestinal

- 1 Disparadores no identificados lesionan el epitelio y activan el sistema inmune
- 2 La respuesta inmune atrae a la mucosa células del S. inmune innato (granulocitos, monocitos, macrófagos) y del S. adaptativo (células T) que secretan mediadores de inflamación o liberan gránulos de proteínas. Los gránulos de los neutrófilos (lactoferrina, elastasa, mieloperoxidasa) tienen propiedades antimicrobiales. Del citosol se libera la Calprotectina y S100A12
- 3 En estadios tempranos de la inflamación, estas proteínas pasan de la mucosa al lumen intestinal.
- 4 Algunos pasan al epitelio y al moco (incluyendo defensas).
- 5 En contacto directo con la mucosa intestinal, las heces contienen esas proteínas específicas de la mucosa enferma. La detección de estos marcadores indica la presencia y grado de inflamación intestinal.

Fuente: World J Gastroenterol. Jan 14, 2014; 20(2): 363-375<sup>25</sup>

Marcadores serológicos: proteína c reactiva y velocidad de sedimentación globular

PCR y VSG son los más usados. El primero tiene una corta vida media de ~ 19 horas. Las pruebas tienen una sensibilidad y punto de corte (cut-off) desde 0.8mg/L los más sensibles, hasta 5 mg/L los estándar. En la típica fase aguda, los hepatocitos producen PCR en respuesta a citoquinas inflamatorias. Más recientemente ha sido reconocido que también se expresa en los adipocitos mesentéricos de los pacientes con EC.<sup>5</sup> que usualmente tienen niveles más altos que los portadores de CU. En los pacientes con CU severa, la PCR elevada se ha asociado con mayores probabilidades de colectomía.<sup>6</sup> quizás reflejando la extensión transmural de la inflamación que usualmente está confinada sólo a la mucosa.<sup>7</sup> Determinantes genéticos de expresión de PCR también son complejos y hasta el 25% de los pacientes con actividad de EC demostrada por endoscopia no expresan PCR a niveles mayores que lo normal.<sup>8</sup> Esto también se ha relacionado con la localización ileal de la enfermedad, una resección intestinal previa y con el patrón estenosante<sup>9</sup> Diferentes estudios han

evaluado el papel de la PCR para el diagnóstico global de la EII, comunicando una sensibilidad y especificidad superior al 80%, siendo mayor para EC que para CU. Sin embargo, el carácter inespecífico de este parámetro hace que en la práctica clínica sea difícil extrapolar esos resultados<sup>10</sup> Su uso en el seguimiento parece presentar buena correlación con los cambios en el grado de actividad endoscópica e histológica<sup>11,12</sup> aunque existen estudios contradictorios al respecto de la EC.<sup>13</sup> No se ha demostrado el valor predictivo de la PCR para la aparición de recidivas de forma contundente, pero si es útil en el seguimiento del tratamiento pues cuando descienden sus valores es buen marcador del efecto beneficioso del mismo sobre la inflamación intestinal.<sup>2,8,14</sup> De la misma forma, una elevación persistente de la PCR indicaría que el tratamiento no está controlando el proceso inflamatorio.<sup>8</sup>

Ante un brote grave de CU tratada con corticoides endovenosos o ciclosporina, la persistencia de una PCR superior a 45 mg/L a los 3 días de tratamiento predice la necesidad de colectomía.<sup>15</sup> En cuanto a la terapia biológica en la EII, se ha reportado que la PCR elevada (>5mg/L) se asocia a una mayor respuesta al infliximab y ocurre una situación similar con otros biológicos.<sup>16,17</sup>

### pANCA- ASCA

Al mismo tiempo, la activación de la inmunidad humoral sería la responsable de la producción de anticuerpos como los anticitoplasma de neutrófilos de patrón perinuclear (pANCA) y anti-*Saccharomyces cerevisiae* de tipo IgA o IgG (ASCA).<sup>18</sup> Ellos son considerados biomarcadores para indicar la presencia de la enfermedad, aunque resultados falso positivos o falso negativos no son infrecuentes, por lo que no deben ser usados para el diagnóstico de EII o para excluirla. Los pacientes con pANCA se asocian a CU, mientras los que exhiben ASCA a EC.<sup>19</sup> Sin embargo, no son infalibles.

La determinación conjunta de pANCA y ASCA posee mayor utilidad para diferenciar la CU de la EC entre los pacientes con colitis indeterminada, que cuando se detectan de forma independiente.

La combinación de pANCA + y ASCA - tienen mayor posibilidad de padecer CU (64%), mientras que ASCA+/pANCA- mayor probabilidad que sea EC (80%).<sup>20</sup> Los pacientes con EC que tienen ASCA altamente positivo pueden estar en riesgo de desarrollar un patrón de enfermedad más agresivo, fundamentalmente fibroestenotante o fistulizante, de necesitar cirugía precoz y asociarse a afectación predominantemente de intestino delgado, incluso del tracto gastroduodenal. Sin embargo, estos marcadores no parecen predecir la respuesta al tratamiento médico o quirúrgico.<sup>21</sup>

Una variante de EC que lesiona particularmente el colon puede tener pANCA positivo lo que puede complicar el diagnóstico. La respuesta sérica al anticuerpo anti flagelina (CBir1) asociado a la presencia de EII, se ha señalado que puede ayudar a diferenciar esta positividad de la prueba de CU

Vs EC-similar a CU. El CBir1 puede ser un marcador de EC complicada con fístulas o perforaciones

Los pacientes con CU que son sometidos a una proctocolectomía con anastomosis ileoanal y reservorio ileal tienen mayor riesgo de desarrollar reservoritis cuando tienen títulos positivos de pANCA.<sup>22</sup> Tanto pANCA como ASCA se han detectado en un alto porcentaje de familiares sanos en primer grado de pacientes con EII, lo que podría ser un marcador subclínico de enfermedad o indicadores de una predisposición genética de sufrir EII.<sup>23</sup>

Otras pruebas de laboratorio que son de utilidad:

### Pruebas hematológicas

El recuento de células sanguíneas puede ser un indicador útil de actividad de la enfermedad y de deficiencias de hierro y vitaminas. Una cuenta de glóbulos blancos elevados es común en pacientes con enfermedad activa y no necesariamente indica infección.

La anemia es común y puede ser por enfermedad crónica (con volumen corpuscular medio [VCM] normal), o por deficiencia de hierro (VCM bajo). La anemia puede ser causada por pérdidas agudas o crónicas de sangre, malabsorción de hierro, folatos y vitamina B12. El VCM puede estar elevado en pacientes que consumen azatioprina o 6-mercaptopurina. Las plaquetas pueden estar en rango normal o elevadas, como marcador de inflamación aguda.

### Evaluación nutricional

Deficiencia de Vitamina B12: puede ocurrir en pacientes con EC con lesión extensa de íleon terminal o cuando han sido sometidos a su resección. El suplemento de la vitamina debe ser suministrado parenteral pues vía oral usualmente es insuficiente.

Metabolismo de Hierro: se debe realizar al momento del diagnóstico, dado que por las pérdidas gastrointestinales es una deficiencia común. Anemia microcítica hipocrómica lo sugiere. Si se confirma con el hierro sérico/capacidad total de unión del hierro (Total iron -binding capacity [TIBC]) se debe reponer el hierro, ya sea vía oral o parenteral. La indicación parenteral se sugiere cuando la Hemoglobina es < 10 gr/dL.<sup>24</sup>

Deficiencia de folato: no es común. En pacientes que reciben sulfasalazina, que inhibe la folato-reductasa que inhibe la captación de folato se asocia suplemento de esta vitamina.<sup>24</sup>

El estatus nutricional debe ser monitorizado con la albúmina sérica, prealbúmina y niveles de transferrina. Es de hacer notar que esta última es un reactante de fase aguda, por lo que puede estar falsamente elevado en personas con EII activa. La hipoalbuminemia puede reflejar malnutrición ya sea por escasa ingesta o por enteropatía perdedora de proteínas en pacientes con enfermedad en crisis.

Hay que chequear pruebas de funcionalismo hepático/biliar que se asocian a pacientes con CU. También dado que algunos

medicamentos suministrados para control de la enfermedad pueden elevar sus valores, por lo que deben ser monitorizados de manera regular.

## Marcadores fecales

El contenido fecal está en contacto cercano con la mucosa intestinal, y puede entonces contener moléculas que sirvan como marcadores de inflamación intestinal. Hay muchos estudios en relación a ello. De todos, la calprotectina es el más ampliamente usado para evaluar la actividad de la EII. Esta es una proteína unida a calcio que pertenece a la familia de las S100, que inhibe metaloproteinasas y tiene actividades antimicrobiales y pro-apoptóticas. Está presente en neutrófilos, monocitos/macrófagos y células epiteliales potenciales y es el componente del 60% del citosol de los neutrófilos. Tiene muchas ventajas clínicas como son su estabilidad a temperatura ambiente, resistencia a la degradación y distribución homogénea en las heces, todo lo cual es prerequisite para ser un buen biomarcador.<sup>25</sup>

La calprotectina inducida por el estímulo de monocitos y macrófagos, actuando a través de un receptor Toll-like-4 activa el factor nuclear  $\kappa$ B y otros factores de transcripción incrementando la producción de metaloproteinasas y de citoquinas proinflamatorias, además de la formación de células T formadoras de interleukina 17. Esto puede sugerir que la calprotectina pudiera contribuir a la activación de la inmunidad innata y estar involucrada en la fisiopatología de la EII.<sup>1</sup>

Una de las limitaciones de la calprotectina fecal es su variabilidad ante factores como el consumo de antiinflamatorios no esteroideos o inhibidores de bomba de protones, la edad, dieta, y actividad física.<sup>26</sup> Su capacidad diagnóstica para discriminar enfermedades orgánicas de funcionales (por ejemplo S. intestino irritable) parece ser mayor que la de PCR o VSG. A pesar de ser un marcador muy sensible de la presencia de inflamación intestinal, no es específico para identificar la causa de ello (EII, cáncer de colon, pólipos de gran tamaño) ni de diferenciar entre CU y EC. Es de hacer notar que hay patologías orgánicas que tampoco incrementan la calprotectina, como la diverticulosis colónica, los pólipos y la enfermedad celíaca, ésta último dado a que en ella predomina la presencia de linfocitos y no de neutrófilos (puede incrementar el valor pero muy discretamente).

En la población pediátrica, para distinguir entre EII y no EII, la calprotectina ha mostrado alta sensibilidad (99%, Intervalo de confianza: 95%) pero con moderada especificidad (44-93%) cuando se utilizó un cut-off de 50 $\mu$ g/g. Cuando se usó 100  $\mu$ g/g, la sensibilidad cayó a 94% pero la especificidad incrementó a 82%.<sup>27</sup>

Para diferenciar entre EII y S. de intestino irritable en adultos, se reportó una sensibilidad de 93% (rango 83-100%) con especificidad de 94% (60-100%) usando un cut-off de 50 $\mu$ g/g,<sup>28</sup> Se consideran niveles normales los inferiores a 50 $\mu$ g/g,<sup>29,30</sup> aunque otros autores consideran como normal los inferiores a 100  $\mu$ g/g.<sup>31</sup>

Henderson et al<sup>32</sup>, clasificaron en un estudio realizado con población pediátrica, los siguientes niveles de corte para la calprotectina fecal:

Normal  $\leq$  50  $\mu$ g/g

Posible inflamación: 51-100  $\mu$ g/g

Inflamación: 101-200  $\mu$ g/g

Inflamación activa:  $\geq$  200  $\mu$ g/g,

Encontrando que el cut-off de 200  $\mu$ g/g el más útil para probable diagnóstico de EII.<sup>32</sup>

En pacientes con CU, se encontró una correlación clara entre los niveles de calprotectina fecal con la actividad clínica y endoscópica de la enfermedad, no así en pacientes con EC, en quienes hubo una débil correlación, aunque se reporta incremento de los valores. Las diferencias pudieran ser explicadas, en parte, por los hallazgos característicos en EC, incluyendo lo focal de la enfermedad y las lesiones profundas en la pared intestinal. Esto lleva a un nivel impredecible de liberación de calprotectina por la mucosa y posiblemente poca correlación entre ella y la actividad de la enfermedad. Actualmente, el uso de calprotectina fecal para estimar actividad en EC es controversial.<sup>33,34,35,36</sup>

A pesar que se ha confirmado reiteradamente la concordancia entre niveles elevados de calprotectina fecal e inflamación colónica, no ha ocurrido lo mismo con el intestino delgado, donde no ha quedado bien establecida.

Los niveles de calprotectina fecal son marcadores fiables para establecer la actividad de la enfermedad, siendo más útiles para CU que para EC.<sup>1</sup> Aun habiéndose demostrado en numerosos trabajos que la calprotectina fecal se correlaciona con la actividad endoscópica de la enfermedad, el que la normalización de sus niveles reflejen curación mucosa en EII, que es una de las metas importantes del tratamiento, sigue siendo un tópico de debate, necesitando futuras investigaciones que evalúen la actividad de la enfermedad, que incluyan la histología además de la endoscopia.

Múltiples estudios retrospectivos han mostrado que los pacientes que recaen tienen niveles mucho mayores de calprotectina fecal en comparación a quienes se mantienen en remisión, especialmente en CU. La elevación de calprotectina posterior a una cirugía en pacientes con EC también se asocia a la misma causa. Sin embargo, la asociación de elevación de calprotectina fecal y recaída no ocurre siempre y puede ser explicado por los diferentes patrones de la inflamación de la mucosa, razón por la cual se ha propuesto recientemente la hipótesis que incremento en sus valores puede ser más predictivo de recaída que sus valores absolutos.<sup>37</sup>

En relación a la cuantificación de la calprotectina fecal posterior a la aplicación de tratamiento con Infliximab (IFX) se ha reportado que después de la inducción puede ser utilizado como marcador para medir la eficacia del tratamiento, así como para predecir su respuesta a medicamento y la curación de la mucosa<sup>38</sup> la correlación con el sub score endoscópico de Mayo para predecir la remisión<sup>39,40</sup>, y con los síntomas clínicos en CU pero menos con EC, aunque otros autores han



encontrado correlación con la severidad clínica y endoscópica.<sup>41</sup>

Además, la calprotectina fecal se correlacionó con el recuento de leucocitos, plaquetas, albúmina, PCR y VSG en pacientes con CU en EC con recuento plaquetario, albúmina sérica, PCR y VSG.

La calprotectina fecal utilizada por el médico general con pacientes adultos (consulta de atención primaria) ayudaría a disminuir la referencia de jóvenes a médicos especialistas para realización de estudios invasivos por tener síntomas de intestino irritable. El médico de consulta especializada podría, usando la calprotectina fecal como herramienta, evitar exploraciones invasivas por síntomas de intestino irritable y para hacer el seguimiento de la EII, la evolución con los medicamentos indicados, monitorear la curación mucosa y predecir las recaídas. En la consulta pediátrica igualmente utilizando este examen se evitarían colonoscopias, ayudaría a reducir el tiempo para planificar una exploración y adelantar el diagnóstico de EII y retrasar su tratamiento.

## Conclusiones

No hay ningún marcador único que confirme el Diagnóstico de EII. Los marcadores existentes (PCR, Calprotectina), solo reflejan inflamación y no son exclusivos para EII. Tienen pobre habilidad para discriminar entre CU y EC. Valor Predictivo negativo: 71 a 91%. Valores altos implican realizar otras exploraciones: Acorta tiempo de Diagnóstico de EII. La combinación de marcadores clínicos y no clínicos es lo adecuado.

La calprotectina fecal es mejor indicador de enfermedad intestinal que los biomarcadores sanguíneos. Ayuda –sólo o en combinación- a discriminar entre enfermedad orgánica del intestino y funcional. El Cut-off utilizado es de 50 µg/g de heces. Los valores normales pueden ser suficiente para descartar EII. Cuenta con un valor predictivo negativo: 71-91%, valores elevados implican realizar otras exploraciones, e igualmente acorta período de Diagnóstico de EII.

## Clasificación

ÁREA: gastroenterología.

TIPO: revisión.

TEMA: Biomarcadores, enfermedad inflamatoria intestinal.

PATROCINIO: este trabajo no ha sido patrocinado por ningún ente gubernamental o privado.

## Referencias

1. Fukinaga Shuhei, Kuwaki Kotaro, Mitsuyama Keiichi et al. Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization. *International J of Molecular Medicine* 2018; 41:107-118.
2. Gisbert JP, González-Lama Y, Maté J. Role of biological markers in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol* 2007;30 (3):117—129
3. Cioffi M, Rosa AD, Serao R et al. Laboratory markers in ulcerative colitis: current insights and future advances. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2015; 6:13-22
4. Mendoza JL, Abreu MT. Biological markers in inflammatory bowel disease: Practical considerations for clinicians. *Gastroenterologie Clinique et Biologique* 2009;33: S158-S173.
5. Peyrin-Biroulet L, Gonzalez F, Dubuquoy L et al. Mesenteric fat as a source of C reactive protein and as a target for bacterial translocation in Crohn's disease. *Gut* 2012;61: 78-85
6. Travis SP, Farrant JM, Ricketts C et al. Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut* 1996; 38:905-910
7. Danik JS, Ridker PM. Genetic determinants of C reactive protein. *Curr Atheroscler Rep* 2007; 9: 195-203.
8. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 661-665.
9. Florin TH, Paterson EW, Fowler EV et al. Clinically active Crohn's disease in the presence of a low C-reactive protein. *Scand J Gastroenterol* 2006;41: 306-11
10. Shine B, Berghouse L, Jones JE, Landon J. C-reactive protein as an aid in the differentiation of functional and inflammatory bowel disorders. *Clin Chim Acta* 1985; 148:105-9
11. Moran A, Jones A, Asquith P. Laboratory markers of colonoscopic activity in ulcerative colitis and Crohn's colitis. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30:356-60)
12. Solem CA, Loftus Jr EV, Tremaine J et al. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11:707-12
13. López Morante AJ, Sáez-Royuela F, Yuguero del Moral L et al. The usefulness of reactive protein C in managing patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Rev Es Enferm Dig* 1993; 83:5-9.
14. González-Lama Y, Vera I, Calvo M, et al. Markers of the course of inflammatory bowel disease treated with immunomodulators or biological agents. *Gastroenterol Hepatol* 2010;33(6):449-60.
15. Travis Sp, Farrant JM, Ricketts C et al. Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut* 1996;38: 905-10
16. Louis E, Vermeire S, Rutgeerts P et al. A positive response to infliximab in Crohn's disease: association with a higher systemic inflammation before treatment but not with -308TNF gene polymorphism. *Scand J Gastroenterol* 202; 37:808-24

17. Schreiber S, Rutgeers . Fedorak RN et al. A randomized placebo-controlled trial of certolizumab pegol (CDP870) for treatment of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005; 129: 807-18
18. García Herola A, Nos P, Ponce García K. Anticuerpos frente al citoplasma de los neutrófilos (ANCA) en la enfermedad inflamatoria crónica intestinal. *Gastroenterol Hepatol* 2000; 23:16-23)
19. Gisbert JP, Gomollón F, Maté J et al. Papel de los anticuerpos anti-citoplasma de los neutrófilos (ANCA) y anti-Saccaromyces cerevisiae (ASCA) en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol* 2003;26:312-324)
20. Sandborn WJ, Loftus Jr EV, Colombel JF et al. Evaluation of serologic disease markers in a population-based cohort of patient with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7:192-201
21. Amre DK, Lu SE, Costea F et al. Utility of serological markers in predicting the early occurrence of complications and surgery in pediatric Crohn's disease patients. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:645-52.
22. Fleshner PR, Vasiliauskas EA, Kam LY et al. High level perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (pANCA) in ulcerative colitis patients before colectomy predicts the development of chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Gut* 2001; 49:671-7.
23. Olives JP, Breton A, Hugot JP et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in children with inflammatory bowel disease: Prevalence and diagnostic value. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 1997; 25:142-8
24. Rowe WA. EMedicine.Medscape.com. Inflammatory Bowel Disease. Update oct 18, 2017.
25. Däbritz Jan, Musci, J, Foell D. Diagnostic utility of faecal biomarkers in patients with irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*. Jan 14, 2014; 20(2): 363-375
26. Poullis A, Foster R, Mendall MA et al. Proton pump inhibitors are associated with elevation of faecal calprotectin and may affect specificity. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15: 573-4.
27. Waugh N, Cummins E, Royle P et al. Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: systematic review and economic evaluation. *Health technology Assessment*. 2013; (55): 1-212
28. Waugh N, Cummins E, Royle P et al. Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: systematic review and economic evaluation. *Health technology Assessment*. 2013; (55): 1-212
29. Poullis A, Foster R, Northfield TC et al. Review article: Faecal markers in the assessment of activity in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:675-81
30. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E et al. Assessment of the netrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:793-8
31. Cossta F, Mumolo MG, Vellini M et al. Role of faecal calprotectin as non- invasive marker of intestinal inflammation. *Dig Liver Dis* 2003;35:642-7.
32. Henderson P, Casey A, Lawrence SJ, Kennedy NA et al. The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory disease. *Am J Gastroenterol* 2012; 107:941-9
33. Ricanek P, Brackmann S, Perminow G, et al. IBSEN II Study Group: Evaluation of disease activity in IBD at the time of diagnosis by use of clinical, biochemical, and fecal markers. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1081-1091.
34. Jones J, Loftus EV Jr, Panaccione R et al. Relationships between disease activity and serum and fecal biomarkers in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 1218-1224.
35. Lin JF, Chen JM, Zuo JH et al. Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 1407-1415.
36. SipponenT, Kärkkäinen P, Salviolahti E et al. Correlation of fecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 1221-1229
37. Chew TS, Mansfield JC. Can faecal calprotectin predict relapse in inflammatory bowel disease: a mini review. *Frontline Gastroenterol*. 2018;9(1):23-28.
38. Elham A. Hassan, Haidi K. Ramadan, Ali A. Ismael, et al. Noninvasive biomarkers as surrogate predictors of clinical and endoscopic remission after infliximab induction in patients with refractory ulcerative colitis. *Saudi J Gastroenterol*. 2017 Jul-Aug; 23(4): 238–245
39. D'Haens G, Ferrante M, Vermeire S et al.. Faecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012; 18:2218–24.
40. Zittan E, Kelly OB, Kirsch R, Milgrom R, Burns J, Nguyen GC, et al. Low Fecal Calprotectin Correlates with Histological Remission and Mucosal Healing in Ulcerative Colitis and Colonic Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2016; 22:623–30
41. Tursi A, Elisei W, Giorgetti G, Picchio M, Brandimarte G. Rapid fecal calprotectin correlates with clinical and endoscopic severity of inflammatory bowel diseases. *Scand J Gastroenterol*. 2013; 48:1359–60