

Universitatea de Medicină și Farmacie

”Carol Davila” București

Școala Doctorala

Domeniul Medicina

”Disfuncția endotelială în
bolile inflamatorii intestinale”

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

Academician Profesor Doctor Dragoș Vinereanu

Student-doctorand:

Ana Maria Negreanu (Filimon)

2022

CUPRINS

I. PARTEA GENERALĂ

1. Bolile inflamatorii intestinale

1.1 Epidemiologie

1.2 Patogeneza

2. Disfuncția endotelială (DE)

2.1 Definiție

2.2 Mecanisme

2.3 Particularitățile disfuncției endoteliale în bolile inflamatorii intestinale

2.4 Cuantificarea/măsurarea/ evaluarea DE

3. Riscul cardiovascular al pacienților cu BII

4. Monitorizarea pacientului cu boala Crohn

5. Monitorizarea pacientului cu colita ulcerativă

II. PARTEA SPECIALĂ

1. Introducere, ipoteze de lucru, obiective

2. Materiale și metode

3. Rezultate în detaliu și Discuții

4. Contribuții personale

5. Concluzii

Bibliografie

Lista articole științifice

1. **Filimon AM**, Negreanu L, Doca M, Ciobanu A, Preda CM, Vinereanu D. Cardiovascular involvement in inflammatory bowel disease: Dangerous liaisons **World J Gastroenterol** 2015 21(33): 9688-9692 ISI 3,477
<https://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v21/i33/9688.htm> I cap 1,2,3
2. Goran L, State M, **Negreanu A M**, Negreanu L. Pursuing therapeutic success in Crohn's disease: A matter of definition, tools and longterm outcomes **European Journal of Inflammation** 2020 Oct;18: 1–10. IF 0,26
<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/2058739220962896> I cap 1,2,3
3. **Negreanu AM**, Badiu S, Panaitescu E, Ionita M, Negreanu L .Echo Intima-Media Thickness (IMT) in the Evaluation of Early Atherosclerosis in Inflammatory Bowel Disease (IBD) Patients – a Prospective Study **Modern Medicine** 2021; 28 (3),281-290 SCOPUS, EBSCO, DOAJ, CiteFactor, Scipio of UEFISCDI, and INDEX COPERNICUS <https://medicinamoderna.ro/early-atherosclerosis-and-acute-vascular-events-in-ulcerative-colitis-patients-a-case-series/> partea II
4. **Negreanu AM**, Stemate A, Spataru T, Negreanu L. Early Atherosclerosis and acute vascular events in ulcerative colitis patients – a case series. **Modern Medicine** 2022; 29 (2),123-127 SCOPUS, EBSCO, DOAJ, CiteFactor, Scipio of UEFISCDI, and INDEX COPERNICUS <https://medicinamoderna.ro/echo-intima-media-thickness-imt-in-the-evaluation-of-early-atherosclerosis-in-inflammatory-bowel-disease-ibd-patients-a-prospective-study/> partea II
5. Goran L, State M, **Negreanu AM**, Negreanu L. Quality of Care in Inflammatory Bowel Disease: the Role of Steroid Assessment Tool (SAT)-a Review **Modern Medicine** 2020 27 (3), 172 SCOPUS, EBSCO, DOAJ, CiteFactor, Scipio of UEFISCDI, and INDEX COPERNICUS <https://medicinamoderna.ro/quality-of-care-in-inflammatory-bowel-disease-the-role-of-steroid-assessment-tool-sat-a-review/> partea II
6. Goran L, Negreanu L, **Negreanu AM** Role of new endoscopic techniques in inflammatory bowel disease management: Has the change come? **World J Gastroenterol.** 2017 Jun 28;23(24):4324-4329. doi: 10.3748/wjg.v23.i24.4324. IF 3,455

<https://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v23/i24/4324.htm> I cap 4,5

7. Goran L, **Negreanu AM**, Stemate A, Negreanu L Capsule endoscopy: Current status and role in Crohn's disease. **World J Gastrointest Endosc.** 2018 Sep 16;10(9):184-192 Thomson Reuters master journal list Emerging Sources Citation Index

<https://www.wjgnet.com/1948-5190/full/v10/i9/184.htm> I cap 4,5

Introducere si obiective

Bolile inflamatorii intestinale continuă să rămână o provocare pentru clinician având o incidentă în creștere, patogeneza incomplet elucidată și fiind pentru moment lipsite de un tratament etiologic.

Ateroscleroza accelerată și un risc cardiovascular crescut au fost ferm dovedite în unele boli autoimune din reumatologie existând ipoteza că și bolile inflamatorii intestinale generează probabil fenomene inflamatorii și aterosclerotice similare.

În ultima decadă au fost dovedite corelații semnificative între bolile inflamatorii intestinale (BII) și evenimente cardiovasculare ischemice și tromboembolice, sugerând că aceste ”legături periculoase” generează un surplus de morbiditate și mortalitate în rândul populației afectate (1). Pacienții cu inflamație intestinală cronică, de tipul colitei ulcerative (CU) sau bolii Crohn (BC), par a avea un risc semnificativ mai mare de infarct miocardic acut, accident vascular cerebral sau moarte subită, în special în perioadele de activitate a bolii, riscul fiind mai mare în rândul femeilor și al tinerilor (1).

După modele din cardiologie (ținte terapeutice precise în hipertensiunea arterială) paradigma tratamentului în bolile inflamatorii intestinale s-a schimbat și acum se dorește o țintă terapeutică clară (a fost aleasă vindecarea mucoasei). Practic, terapia trebuie ajustată și monitorizată activ, folosind toate metodele disponibile (biologice și imagistice), pentru a se obține vindecarea mucoasei. Este dovedit că atingerea acestui deziderat ameliorează supraviețuirea, scade recursul la spitalizări și intervenții chirurgicale și implicit complicațiile digestive și sistemice. Am putea presupune că tratamentul eficient al celor două entități clinico-histologice (CU și BC) poate reduce și riscul cardiovascular al pacienților. Cu toate acestea dovezile sunt contradictorii și este evident că nu toate terapiile vor avea un efect protector cardiovascular. Terapia cu aminosalicilați, spre deosebire de cea cu corticosteroizi și azatioprină, a dovedit rezultate satisfăcătoare în scăderea riscului cardiovascular în unele studii.

Terapia biologică, cu agenți anti-TNF-alfa, extrem de activi contra inflamației cronice, promovând vindecarea mucoasei intestinale, a adus rezultate contradictorii în ceea ce privește efectele preventive vasculare. Pe de o parte, antagoniștii de TNF-alfa reduc riscul de cardiopatie ischemică, dar pe de alta parte par să crească rata evenimentelor cerebrovasculare (1).

Aceasta teză de doctorat reprezintă cercetarea personală a unui lot de pacienți cu boli inflamatorii intestinale investigați prospectiv folosind unul din cei mai simpli indicatori ai riscului cardiovascular: indicele ecografic al grosimii intima-medie la nivel carotidian; am realizat comparații cu un lot martor și am încercat folosind instrumente statistice complexe ca să găsesc principalele corelații între parametrii clinici, biologici sau de tratament care odată prezenți ar putea conduce la apariția ateromatozei precoce.

Teza este structurată conform modelului clasic în două secțiuni: în partea generală au fost prezentate și discutate date de epidemiologie, patogeneză, monitorizare activă a pacienților din perspectivă generală dar cu un interes particular asupra riscului cardiovascular. Un capitol extensiv este dedicat disfuncției endoteliale din inflamația intestinală și sunt analizate cele mai noi studii și meta analize pe această temă pentru a putea genera un cadru gnoseologic corect pentru cercetarea personală. Rezultatele cercetării personale au fost publicate ca abstracte și ulterior în extenso în reviste ISI cu FI și respectiv reviste BDI și prezentate la congrese de gastroenterologie, medicină internă și cardiologie.

Măsurarea ecografică a indicelui intima medie carotidiană este o metoda consacrată pentru determinarea aterosclerozei precoce, mai ales la pacienții care au boli autoimune. Am considerat ateromatoză precoce dacă valoarea IMT este peste 1,2 mm; dacă există placă se considera ateromatoză evidentă, dar a fost determinat și IMT într-o zonă fără placă.

Am încercat să obținem un profil demografic al pacienților cu boli intestinale inflamatorii și care prezintă un **IMT peste 1,2 mm (ateromatoză precoce)** și /sau placă de aterom (ateromatoză evidentă). Acest profil va fi determinat în funcție de tipul bolii dar și de terapie respectiv, tratament biologic sau convențional de vechimea bolii și de orice alți factori ce se vor dovedi statistic semnificativi. Ca obiective secundare ne-am propus să determinăm diferențe înregistrate între loturile pacienților cu boli inflamatorii intestinale cărora li s-a administrat un tratament biologic sau tratament convențional în funcție de tipologia bolilor inflamatorii intestinale, a tratamentului administrat și prezenței ateromatozei. În plus în cazul pacienților cu boli intestinale inflamatorii, s-a dorit identificarea variabilelor predictor, care ar

putea influența apariția procesului de ateromatoză, atât în funcție de tipologia bolilor inflamatorii, cât și în funcție de tratamentul administrat. Pentru a valida datele a fost folosită comparația cu lotul martor de subiecți sănătoși (fără boala inflamatorie intestinală).

Diagnostic, definiții, criterii

Diagnosticul de boală inflamatorie intestinală a fost stabilit în concordanță cu ghidurile în vigoare, pe baza datelor clinice, biologice, imagistice și histologice. Vechimea bolii a fost de minimum 12 luni. Criteriile de includere pentru pacienții cu boală inflamatorie intestinală au fost, vârsta de peste 18 ani și acordul consimțământului de a face parte din cercetare și existența unei evaluări ultrasonografice a arterelor carotide. Criteriile de excludere au fost sarcina și alăptarea, istoricul de boală cardiovasculară, hipertensiunea arterială ($>140/90$ mm Hg), afectarea hepatică și renală preexistentă, imposibilitatea tehnică a efectuării/evaluării ecografice a arterelor carotide. Prezența unor manifestări reumatologice-considerate manifestări extra intestinale ale bolilor inflamatorii intestinale, a fost acceptată, dar au fost excluși subiecții care aveau criterii pentru boli reumatologice dis-imunitare. De asemenea, au fost excluși pacienții cu factori de risc tradiționali: obezitate ($BMI > 28$), diabet, hipertensiune arterială însă nu au fost excluși fumătorii și dislipidemicii.

Evaluarea clinică

Datele demografice, prezența co-morbidităților și a factorilor de risc și medicația curentă au fost evaluate la momentul vizitei. A fost măsurată tensiunea arterială și s-a efectuat EKG-uri. Au fost notate vechimea bolii inflamatorii intestinale, istoricul de intervenții chirurgicale pentru boala inflamatorie, medicația actuală și anterioară. Extensia bolii inflamatorii a fost evaluată după clasificarea de la Montreal pentru pacienții cu boala Crohn și după extensia leziunilor la pacienții cu colită ulcerativă (rectită, proctosigmoidită, colită stângă, pancolită) (6). Activitatea bolii a fost evaluată folosind scorurile întâlnite în examenul de rutină în clinică, respectiv CDAI pentru boala Crohn respectiv Mayo pentru colita ulcerativă (6). Activitatea endoscopică a fost codificată folosind scorul Mayo endoscopic pentru colita ulcerativă, respectiv SES CD pentru boala Crohn, fiind acceptată o evaluare făcută în ultimele trei luni(6).

Evaluarea antropometrică

Subiecții au fost cântăriți, măsurați și s-a înregistrat IMC-ul. Statusul nutrițional a fost reținut în funcție de scala propusă de Organizația Mondială a Sănătății (7).

Evaluarea biologică

Toți pacienții cu boli inflamatorii au fost evaluați conform recomandărilor consemnate în studiul CALM, și conform unui algoritm aplicat de rutină în clinică, în sensul unei evaluări periodice la 3-6 luni, prospectiv (6). În mod particular, a fost evaluată glicemia, **proteina C reactivă (CRP in tabel)**, colesterolul (HDL și LDL), trigliceridele, fierul și feritina serice, precum și nivelul seric de albumină și testele de coagulare.

Ecografia carotidiană

A fost realizat un examen Doppler în camera dedicată de ecografie, cu subiecții în clinostatism, cu o ușoară hiper-extensie a gâtului, fiind posibilă examinarea a ambelor artere carotide. Carotida comună dreaptă a fost vizualizată în multiple planuri longitudinale, proximal de bulb, pentru a obține cea mai bună rezoluție pentru CIMA-acesta fiind măsurătoarea luată în calcul. CIMA a fost definită ca distanța între marginea intimei către lumen și marginea externă a adventiceii; măsurătoarea s-a efectuat la sfârșitul diastolei, la 1 cm proximal de bifurcație. Toate examinările au fost realizate de un medic cu experiență în ecografie vasculară, autorul acestei lucrări (AN), folosind un ecograf General Electric Vivid E90 și o sondă lineară de 7 Mhz. Medicul care efectuat ecografiile a primit și examinat subiecții fără a ști statutul acestora, respectiv dacă prezintă boală inflamatorie.

În funcție de valorile înregistrate, măsurătorile CIMA au fost grupate, după cum urmează folosind definițiile din studiul METEOR al lui Crouse și echipei(8):

- Normal- CIMA < 0.9mm;
- Îngroșare moderată CIMA- 0.9-1.2 mm;
- Ateroscleroză sub-clinică CIMA- >1.2 mm.

Considerații etice

Cercetarea a fost aprobată de Comisia locală de Etică a SUUB cu nr. **48527/22.08.2019**. Toți subiecții au semnat un consimțământ după ce au fost informați extensiv asupra obiectivelor studiului.

Metode statistice

Pe baza altor studii privind ateromatoza subclinică din artrita reumatoidă și ateroscleroza asociată cu infecția HIV-SIDA, am considerat că o populație de studiu de 70 de pacienți va genera date semnificative statistic(1,2,3). Consideram ca unul din punctele forte ale cercetării este analiza statistica a datelor extrem de detaliata si aplicata.

Au fost făcute comparații între lotul de pacienți martori și pacienții cu IBD, precum și în interiorul populației IBD, din motive exploratorii. Testul *t student*, testul *Mann Whitney U* și testul ANOVA au fost utilizate pentru compararea variabilelor continue. Testul exact al lui Fisher și testul *chi-pătrat* au fost efectuate pentru compararea proporțiilor. Datele sunt prezentate ca medie $\pm$ deviație standard și mediană și quartilă 1-25% și quartilă 3-75%. Pentru a identifica factorii asociați prezenței plăcii aterosclerotice, precum și relația dintre aceștia și caracteristicile pacientului sau legate de boală, s-au efectuat analize de regresie logistică multivariată și multiple de regresie liniară. Modelele de regresie construite au fost ajustate în funcție de vârstă, INR, CRP, fier, trigliceride, niveluri de colesterol, IMC și durata bolii. O valoare $p < 0,05$ a fost considerată semnificativă. Analizele statistice și calculul mării eșantionului au fost efectuate folosind INSERT PROGRAM. IBM SPSS versiunea 20.0 pentru Windows (IBM Corp., Armonk NY, SUA).

Rezultate

Am evaluat 61 de pacienți cu boală inflamatorie intestinală și 19 pacienți martor, cadre medicale, fără boli inflamatorii cunoscute. În rândul pacienților cu boală inflamatorie intestinală am constituit două loturi, respectiv pacienții care primesc terapie convențională (mesalazină, azatioprină, metotrexat) și pacienții care primesc terapie biologică (cel mai adesea blocanți ai TNF alfa sau noile molecule).

În **tabelul 1** se poate observa ca între lotul control și lotul de tratament biologic nu există diferențe statistice semnificative; în lotul cu tratament convențional vârsta medie este semnificativ mai mare-de regulă tratamentul convențional este preferat la pacienții cu forme ușoare de boală și la pacienții vârstnici având posibile efecte secundare mai mici.

În opinia noastră acest lucru este în concordanță cu un anumit tipar de administrare al terapiei în bolile inflamatorii. Acest tipar, deși foarte frecvent răspândit, nu este însă neapărat valid în toate cazurile (sunt forme severe de boală la pacienții vârstnici și ghidurile actuale arată eficiența net mai bună a terapiilor biologice sau a moleculelor „mici” orale la acești

pacienți) dar care confirmă omogenitatea lotului în acord cu preferințele actuale asupra modului de administrare a tratamentului. Din această cauză scorul Mayo endoscopic și recursul la chirurgie sunt semnificativ mai mari în lotul cu tratament biologic. Severitatea scorului Mayo la pacienții cu colită ulcerativă este mai mică în lotul cu tratament convențional fără a atinge semnificația statistică (boli mai ușoară care nu au criterii de includere în tratament biologic). Nu există alte diferențe statistice semnificative între loturi.

Tabel 1

	Trat=Biologic (N=41)	Trat=Convențional (N=20)	Control (N=19)	p_value (comparare grupuri)
vârsta	40.00 [31.00, 48.00]	49.50 [37.75, 56.00]	37.00 [29.00, 49.00]	0.064197 (Kruskal-Wallis)
sex				0.528054 (Pearson Chi-Square)
F	11/41 (26.8%)	8/20 (40.0%)	7/19 (36.8%)	
M	30/41 (73.2%)	12/20 (60.0%)	12/19 (63.2%)	
boala			-	0.655969 (Pearson Chi-Square)
CD	25/41 (61.0%)	11/20 (55.0%)		
CU	16/41 (39.0%)	9/20 (45.0%)		
chirurgie=1	16/41 (39.0%)	3/20 (15.0%)	-	0.057164 (Pearson Chi-Square)
steroidi=1	16/41 (39.0%)	7/20 (35.0%)	-	0.760785 (Pearson Chi-Square)
CRP mg/dL	1.74 [0.30, 7.84]	1.01 [0.17, 3.77]	-	0.418558 (Mann- Whitney)
Hb	13.20 [12.00, 14.70]	13.75 [12.87, 14.82]	-	0.142104 (Mann- Whitney)
INR	1.03 [1.02, 1.21]	1.03 [1.00, 1.11]	-	0.412658 (Mann- Whitney)
Col	171.63±49.3187	167.26±31.8919	191.79±43.5387	0.178615 (ANOVA)

TG	92.00 [66.00, 134.50]	92.50 [70.75, 135.50]	77.00 [63.00, 155.00]	0.980198 (Kruskal-Wallis)
Feritina	71.00 [24.78, 124.50]	67.30 [50.40, 125.25]	-	0.574552 (Mann-Whitney)
Fier	51.00 [27.00, 78.50]	63.00 [42.00, 93.50]	-	0.128164 (Mann-Whitney)
CDAI	155.0 [116.5, 197.0]	142.0 [132.0, 231.0]	-	0.877138 (Mann-Whitney)
Mayo	5.00 [3.00, 8.00]	3.00 [3.00, 4.00]	-	0.087769 (Mann-Whitney)
SESCD	5.00 [3.00, 8.00]	3.00 [2.00, 5.00]	-	0.133396 (Mann-Whitney)
Mayo E	2.00 [1.25, 3.00]	1.00 [1.00, 1.50]	-	0.004877 (Mann-Whitney)
BMI	23.10 [21.80, 25.05]	23.90 [22.02, 25.25]	-	0.470057 (Mann-Whitney)
fumat=1	11/41 (26.8%)	4/20 (20.0%)	7/19 (36.8%)	0.495289 (Pearson Chi-Square)
durata	5.00 [3.00, 7.00]	5.00 [2.25, 9.75]	-	0.564158 (Mann-Whitney)
eco IMT	0.78 [0.71, 0.88]	0.84 [0.74, 0.89]	0.78 [0.72, 0.81]	0.557390 (Kruskal-Wallis)
Placa=1	7/41 (17.1%)	3/20 (15.0%)	4/19 (21.1%)	0.881000 (Likelihood Ratio)

Legenda: Datele sunt sintetizate astfel:

- Cele calitative (catoriale) – de tip sex, boala, chirurgie (0/1), steroizi (0/1), fumat (0/1), placa (0/1) – sub forma de procente
- Cele cantitative – sub formă de medie±SD (in cazul testelor care cer date normal distribuite) sau mediana [prima quartile -25%, a treia cuartilla 75%] (in cazul alternativ când datele nu au fost normal distribuite).

In privința prezentei plăcii de aterom vârsta este un predictor independent așa cum se poate observa in **tabelul 2**. In plus valoarea CRP și prezența anemiei-factori de severitate a bolii sau indicatori ai unui puseu de activitate in momentul examinării se apropie de semnificația statistică. Valoarea INR este semnificativ mai mare in lotul cu tratament convențional deși nu există pacienți anticoagulați și se corelează cu prezența plăcii de aterom. Evident că IMT a fost mai mare la pacienții cu placă de aterom.

Tabel 2

	Placa=0 (N=66) N=51	Placa=1 (N=14) N=10	p_value (comparare grupuri)	p_value, (regresie logistica) OR (95% CI)
vârsta	40.00 [31.00, 47.50]	63.50 [41.50, 69.25]	0.000263 (Mann-Whitney)	0.000153, 1.11 (1.05, 1.18)
sex			0.365808 (Fisher's Exact Test)	0.365760
F	20/66 (30.3%)	6/14 (42.9%)		
M	46/66 (69.7%)	8/14 (57.1%)		
boala			1.000000 (Fisher's Exact Test)	0.944859
CD	30/51 (58.8%)	6/10 (60.0%)		
CU	21/51 (41.2%)	4/10 (40.0%)		
Tratament			0.881000 (Likelihood Ratio)	
Biologic (1)	34/66 (51.5%)	7/14 (50.0%)		0.837429
Conventional(ref)	17/66 (25.8%)	3/14 (21.4%)		0.879710
Control (2)	14/66 (22.7%)	4/14 (28.6%)		0.623877
Tratament (Bio+Conv)	51/66 (77.3%)	10/14 (71.4%)	0.731371 (Fisher's Exact Test)	0.641555

chirurgie=1	15/51 (29.4%)	4/10 (40.0%)	0.710104 (Fisher's Exact Test)	0.510910
steroidi=1	19/51 (37.3%)	4/10 (40.0%)	1.000000 (Fisher's Exact Test)	0.869951
CRP mg/dL	1.74 [0.30, 4.80]	0.71 [0.25, 36.36]	0.791967 (Mann-Whitney)	0.054007
Hb	13.70 [12.30, 14.70]	12.55 [10.47, 14.15]	0.123602 (Mann-Whitney)	0.051756
INR	1.03 [1.02, 1.10]	1.53 [1.15, 1.84]	0.000468 (Mann-Whitney)	0.000653, 645.6 (15.64, 26654.6)
Col	175.76±42.8604	173.77±55.6898	0.884860 (Independent Sample T Test)	0.883034
TG	89.50 [62.50, 133.00]	125.00 [85.00, 152.00]	0.190590 (Mann-Whitney)	0.296510
Feritina	67.60 [40.30, 119.50]	72.15 [16.15, 228.20]	1.000000 (Mann-Whitney)	0.454232
Fier	56.00 [37.00, 80.00]	61.50 [23.00, 90.00]	0.937872 (Mann-Whitney)	0.993760
CDAI	142.0 [119.7, 192.0]	153.5 [128.2, 327.0]	0.432111 (Mann-Whitney)	0.272206
Mayo	4.00 [3.00, 7.00]	3.00 [2.00, 7.75]	0.343543 (Mann-Whitney)	0.567755

SESCD	4.50 [2.75, 6.25]	3.00 [2.50, 7.75]	0.762658 (Mann-Whitney)	0.752814
Mayo E	2.00 [1.00, 3.00]	1.00 [1.00, 1250]	0.410275 (Mann-Whitney)	0.471055
BMI	23.10 [22.10, 24.50]	24.60 [20.45, 26.22]	0.755172 (Mann-Whitney)	0.864750
fumat=1	16/66 (24.2%)	6/14 (42.9%)	0.191878 (Fisher's Exact Test)	0.163785
durata	5.00 [3.00, 7.00]	5.00 [2.75, 11.00]	0.637040 (Mann-Whitney)	0.348296
eco IMT	0.76 [0.71, 0.81]	1.05 [0.92, 1.10]	0.000000 (Mann-Whitney)	0.000166, 2.480×10^{10} (96370, 6.383×10^{15})

Semnificația în regresia logistică indică faptul că este predictor pentru apariția plăcii:

vârsta ($p_value=0.000153$), INR ($p_value=0.000653$) și eco IMT ($p_value=0.000166$),

CRP mg/dL și Hb sunt apropiate de limita de semnificație, restul nesemnificative.

Pentru a obține un model (1), în regresia multivariată au fost introduse toate variabilele obținute semnificative sau apropiate de limita de semnificație (vezi tabelul) “Variables not included in the model”) în regresia univariată, metoda folosită fiind stepwise.

Rămân semnificative statistic doar eco IMT ($p_value=0.0024$) ca predictor în apariția plăcii și pentru creșterea cu o unitate a variabilei eco IMT (riscul de obținere a rezultatului (apariția plăcii) crește de 3.23×10^{12} ori (OR), $95\%CI=[26900.1714, 387.7313 \times 10^{18}]$

Modelul de regresie logistică obținut explică doar în procent de 48.61% (Cox & Snell R^2) până la 82.34% (Nagelkerke R^2). În plus programul raportează și curba ROC construită pentru predictor, aria fiind de 0.980 cu $95\%CI=[0.907, 0.999]$.

Pentru a obține un alt model (2), în regresia multivariată au fost introduse toate variabilele obținute semnificative sau apropiate de limita de semnificație mai puțin eco IMT (vezi tabelul “Variables not included in the model”) în regresia univariată, metodă folosită este stepwise. Folosind acest model răman semnificative statistic vârsta ($p_value=0.0261$) și INR ($p_value=0.0239$) ca predictorii în apariția plăcii și pentru creșterea cu o unitate a variabilei vârsta (riscul de obținere a rezultatului (apariția plăcii) crește de 1.27 ori (OR), $95\%CI=[1.02, 1.58]$ iar pentru creșterea cu o unitate a variabilei INR (riscul de obținere a rezultatului (apariția plăcii) crește de 212×10^3 ori (OR), $95\%CI=[5.07, 8.82 \times 10^9]$). Modelul de regresie logistică obținut explică doar în procent de 46.60% (Cox & Snell R^2) până la 78.95% (Nagelkerke R^2). În plus programul raportează și curba ROC construită pentru predictor, aria fiind de 0.973 cu $95\%CI=[0.895, 0.998]$.

În **tabelul 3** se poate observa că există un IMT crescut care se corelează cu vârsta, CRP (inflamație) și cu tendință spre semnificație statistică pentru durata crescută a bolii inflamatorii și cu severitatea endoscopică (reflectată de scorul Mayo). Rezultatele sunt previzibile și pot duce la concluzia că o boală inflamatorie intestinală severă cu durata lungă de timp poate conduce la un proces accelerat de ateroscleroză.

Tabel 3 Regresie liniară simplă și multiplă pt eco IMT:

Toate datele (Risk variables)	Coefficient correlation	Regression Coefficient β (95%CI)	p_value (regresie liniară SIMPLA)
vârsta	0.6567	0.006059 (0.004490 to 0.007627)	0.000000
CRP mg/dL	0.2748	0.001494 (0.0001321 to 0.002855)	0.032104
Hb	-0.1945	-0.01556 (-0.03601 to 0.004882)	0.133071
INR	0.5636	0.2895 (0.1789 to 0.4000)	0.000002
Col	-0.04778	-0.0001315 (-0.0007555 to 0.0004924)	0.675819
TG	0.1319	0.0002090 (-0.0001498 to 0.0005678)	0.249682
Feritina	-0.009019	-0.00001183 (-0.0004924 to 0.0004687)	0.960269
Fier	-0.09695	-0.0003405 (-0.001251 to 0.0005701)	0.457313
CDAI	0.1686	0.0002763 (-0.0002868 to 0.0008394)	0.325763
Mayo	-0.2464	-0.01416 (-0.03819 to 0.009870)	0.235183

SESCD	0.03309	0.001540 (-0.01467 to 0.01775)	0.848053
Mayo E	-0.3431	-0.05230 (-0.1141 to 0.009459)	0.093130
BMI	0.1041	0.004803 (-0.007152 to 0.01676)	0.424692
durata	0.2206	0.008343 (-0.001267 to 0.01795)	0.087576

Legenda: Semnificația în regresia liniară indică faptul că sunt predictorii pentru ecoIMT crescut:

vârsta (p_value=0.000000), CRP mg/dL (p_value=0.032104) și INR (p_value=0.000002),

Mayo E și durata bolii sunt apropiate de limita de semnificație iar restul parametrilor nesemnificativi.

Pentru a obține un model, în regresia multivariată au fost introduse variabilele **vârsta**, **INR**, CRP(mg/dL), Hb, Col, TG, Fier, BMI, durata iar metoda folosită este stepwise.

Rămân semnificative statistic doar vârsta (p_value=<0.0001) și INR-ul (p_value=0.0006) ca predictorii pentru ecoIMT:

- pentru creșterea cu o unitate a variabilei vârstă, ecoIMT crește în medie de 0.005264 ori în condițiile în care INR rămâne constant
- pentru creșterea cu o unitate a variabilei INR, ecoIMT crește în medie de 0.2016 ori în condițiile în care vârsta rămâne constantă

Modelul de regresie liniară obținut explică doar în procent de 51.73% (R^2 -adjusted) datele observate. Aceste concluzii sunt clare în lotul de tratament biologic; pentru tratamentul convențional doar vârsta INR are corelație statistică cu IMT crescut.

Tabel 4

Trat Biologic (Risk variables)	Coefficient correlation	Regression Coefficient β (95%CI)	p_value (regresie liniară SIMPLA)
vârsta	0.6176	0.006357 (0.003735 to 0.008979)	0.000017
CRP mg/dL	0.3783	0.001695 (0.0003516 to 0.003039)	0.014742

Hb	-0.3163	-0.02267 (-0.04470 to -0.0006463)	0.043947
INR	0.5184	0.2778 (0.1294 to 0.4263)	0.000516
Col	-0.1548	-0.0004186 (-0.001284 to 0.0004466)	0.333791
TG	0.0153	0.00002702 -0.0005447 to 0.0005987)	0.924329
Feritina	-0.3048	-0.0003973 -0.0009935 to 0.0001988)	0.179118
Fier	-0.2223	-0.0007869 (-0.001905 to 0.0003311)	0.162473
CDAI	0.2422	0.0003634 (-0.0002643 to 0.0009912)	0.243260
Mayo	0.0010	0.00005000 (-0.02869 to 0.02879)	0.997075
SESCD	0.0324	0.001417 (-0.01745 to 0.02028)	0.877911
Mayo E	-0.1115	-0.01731 (-0.1057 to 0.07109)	0.680944
BMI	0.0897	0.003671 (-0.009533 to 0.01687)	0.577093
durata	0.0997	0.004204 (-0.009386 to 0.01779)	0.535160

Tabel 5

Trat Conventional (Risk variables)	Coefficient correlation	Regresion Coefficient β (95%CI)	p_value (regresie liniara SIMPLA)
vârsta	0.8394	0.007436 (0.005051 to 0.009820)	0.000004
CRP mg/dL	-0.0284	-0.0005036 (-0.009283 to 0.008276)	0.905403
Hb	0.0408	0.004875 (-0.05425 to 0.06400)	0.864397
INR	0.6614	0.3134 (0.1374 to 0.4894)	0.001494
Col	-0.1557	-0.0006476 (-0.002750 to 0.001454)	0.524321
TG	0.0200	0.00005199 (-0.001326 to 0.001430)	0.937234
Feritina	0.4238	0.0005655 (-0.0002860 to 0.001417)	0.169750
Fier	0.0747	0.0002668 (-0.001496 to 0.002030)	0.754171
CDAI	-0.1644	-0.0003912 (-0.002161 to 0.001379)	0.629038
Mayo	-0.5251	-0.04274 (-0.1046 to 0.01916)	0.146565

SESCD	-0.1432	-0.01204 (-0.07478 to 0.05070)	0.674412
Mayo E	-0.3674	-0.08538 (-0.2785 to 0.1078)	0.330647
BMI	0.1497	0.009465 (-0.02149 to 0.04042)	0.528640
durata	0.3827	0.01233 (-0.002409 to 0.02707)	0.095817

In lotul martor se reflectă factorii tradiționali de risc pentru ateromatoza respectiv dislipidemia și vârsta.

Tabel 6

Control	Coefficient correlation	Regresion Coefficient β (95%CI)	p_value (regresie liniara SIMPLA)
varsta	0.3060	0.002491 (-0.001475 to 0.006457)	0.202705
Col	0.6397	0.001286 (0.0004952 to 0.002076)	0.003180
TG	0.5885	0.0005285 (0.0001570 to 0.0009000)	0.008029

Pentru a obține un model, in regresia multi- variată au fost introduse variabilele vârsta, INR, CRPmgdL, Hb, Col, TG, Fier, BMI, durata iar metoda folosită este step-wise, indiferent de lotul pe care s-a lucrat. Interpretările pentru modelele obținute in cazul tratamentului biologic sau celui convențional sunt similare cu cele de la lotul total.

Discuții

In bolile inflamatorii intestinale a fost introdusă o nouă dogmă de abordare: au fost stabilite ținte terapeutice (ținta actuală fiind vindecarea mucoasei) si a fost recomandat un mod de monitorizare activ (in locul celui clasic reactiv) cu controale la 3-6 luni si efectuare de *biomarkeri* (CRP si calprotectina) cu ajustarea permanenta a terapiei. Această abordare permite decelarea unor forme sub-clinice de boală si poate „prezice” din timp o recădere. Astfel terapia poate fi ajustată in sensul creșterii dozelor, asocierilor medicamentoase sau scăderii intervalului la care se administrează tratamentul. Se poate permite astfel si o limitare a efectelor adverse ale tratamentului (inerente riscuri infecțioase sau de neoplazii) prin scăderea dozelor sau oprirea tratamentului in cazul unei remisiuni profunde a bolii. In plus există dovezi că un tratament eficient administrat devreme in evoluția bolii (in primii doi ani de activitate) previne distrucția intestinală, spitalizările si recursul la chirurgie si poate schimba istoria naturală a

bolii. Se considera ca aceasta abordare ar putea schimba prognosticul si istoria naturală a bolii mai ales aplicata devreme in cursul evoluției pacientului.

Când am decis efectuarea acestui studiu existau suficiente dovezi privind un număr mai mare de evenimente embolice la pacienții cu boli inflamatorii mai ales in perioada de activitate- in puseele de acutizare, când boala nu era controlată sau in perioadele de spitalizare.

Pe lângă factorii de risc clasici, inflamația poate sa joace un rol in progresia aterosclerozei. Disfuncția endotelială este mediata de citokine pro inflamatorii(TNF alfa, IL 1, IL6 etc) dar si de un nivel crescut al CRP care este implicată in supra expresia moleculelor de adeziune si ruptura plăcii de aterom (2). Afectarea histologica la nivel intestinal cu leziuni vasculare, micro-infarctizari, arterita focală și depozite de fibrina asociate cu inflamația granulomatoasă sau limfocitară a dus la ipoteza unor leziuni endoteliale vasculare la nivelul micro vascularizației intestinale și sistemice. Este foarte greu de evaluat dacă aceste leziuni sunt la originea inflamației inițiale intestinale sau mai degrabă un rezultat al acesteia. In mod cert contribuie la o perfuzie vasculară scăzută și o reparație deficitară la nivelul tubului intestinal (4). Un argument in favoarea rolului patogenetic ale acestei inflamații endoteliale și micro vasculare este rolul terapeutic al heparinei cu greutate mică, a cărei utilizare a adus beneficii in termen de prognostic și supraviețuire dincolo de rolul ei anticoagulant și de profilaxie a trombozelor.

In acest studiu am evaluat o serie de pacienți tineri cu boli inflamatorii severe, unii cu tratament clasic și alții cu tratament biologic. Pentru a evalua ateroscleroza timpurie, am folosit ecografia *Doppler* cu măsurarea indicelui intima medie(eco-IMT), un marker cu o valoare predictivă ridicată pentru ateroscleroza subclinică [8,9]. Am decis sa folosim o metodă simpla si consacrată-eco IMT, pentru a decela ateromatoza precoce in dorința de a vedea dacă există o incidentă crescută a leziunilor endoteliale si ce ar putea sa influențeze acest lucru cu ideea ca am putea propune o abordare pro-activa de tip „*treat to target*” care sa fie extinsă si la prevenția cardiovasculară. Eco-IMT pentru artera carotidă comună este una dintre cele mai frecvent utilizate și cele mai bine validate metode de măsurare ale stadiului incipient ale bolii vasculare aterosclerotice și a fost studiată pe larg la mai multe categorii de pacienți cu risc crescut (diabet, insuficiență renală, diferite afecțiuni inflamatorii cum ar fi artrita reumatoidă, psoriazis sau boli infecțioase precum infecția HIV-SIDA) [10]. In mod firesc apariția plăcii de aterom carotidiană este mai puternic asociată cu boala coronariană și este un predictor mai bun al evenimentelor cardiovasculare în comparație cu grosimea intima-media carotidă [11].

În studiul nostru nu am reușit să validăm ipoteza că indicele eco IMT este semnificativ mai mare la pacienții cu boala inflamatorie intestinală. Deși valorile Eco IMT nu au fost semnificativ statistic mai mari la pacienții cu IBD decât la lotul de control, am reușit însă să identificăm și să validăm mai mulți parametri care influențează riscul de ateromatoză timpurie[12,13]. Nu am găsit diferențe între pacienții cu boala Crohn și cei cu colită ulcerativă în ceea ce privește valorile eco-IMT. Tipul de tratament convențional sau biologic nu a avut nici un impact asupra valorilor eco IMT[12,13]. În unele studii, tratamentul biologic a avut un efect „protector” în ceea ce privește procesul aterosclerotic, cu valori eco-IMT mai mici în lotul de IBD tratat cu biologic; studiul nostru a inclus pacienți în remisiune și nu am efectuat măsurători seriate în mod prospectiv și pentru suficient de mult timp pentru a observa un astfel de efect protector [3] dar un efect benefic al tratamentului poate fi speculat în grupul nostru de pacienți tratați cu terapie biologică, deoarece valorile IMT ale acestora sunt comparabile cu cele ale grupului de control și în general preferăm o abordare personalizată cu terapie biologică cât mai precoce în evoluție fapt ce poate schimba „devenirea” pacienților. Vârsta a fost un predictor independent al creșterii eco IMT în grupul nostru de studiu.

În grupul IBD, severitatea bolii și durata acesteia au fost predictorii ai unei eco-IMT crescute. Am constatat că activitatea bolii (măsurată prin scorul endoscopic în grupul pacienților cu colită ulcerativă și prin valorile crescute ale CRP în ambele grupuri) se corelează cu eco-IMT mai mare lucru dovedit și în alte studii [12,13]. De asemenea, prezența anemiei a atins semnificație statistică și a fost corelată cu creșterea eco-IMT în grupul de tratament biologic (ceea ce poate să denote un subgrup de pacienți cu răspuns insuficient la terapia biologică care mențin un grad de activitate a bolii)[12,13].

Am fost surprinși de rezultate, deoarece ne așteptam la o diferență semnificativă a valorilor eco IMT între grupul IBD și grupul control. În literatură există rezultate similare: într-un studiu de tip caz de control care a înrolat 23 de pacienți cu IBD și 20 de voluntari sănătoși, valorile medii ale eco IMT nu au fost diferite în mod semnificativ statistic între pacienți și lotul martor (3). Într-un alt studiu cu o populație mai mică decât a noastră respectiv 52 de pacienți cu IBD comparativ cu 20 de pacienți martor, rezultatele au arătat valori statistice semnificativ mai mari ale eco-IMT în grupul IBD și în principal la pacienții cu UC și o corelație a eco IMT cu vârsta pacienților și nivelurile de homocisteină [14] rezultate care par să fie și în lotul nostru aproape de semnificația statistică[12,13]. Credem că, deși numărul pacienților este comparabil, durata bolii a fost de cel puțin 7 ani la acest lot de

bolnavi și au avut un acces mult mai limitat la terapia biologică față de o mediană de 5 ani în grupul nostru și cu abordare de step-up accelerat și acces rapid la terapia biologică.

Creșterea eco IMT a fost în mod natural corelată cu prezența plăcii aterosclerotice la pacienții noștri. De asemenea, numai vârsta și creșterea INR au fost factori semnificativi statistic pentru prezența plăcii aterosclerotice [12,13]. Vârsta crescută se corelează în mod natural cu ateromatoza, dar nu am avut nicio explicație definitivă pentru creșterea INR corelată cu valori crescute ale eco-IMT. Inflamația activă poate schimba echilibrul hemostatic pentru a favoriza activarea coagulării care, la rândul său, poate promova și susține inflamația creând un cerc vicios între inflamația cronică și tromboza [15]. O afecțiune pro-trombotică poate rezulta din scăderea factorilor naturali anticoagulanți în IBD activă, deși datele sunt contradictorii [15,16]. Probabil că există o interacțiune complexă între endoteliu, cascada de coagulare și fibrinoliză, activitatea trombocitelor și inflamație [15,16]. Corelația semnificativă a creșterii eco-IMT cu valorile crescute ale INR găsite în studiul nostru s-ar putea explica parțial prin aceste interacțiuni complexe dar dorim să investigăm suplimentar această ipoteză într-un studiu viitor.

Ca o concluzie generală boala care nu a fost controlată terapeutic (markeri de activitate endoscopici, clinici și biologici ridicați) a fost corelată cu valori crescute ale eco-IMTului. Putem presupune că un control terapeutic mai bun al bolii ar putea duce la scăderea riscului cardiovascular, dar sunt necesare studii suplimentare epidemiologice și de cohorte pentru a susține această concluzie.

Rezultatele noastre nu au confirmat definitiv că pacienții cu IBD prezintă un risc mai mare de a dezvolta ateromatoza carotidiană precoce și, în consecință, un risc mai mare de boli cardiovasculare în comparație cu grupul de control însă au arătat modificări endoteliale la pacienții cu boala necontrolată terapeutic. Mai mulți factori care reflectă un control slab al bolii au fost corelați cu creșterea eco-IMT și putem specula că nu am ajuns la semnificație statistică, deoarece pacienții noștri cu IBD au fost tratați timpuriu și rapid. Alte limitări sunt date de dimensiunea redusă a eșantionului și proiectarea secțiunii transversale și includerea pacienților care au fost „controlați” de terapia biologică, cu indici de activitate a bolii destul de mici (pacienți în remisie) și cu o durată de boală destul de scurtă în majoritate de cazuri incluse [12,13]. Credem că sunt necesare studii prospective și longitudinale, în special pentru a clarifica impactul inflamației intestinale active asupra dezvoltării bolilor cardiovasculare și de asemenea, impactul pe termen lung al terapiei biologice asupra aterosclerozei și a riscului

cardiovascular. Evaluarea IMT ului ar putea servi ca un instrument util în prezicerea riscului cardiovascular și ajustarea terapiei la pacienții cu IBD, deși datele privind efectul terapiei sunt contradictorii [17,18].

În noua dogma de abordare în care ne dorim modificarea cursului bolii [7,17,18] ar putea fi pusă în aplicare o strategie care vizează și scăderea riscului cardiovascular folosind eco IMT. Astfel tratamentul biologic poate fi ajustat la pacienții cu eco IMT crescut sau se poate adăuga terapie cu statine sau alte medicamente care să scadă riscul de ateromatoză sistemică și implicit mortalitatea cardiovasculară.

1. Sitia S, Tomasoni L, Atzeni F, Ambrosio G, Cordiano C, Catapano A, et al. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmun Rev.* 2010 Oct;9(12):830-4. doi: 10.1016/j.autrev.2010.07.016. Epub 2010 Jul 30. PMID: 20678595
2. Daza L, Aguirre M, Jimenez M, Herrera R, Bollain JJ. Common carotid intima-media thickness and von Willebrand factor serum levels in rheumatoid arthritis female patients without cardiovascular risk factors. *Clin Rheumatol.* 2007 Apr;26(4):533-7. doi: 10.1007/s10067-006-0338-7. Epub 2006 Jun 7. PMID: 16758372
3. Bruzzese V, Palermo G, Ridola L, Lorenzetti R, Hassan C, Izzo A, Zullo A. Preclinical atherosclerosis in patients with inflammatory bowel diseases: a case-control study. *Ann Transl Med.* 2017 Apr;5(7):158. doi: 10.21037/atm.2017.03.68. PMID: 2848019
4. Principi M, Mastrodonato M, Scicchitano P, Gesualdo M, Sassara M, Guida P, et al. Endothelial function and cardiovascular risk in active inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis.* 2013 Nov;7(10):e427-33. doi: 10.1016/j.crohns.2013.02.001. Epub 2013 Mar 7. PMID: 23473915
5. Cappello M, Licata A, Calvaruso V, Bravatà I, Aiello A, Torres D, et al. Increased expression of markers of early atherosclerosis in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Intern Med.* 2017 Jan;37:83-89. doi: 10.1016/j.ejim.2016.10.004. Epub 2016 Oct 21. PMID: 27773555
6. Colombel JF, Panaccione R, Bossuyt P, Lukas M, Baert F, Vaňásek T, Danalioglu A, Novacek G, Armuzzi A, Hébuterne X, Travis S, Danese S, Reinisch W, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Hommes D, Schreiber S, Neimark E, Huang B, Zhou Q, Mendez P, Petersson J, Wallace K, Robinson AM, Thakkar RB, D'Haens G.

- Effect of tight control management on Crohn's disease (CALM): a multicentre, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2018 Dec 23;390(10114):2779-2789. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32641-7. Epub 2017 Oct 31. Erratum in: *Lancet*. 2018 Dec 23;390(10114):2768. PMID: 29096949.
7. Nuttall FQ. Body Mass Index: Obesity, BMI, and Health: A Critical Review. *Nutr Today*. 2015 May;50(3):117-128. doi: 10.1097/NT.0000000000000092. Epub 2015 Apr 7. PMID: 27340299; PMCID: PMC4890841.
 8. Crouse JR, Raichlen JS, Riley WA, et al Effect of rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in low-risk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR trial. *JAMA* 2007;297:1344-53.
 9. Filimon AM, Negreanu L, Doca M, Ciobanu A, Preda CM, Vinereanu D. Cardiovascular involvement in inflammatory bowel disease: Dangerous liaisons *World J Gastroenterol* 2015 21(33): 9688-9692
 10. Gallino A, Aboyans V, Diehm C; European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation, et al. Non-coronary atherosclerosis. *Eur Heart J*. 2014;35:1112–1119. doi:10.1093/eurheartj/ ehu071
 11. Simon A, Megnien JL, Chironi G. The value of carotid intima-media thickness for predicting cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:182–185. doi:10.1161/ATVBAHA.109.196980
 12. Negreanu AM, Badiu S, Panaitescu E, Ionita M, Negreanu L .Echo Intima-Media Thickness (IMT) in the Evaluation of Early Atherosclerosis in Inflammatory Bowel Disease (IBD) Patients – a Prospective Study *Modern Medicine* 2021; 28 (3),281-290
 13. Negreanu AM, Stemate A, Spataru T, Negreanu L. Early Atherosclerosis and acute vascular events in ulcerative colitis patients – a case series. *Modern Medicine* 2022; 29 (2),123-127
 14. Papa A, Santoliquido A, Danese S, Covino M, Di Campli C, Urgesi R, Grillo A, Guglielmo S, Tondi P, Guidi L, De Vitis I, Fedeli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A.Increased carotid intima-media thickness in patients with inflammatory bowel disease.*Aliment Pharmacol Ther*. 2005 Nov 1;22(9):839-46.
 15. Magro F, Soares JB, Fernandes D. Venous thrombosis and prothrombotic factors in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(17):4857–72.

16. Scaldaferri F, Lancellotti S, Pizzoferrato M, De Cristofaro R. Haemostatic system in inflammatory bowel disease: new players in gut inflammation. *World J Gastroenterol.* 2011;17:594–608.
17. Lowe SC, Sauk JS, Limketkai BN, Kwaan MR. Declining Rates of Surgery for Inflammatory Bowel Disease in the Era of Biologic Therapy. *J Gastrointest Surg.* 2020 Nov 2. doi: 10.1007/s11605-020-04832-y. Online ahead of print.PMID: 33140318
18. Amiot A, Bouguen G, Bonnaud G, Bouhnik Y, Hagege H, Peyrin-Biroulet L; French National Consensus Clinical guidelines for the management of IBD study group. Clinical guidelines for the management of inflammatory bowel disease: Update of a French national consensus. *Dig Liver Dis.* 2021 Jan;53(1):35-43. doi: 10.1016/j.dld.2020.10.018. Epub 2020 Nov 5.PMID: 33160886