

Giá trị lâm sàng của calprotectin trong phân để xác định hoạt động của bệnh viêm loét đại trực tràng chảy máu

Clinical value of fecal calprotectin in the assessment of the disease activity of ulcerative colitis

NGUYỄN THỊ HƯƠNG GIANG¹, LÊ VĂN CƠ¹, NGUYỄN THỊ VÂN HỒNG²

1. Bệnh viện E, 2. Trường Đại học Y Hà Nội

Abstract

Aim: To study the possibility and clinical application of fecal calprotectin in the assessment of the disease activity of ulcerative colitis (UC). **Methods:** The Chemiluminescent Immuno Assay (CLIA) was used to measure the concentrations of calprotectin in feces obtained from 55 patients with UC and 28 controls. C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), acid leucocyte were also measured and were compared with calprotectin in assessment of the disease activity of UC. The disease activity of UC was also determined by the Mayo score. **Results:** The fecal calprotectin concentration in the patients with active UC was significantly higher than that in the inactive UC and in the controls ($869.79 \pm 819.31 \mu\text{g/g}$ vs $81.84 \pm 66.89 \mu\text{g/g}$, $27.76 \pm 21.68 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$). The fecal calprotectin concentration in the inactive UC group was significantly higher than that in the control group ($p < 0.01$). The area under the curve of the receiver operating characteristics (AUCROC) was 0.966 for fecal calprotectin, 0.8 for CRP, 0.768 for ESR and 0.69 for leucocyte, respectively. Faecal calprotectin assays accurately identify active UC (88.2% sensitivity and 82.1% specificity at $50 \mu\text{g/g}$ cut-off). There was a strong correlation between the fecal calprotectin concentration and the disease activity of UC ($r = 0.775$, $p < 0.01$). **Conclusion:** Calprotectin in the patients feces can reflect the disease activity of UC and can be used as a rational fecal marker for UC in clinical practice. This kind of marker is relatively precise, simple and noninvasive when compared with other commonly-used markers such as CRP, ESR and leucocyte.

Keywords: Fecal calprotectin, Ulcerative colitis.

Tóm tắt

Mục tiêu: Để nghiên cứu khả năng và ứng dụng lâm sàng của calprotectin trong phân trong việc xác định hoạt động của bệnh viêm loét đại trực tràng chảy máu (VLĐTTTCM). **Phương pháp:** Sử dụng phương pháp xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang (CLIA) để đo nồng độ calprotectin trong phân từ 55 bệnh nhân VLĐTTTCM và 28 bệnh nhân nhóm chứng. Protein C phản ứng (CRP), tốc độ máu lắng, bạch cầu cũng được định lượng và so sánh với calprotectin trong việc xác định hoạt động bệnh ở bệnh nhân VLĐTTTCM. Hoạt động bệnh của VLĐTTTCM cũng được xác định bởi thang điểm Mayo toàn phần. **Kết quả:** Nồng độ calprotectin trong phân ở những bệnh nhân có VLĐTTTCM hoạt động cao hơn đáng kể so với VLĐTTTCM không hoạt động và ở nhóm chứng ($869,79 \pm 819,31 \mu\text{g/g}$ so với $81,84 \pm 66,89 \mu\text{g/g}$, $27,76 \pm 21,68 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$). Nồng độ calprotectin trong phân ở nhóm VLĐTTTCM không hoạt động cao hơn đáng kể so với

nhóm chứng ($p < 0,01$). Diện tích dưới đường cong (AUC) của calprotectin trong phân là lớn nhất (0,966, $p < 0,001$), sau đó đến CRP (0,8), máu lắng (0,768) và bạch cầu (0,69). Độ nhạy và độ đặc hiệu của calprotectin lần lượt là 88,2% và 82,1% với điểm cắt là 50 $\mu\text{g/g}$ trong xác định tình trạng hoạt động bệnh VLĐTTTCM. Có mối tương quan chặt chẽ giữa nồng độ calprotectin trong phân và hoạt động của bệnh VLĐTTTCM ($r = 0,775$, $p < 0,01$). **Kết luận:** Calprotectin trong phân của bệnh nhân có thể phản ánh hoạt động bệnh của VLĐTTTCM và có thể được sử dụng như một xét nghiệm hữu ích cho bệnh lý VLĐTTTCM trong thực hành lâm sàng. Đây là xét nghiệm tương đối chính xác, đơn giản và không xâm lấn khi so sánh với các xét nghiệm thường được sử dụng khác như CRP, máu lắng và bạch cầu.

Từ khóa: Calprotectin trong phân, Viêm loét đại trực tràng chảy máu.

I. Đặt vấn đề

Viêm loét đại tràng chảy máu (VLĐTTTCM) là một bệnh viêm ruột mạn tính, vô căn được đặc trưng bởi sự suy giảm hoạt động của bệnh. Đây là bệnh ít gặp nhưng tỷ lệ mắc đang gia tăng những năm gần đây ở Việt Nam. Việc đánh giá chính xác tình trạng viêm niêm mạc ruột là rất quan trọng trong quản lý những bệnh nhân này, đặc biệt là trong đánh giá hiệu quả điều trị. Nội soi đại tràng và sinh thiết rất hữu ích trong việc đánh giá tình trạng viêm niêm mạc ruột ở bệnh nhân VLĐTTTCM. Tuy nhiên, đây là những thủ thuật xâm lấn, có nguy cơ tai biến, thời gian và phương thức làm sạch ruột kéo dài và gây khó chịu cho bệnh nhân, không phù hợp để lặp lại thường xuyên. Các xét nghiệm huyết thanh như protein phản ứng C (CRP), tốc độ máu lắng, bạch cầu đã được sử dụng để xác định hoạt động bệnh VLĐTTTCM, nhưng không có xét nghiệm nào đặc hiệu cho bệnh viêm ruột [1]. Do đó, việc tìm ra một xét nghiệm chỉ điểm mới nhạy hơn và đặc hiệu hơn để xác định hoạt động bệnh VLĐTTTCM là cần thiết trong thực hành lâm sàng.

Calprotectin là một loại protein có mặt trong bạch cầu đa nhân trung tính (BCĐNTT). Khi có tình trạng viêm ruột, BCĐNTT tập trung tới khu vực niêm mạc ruột viêm và tiết ra theo phân. Do đó, định lượng nồng độ calprotectin trong phân có thể giúp phát hiện tình trạng viêm ruột [2]. Điểm đặc biệt là phương pháp xét nghiệm này không gây xâm lấn cho bệnh nhân, bệnh phẩm tương đối ổn định và thời gian bảo quản có thể lên đến một tuần ở nhiệt độ phòng [3]. Định lượng nồng độ

calprotectin trong phân có thể giúp phân biệt giữa bệnh nhân mắc bệnh lý đường ruột chức năng hoặc thực thể và có thể hữu ích trong việc phát hiện ung thư đại trực tràng và các bệnh lý viêm, đồng thời cũng có thể hữu ích trong việc dự đoán sự tái phát của bệnh viêm ruột [4].

Nghiên cứu của chúng tôi nhằm mục đích định lượng nồng độ calprotectin trong phân của bệnh nhân VLĐTTTCM và so sánh calprotectin với một số xét nghiệm khác thường được sử dụng trong thực hành lâm sàng như CRP, máu lắng và bạch cầu.

II. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Có 55 bệnh nhân đã chẩn đoán xác định UC ($48,3 \pm 16,8$ tuổi) được đưa vào tham gia nghiên cứu, bao gồm 9 bệnh nhân bị viêm loét trực tràng, 25 bệnh nhân bị viêm loét đại tràng trái và 21 bệnh nhân bị viêm loét đại tràng lan tỏa. Trong số các bệnh nhân, 37 bệnh nhân nội trú và 18 bệnh nhân ngoại trú. Hoạt động bệnh của bệnh nhân được đánh giá theo thang điểm Mayo toàn phần, trong đó số điểm > 2 được coi là biểu hiện giai đoạn hoạt động của bệnh, điểm số 0 - 2 thể hiện giai đoạn bệnh không hoạt động. Nhóm chứng gồm 28 đối tượng ($50,5$ tuổi $\pm 19,1$ tuổi) là những bệnh nhân được chẩn đoán hội chứng ruột kích thích và không có tổn thương nào được tìm thấy qua nội soi đại tràng.

Phương pháp lấy bệnh phẩm phân

Bệnh nhân được hướng dẫn lấy một lượng nhỏ 1 - 5 gram phân vào lọ sạch, kể cả mẫu phân lỏng (không lấy mẫu phân từ tã). Bệnh phẩm có thể

bảo quản ở nhiệt độ thường < 30°C trong vòng 7 ngày trước khi mang đến khoa xét nghiệm. Sau khi xử lý và tách chiết, mẫu phân được bảo quản ở -20°C cho đến thời điểm được xét nghiệm.

Định lượng nồng độ calprotectin trong phân bằng phương pháp hóa phát quang

Bệnh phẩm phân sau khi mang tới phòng xét nghiệm được bảo quản ở nhiệt độ 2 - 8°C trong vòng tối đa 4 ngày trước khi tách chiết. Nếu mẫu không được tách chiết trong vòng 4 ngày, phải bảo quản đông lạnh mẫu ở -20°C cho đến thời điểm thực hiện xét nghiệm. Sau đó, mẫu phân được rửa đông và lấy ra khoảng 100mg phân pha với dung dịch đệm theo tỷ lệ 1:50 và ly tâm. Xét nghiệm

dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu “sandwich”. Calprotectin được đo bằng phương pháp hóa phát quang (QUANTA Flash Calprotectin). Bệnh phẩm sau khi tách chiết được trộn với các hạt từ phủ kháng thể đặc hiệu với calprotectin và dung dịch đệm, ủ ở 37°C, tạo ra phản ứng hóa phát quang. Ánh sáng tạo ra từ phản ứng được đo bằng hệ thống quang học của máy BIO-FLASH.

Các xét nghiệm calprotectin, CRP, máu lắng và bạch cầu đều được thực hiện tại khoa xét nghiệm của Bệnh viện E theo quy trình nhà sản xuất cung cấp.

Đánh giá mức độ hoạt động bệnh dựa trên thang điểm Mayo toàn phần.

Bảng 1. Thang điểm Mayo toàn phần trong đánh giá hoạt động của bệnh VLĐTTTCM

Số lần đại tiện trong ngày	Bình thường	0
	1 - 2 lần/ngày	1
	3 - 4 lần/ngày	2
	> 4 lần/ngày	3
Ỉa máu	Không	0
	Ỉa máu không liên tục	1
	Ỉa máu liên tục	2
	Ỉa máu đỏ tươi	3
Hình ảnh niêm mạc nội soi	Bình thường hoặc không hoạt động	0
	Bệnh nhẹ: niêm mạc ban đỏ, giảm tưới máu	1
	Bệnh trung bình: niêm mạc trợt, ban đỏ từng điểm	2
	Bệnh nặng (chảy máu tự phát, loét)	3
Đánh giá bác sĩ về mức hoạt động bệnh	Bình thường	0
	Nhẹ	1
	Trung bình	2
	Nghiêm trọng	3
- Khi tổng điểm 0 - 2: Bệnh không hoạt động - Khi tổng điểm 3 - 5: Hoạt động nhẹ - Khi tổng điểm 6 - 10: Hoạt động vừa - Khi tổng điểm 11 - 12: Hoạt động nặng		

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân loại VLĐTTTCM thành 2 nhóm: nhóm VLĐTTTCM không hoạt động (tổng điểm Mayo 0 - 2) và nhóm VLĐTTTCM hoạt động (tổng điểm Mayo 3 - 12).

Phân tích thống kê

Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm SPSS 20.0. Dữ liệu được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Kiểm định T-Test và ANOVA được sử dụng để đánh giá sự khác biệt các chỉ số giữa các nhóm và hệ số tương quan của Spearmans(r) được sử dụng để phân tích mối tương quan giữa các chỉ số. Giá trị $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Đồ thị ROC cũng được phân tích trong nghiên cứu để đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của các chỉ số.

III. Kết quả

Nồng độ của calprotectin trong phân, CRP, máu lắng và bạch cầu ở bệnh nhân VLĐTTTCM và nhóm chứng.

Có sự khác biệt đáng kể về nồng độ calprotectin trong phân giữa bệnh nhân có VLĐTTTCM hoạt động và bệnh nhân có VLĐTTTCM không hoạt

động ($p < 0,01$) (Bảng 2, Hình 1). Nồng độ calprotectin ở những bệnh nhân VLĐTTTCM không hoạt động cũng cao hơn đáng kể so với nhóm chứng ($p < 0,01$).

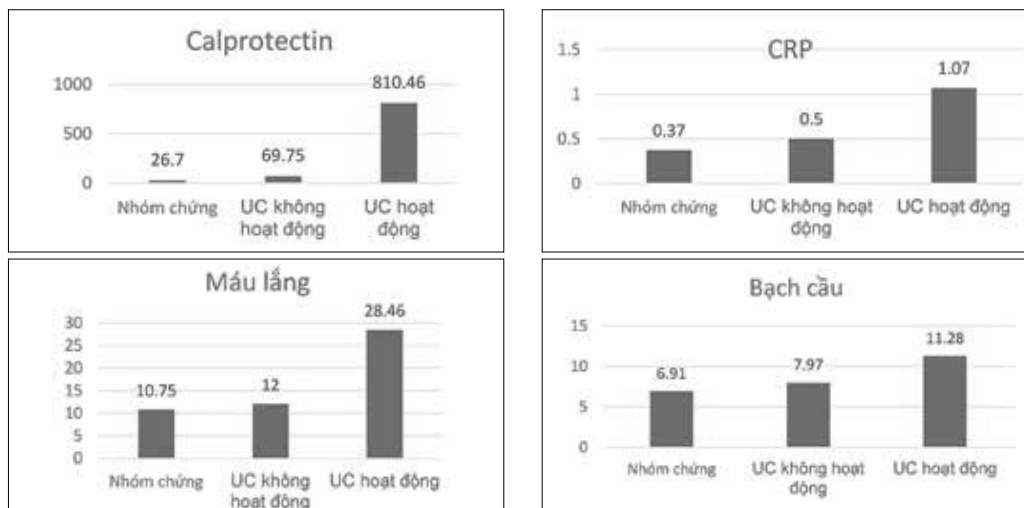
Bệnh nhân VLĐTTTCM hoạt động có nồng độ CRP, máu lắng và bạch cầu cao hơn so với bệnh nhân VLĐTTTCM không hoạt động ($p < 0,05$). Nhóm bệnh nhân VLĐTTTCM không hoạt động có nồng độ CRP, máu lắng và bạch cầu cao hơn so với nhóm chứng tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Mối tương quan giữa nồng độ calprotectin trong phân, CRP, máu lắng, bạch cầu và chỉ số hoạt động bệnh VLĐTTTCM theo thang điểm Mayo.

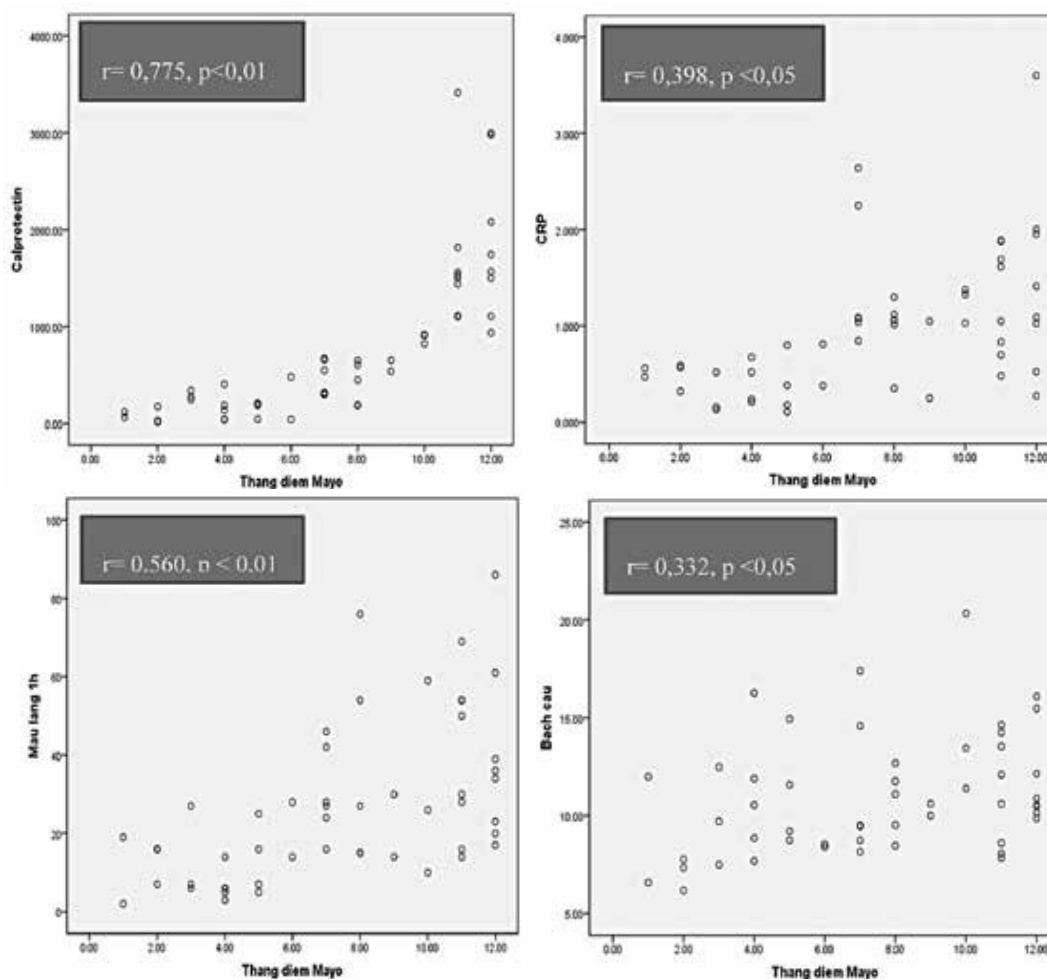
Ở hình 2, nồng độ calprotectin trong phân ở bệnh nhân VLĐTTTCM có mối tương quan tốt với thang điểm hoạt động Mayo. Hệ số tương quan (r) lần lượt giữa điểm hoạt động Mayo với nồng độ calprotectin trong phân là 0,775 ($p < 0,01$), với CRP là 0,398 ($p < 0,05$), với máu lắng là 0,56 ($p < 0,01$) và với bạch cầu là 0,332 ($p < 0,05$). Sự tương quan mạnh nhất với thang điểm hoạt động Mayo là calprotectin trong phân và yếu nhất là bạch cầu.

Bảng 2. Nồng độ trung bình của calprotectin, CRP, máu lắng và bạch cầu ở bệnh nhân VLĐTTTCM nhóm bệnh hoạt động, nhóm bệnh không hoạt động và nhóm chứng

Nhóm	Calprotectin ($\mu\text{g/g}$)	CRP (mg/dL)	Máu lắng (mm/h)	Bạch cầu (G/l)
Nhóm chứng	27,76 $\pm$ 21,68	0,37 $\pm$ 0,24	10,75 $\pm$ 5,24	6,91 $\pm$ 1,53
VLĐTTTCM không hoạt động	81,84 $\pm$ 66,89	0,50 $\pm$ 0,11	12,00 $\pm$ 7,18	7,97 $\pm$ 2,33
VLĐTTTCM hoạt động	869,79 $\pm$ 819,31	1,07 $\pm$ 0,82	28,46 $\pm$ 20,43	11,28 $\pm$ 2,9



Hình 1. Nồng độ trung bình của calprotectin, CRP, máu lắng và bạch cầu ở bệnh nhân VLĐTTCM nhóm bệnh hoạt động, nhóm bệnh không hoạt động và nhóm chứng



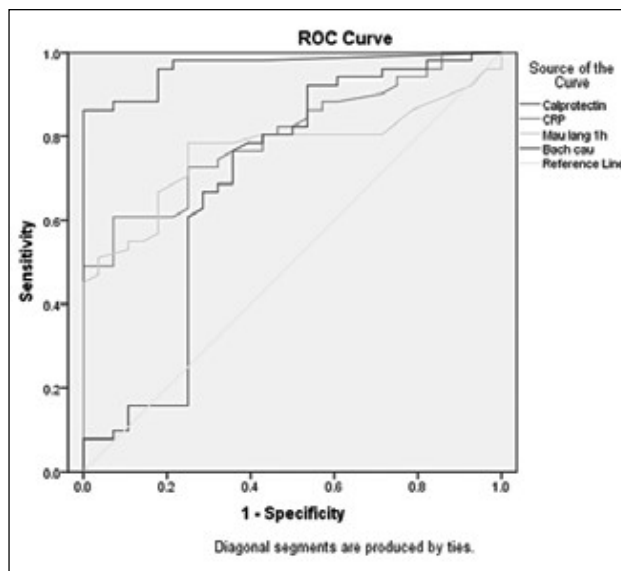
Hình 2. Nồng độ calprotectin trong phân, CRP, máu lắng và bạch cầu ở bệnh nhân VLĐTTCM với điểm hoạt động của bệnh (thang điểm Mayo toàn phần)

Độ đặc hiệu và độ nhạy

Bảng 3. Độ nhạy và độ đặc hiệu của calprotectin, CRP, máu lắng và bạch cầu trong xác định tình trạng VLĐTTTCM hoạt động và không hoạt động

Chỉ số	Điểm cắt	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
Calprotectin	50 (µg/g)	0,882	0,821
CRP	0,5 (mg/dL)	0,725	0,679
Máu lắng	10 (mm/h)	0,784	0,643
Bạch cầu	10 (G/l)	0,549	0,750

Sự tương ứng giữa phân loại về tình trạng bệnh đang hoạt động hoặc không hoạt động dựa trên thang điểm Mayo và phân loại dựa trên điểm cắt (cut-off) được phân tích cho từng chỉ số calprotectin, CRP, máu lắng và bạch cầu (Bảng 3) và được biểu thị bằng độ đặc hiệu và độ nhạy tương ứng. Độ nhạy đối với calprotectin trong phân, CRP, máu lắng và bạch cầu lần lượt là 88,2%, 72,5%, 78,4% và 54,9%. Như vậy, độ nhạy đối với calprotectin trong phân tương đối cao, nhưng tương đối thấp đối với bạch cầu. Độ đặc hiệu đối với calprotectin trong phân, CRP, máu lắng và bạch cầu lần lượt là 82,1%, 67,9%, 64,3% và 75,0%. Độ đặc hiệu cao nhất đối với calprotectin trong phân (82,1%) và thấp nhất đối với máu lắng (64,3%). Các đường cong ROC cho thấy sự cân bằng giữa độ đặc hiệu và độ nhạy đối với calprotectin trong phân (diện tích dưới đường cong $AUC_{0,966 \pm 0,018}$; $p < 0,001$), đối với CRP ($AUC_{0,8 \pm 0,048}$; $P < 0,001$), đối với máu lắng ($AUC_{0,768 \pm 0,053}$; $P < 0,001$), và đối với bạch cầu ($AUC_{0,69 \pm 0,07}$; $P < 0,01$) (Hình 3). Như vậy, AUC của calprotectin trong phân lớn hơn của CRP, máu lắng hoặc bạch cầu ($P < 0,01$).



Hình 3. Đồ thị ROC biểu thị khả năng của calprotectin, CRP, máu lắng và bạch cầu trong phân biệt VLĐTTTCM hoạt động và VLĐTTTCM không hoạt động

IV. Bàn luận

VLĐTTTCM là bệnh lý viêm mạn tính, dai dẳng kéo dài, xen kẽ giữa những đợt thuyên giảm là những đợt tái phát. Trên hình ảnh mô bệnh học của VLĐTTTCM cho thấy có sự xâm nhập

của BCĐNTT vào niêm mạc bị viêm. BCĐNTT là nguồn chủ yếu của các cytokine gây viêm, góp phần quan trọng làm nặng thêm quá trình viêm niêm mạc và tổn thương ở ruột [5–6]. Sự giải phóng calprotectin từ BCĐNTT qua niêm mạc ruột vào trong phân từ lâu đã được coi là xét nghiệm tiêu chuẩn vàng để đánh giá tình trạng viêm ruột. Tuy nhiên, phương pháp xét nghiệm này trước đây có liên quan đến phơi nhiễm bức xạ và việc lấy mẫu phân cũng không được bệnh nhân và kỹ thuật viên phòng xét nghiệm ưa chuộng nên thường chỉ sử dụng trong phòng nghiên cứu. Ở Việt Nam, xét nghiệm calprotectin trong phân mới được đưa vào sử dụng vài năm gần đây tại một số ít bệnh viện lớn và thực sự chưa phổ biến.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi lần lượt tìm hiểu mối liên quan giữa calprotectin, CRP, máu lắng, bạch cầu với hoạt động bệnh VLĐTTCM được đánh giá bằng thang điểm Mayo. Thang điểm Mayo toàn phần là tổng điểm của 4 tiêu chí về tần suất đại tiện, mức độ đại tiện phân máu, hình ảnh nội soi đại trực tràng và đánh giá tổng quát của bác sĩ. Mỗi tiêu chí này được chấm điểm từ 0 đến 3, mức tổng điểm tối đa là 12 thể hiện tình trạng nặng nhất của bệnh [7]. Đây là thang điểm đơn giản, dễ áp dụng và được sử dụng rộng rãi trong thực hành lâm sàng, cho phép đánh giá cả về tình trạng lâm sàng của bệnh nhân VLĐTTCM và mức độ tổn thương niêm mạc ruột qua nội soi.

Kết quả của chúng tôi cho thấy rằng nồng độ calprotectin trong phân ở những bệnh nhân VLĐTTCM hoạt động cao hơn đáng kể so với những bệnh nhân VLĐTTCM không hoạt động và nhóm chứng. Ngoài ra, kết quả của chúng tôi cho thấy nồng độ calprotectin trong phân ở những bệnh nhân có VLĐTTCM không hoạt động cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng. Ở những bệnh nhân VLĐTTCM, nồng độ calprotectin trong phân có mối tương quan tốt hơn với thang điểm Mayo so với nồng độ CRP, máu lắng hoặc bạch cầu.

Chúng tôi sử dụng đường cong ROC để so sánh giá trị của các xét nghiệm. Trong nghiên cứu này, phân tích đồ thị ROC về nồng độ calprotectin

trong phân cho thấy với điểm cắt là 50 $\mu\text{g/g}$ thì calprotectin có độ nhạy 88,2% và độ đặc hiệu 82,1% để tạo ra sự khác biệt giữa VLĐTTCM hoạt động và VLĐTTCM không hoạt động. Kết quả này có giá trị hơn đáng kể so với những kết quả thu được với CRP, máu lắng và bạch cầu.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp hóa phát quang là một phương pháp miễn dịch có độ chính xác cao, thời gian trả kết quả nhanh để xác định nồng độ calprotectin trong phân ở bệnh nhân VLĐTTCM và nhóm chứng. So với nội soi, phương pháp này đơn giản, không xâm lấn và giá thành thấp hơn. Như vậy, kết quả của nghiên cứu này có thể gợi ý cho các bác sĩ lâm sàng có thêm một xét nghiệm có giá trị trong đánh giá hoạt động bệnh VLĐTTCM. Tuy nhiên, calprotectin trong phân phản ánh chung sự giải phóng của BCĐNTT trong các bệnh lý viêm, nhiễm trùng. Nồng độ calprotectin cũng có thể tăng cao trong một số bệnh lý rối loạn tiêu hóa khác. Do đó, calprotectin không phải là một chỉ số mong đợi được sử dụng để chẩn đoán phân biệt VLĐTTCM và viêm đại tràng nhiễm khuẩn và cũng không thể thay thế cho nội soi trong chẩn đoán xác định bệnh lý VLĐTTCM. Mặc dù có độ nhạy cao trong việc đánh giá hoạt động bệnh ở bệnh nhân VLĐTTCM đã được chẩn đoán xác định trước đó, calprotectin trong phân vẫn cần được nghiên cứu tiếp để tìm hiểu về khả năng có thể chẩn đoán xác định VLĐTTCM hay có thể phân biệt VLĐTTCM với các bệnh lý viêm khác hay không?

V. Kết luận

Như vậy, định lượng nồng độ calprotectin trong phân là một cách tiếp cận mới để đánh giá hoạt động bệnh ở bệnh nhân VLĐTTCM. Ưu điểm của calprotectin trong phân là đơn giản, không xâm lấn và giá thành tương đối thấp so với chi phí nội soi, có thể áp dụng trong thực hành lâm sàng.

Tài liệu tham khảo

1. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern F. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*. 1976;70:439–444.

2. Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonal TT. Tumor necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet*.1992;339:89–91.
3. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol*.1992;27:793–798.
4. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerthol MK, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*.2000;119:15–22.
5. Grisham MB, Yamada T. Neutrophils, nitrogen oxides and inflammatory bowel disease. *Ann N Y Acad Sci*.1992;664:103–115.
6. Nikolaus S, Bauditz J, Gionchetti P, Witt C, Lochs H, Schreiber S. Increased secretion of proinflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin-10 during intestinal inflammation. *Gut*.1998;42:470–476.
7. Marteau P, Probert CS, Lindgren S, Gassul M, Tan TG, Dignass A, Befrits R, Midhagen G, Rademaker J, Foldager M. Combined oral and enema treatment with Pentasa (mesalazine) is superior to oral therapy alone in patients with extensive mild/moderate active ulcerative colitis: a randomised, double blind, placebo controlled study. *Gut*.2005;54:960–965. placebo controlled study. *Gut*.2005;54:960–965.