

# Hipoacusia asociada a colitis ulcerosa

F. J. García Callejo, P. Laporta Marín\*, M. M. Velert Vila\*\*, M. H. Orts Alborch, C. de Paula Vernetta, J. Marco Algarra

Servicio de Otorrinolaringología y \*Departamento de Bioquímica. Hospital Clínico Universitario de Valencia. \*\*Centro de Investigación. Hospital La Fe. Valencia.

**Resumen:** *Objetivos:* Evaluar la eventual inmunomediación en hipoacusias neurosensoriales (HNS) en pacientes con colitis ulcerosa (CU). *Material y métodos:* En 49 casos, con edad media de  $41,6 \pm 9,3$  años, se estudiaron grado de hipoacusia, indicadores de actividad de enfermedad, marcadores de inflamación en sangre periférica y anticuerpos anticonocleares mediante western-blot (WB). *Resultados:* El 26,5% documentaban sordera conocida, aunque se detectó HNS en el 59,1% de los casos. Su edad media de aparición fue de  $40,3 \pm 9,8$  años. En el 48,9% se identificó un WB positivo, detectándose siempre la banda de 68-70 kD. Los pacientes con WB positivo mostraron mayor grado de hipoacusia, actividad de enfermedad y más parámetros sanguíneos alterados, en especial la velocidad de sedimentación globular. *Conclusiones:* Los hallazgos audiológicos y en sangre periférica observados permiten establecer la sospecha razonable de que la hipoacusia detectada en la CU presenta un mecanismo de producción autoinmune o inmunomediado.

**Palabras clave:** Hipoacusia. Colitis ulcerosa. Western-blot.

## Hearing loss associated to ulcerative colitis

**Abstract:** *Objective:* To value the eventual immunomediation in sensorineural hearing loss (SHL) on patients bearing of ulcerative colitis (UC). *Material and methods:* In a group of forty-nine cases with a mean age of  $41,6 \pm 9,3$  years old we studied the hearing loss level, the disease activity index, the peripheral blood inflammation markers and the anticonoclear antibodies by mean of western-blot technique (WB). *Results:* The 26,5% knew about their deafness, although SHL was detected in 59,1% of cases. The mean age of onset was  $40,3 \pm 9,8$  years. 48,9% showed a positive WB, always in 68-70 kDa molecular weight blots. Moreover, patients with positive WB showed more severe deafness, higher disease activity and more altered parameters, specially erythrocyte sedimenta-

tion rate. *Conclusions:* Audiologic and peripheral blood findings observed allow us to establish a reasonable suspicion of an autoimmune or immunomediated pathway of hearing loss on UC.

**Key words:** Deafness. Ulcerative colitis. Western-blot.

## INTRODUCCIÓN

La colitis ulcerosa (CU) es un proceso inflamatorio crónico de la mucosa digestiva del intestino grueso, de causa desconocida y evolución recurrencial con brotes y remisiones, pudiendo derivar en complicaciones locales y manifestaciones extradigestivas. Con la enfermedad de Crohn (EC) conforman el complejo clínico denominado enfermedad inflamatoria intestinal, pero la CU puede diferenciarse de aquella en su focalidad monosegmentaria en colon y/o recto y la limitación de su afectación histopatológica en forma de granulaciones, erosiones o úlceras sólo a la superficie mucosa.

En la CU en particular, el deterioro en la inmunidad sistémica es significativamente mayor y resulta paralelo al incremento en la permeabilidad de la pared cólica. Por ello, no es inusual encontrar asociada a la clínica intestinal de rectorragia, diarrea y dolor abdominal, manifestaciones más propias de mecanismos inmunomediados a distancia, tales como artritis y dermatitis reactivas, uveítis o vasculitis.

La asociación de CU a hipoacusia neurosensorial (HNS) de larga evolución se conoce incluso desde antes de la descripción por McCabe de la enfermedad autoinmune del oído interno (EAOI)<sup>1</sup>. En 1973 Levitan observa su presencia en un 46% de su población afecta de la enteropatía<sup>2</sup>. En la década siguiente se conocen numerosos casos de sordera concomitante a la enfermedad, que son además subsidiarios de corticoterapia por encima incluso de la terapia específica de la enfermedad inflamatoria, la sulfasalazina<sup>3-5</sup>.

La sospecha patogénica de inmunomediación en los desórdenes auditivos en pacientes con CU es, así pues, alta. La aparición de herramientas de laboratorio que tipifican esta dis inmunidad puede ayudar a explicar el mecanismo generador de un evento que, en calidad de neurosensorial, a menudo se tenía por irreversible, y que en la actualidad resulta potencialmente diagnosticable, predecible e incluso tratable.

Correspondencia: Francisco Javier García Callejo  
C/ Luis Oliag 71 - 8  
46006 Valencia  
E-mail: jgarciacall@hotmail.com  
Fecha de recepción: 29-1-2004  
Fecha de aceptación: 10-12-2004

Supone nuestro objetivo valorar la incidencia de HNS entre pacientes con CU, estudiando en ellos eventuales vías inmunopatogénicas que ofrezcan una explicación a la aparición de sordera en estos casos, discutiendo a continuación la posible consideración de la misma como manifestación extraintestinal de la enfermedad.

## PACIENTES Y MÉTODOS

Fueron estudiados 49 sujetos diagnosticados de colitis ulcerosa mediante rectosigmoidoscopia y estudio radiológico de enema opaco y/o tomografía computerizada. En ellos se evaluó el grado de actividad conforme a la escala de Truelove y Witts, que puntúa de 0 a 5 según la presencia o no de los siguientes signos: más de 6 deposiciones líquidas con sangre al día, temperatura superior a 37,5°C, taquicardia superior a 120 ppm, anemia con hemoglobina inferior a 10 g/dl, y velocidad de sedimentación globular (VSG) por encima de 30 mm la 1ª hora. No condicionó exclusión del estudio la ausencia de confirmación histopatológica de la enfermedad, la práctica previa de resecciones intestinales ni la administración concomitante de sulfasalazina o enemas de ácido 5-aminosalicílico.

Supuso criterio de no admisión al estudio la administración en los 15 días previos a la valoración audiológica y analítica de terapias inmunomoduladoras, como los glucocorticoides, la azatioprina, el metotrexate o la ciclosporina. Tampoco se admitieron aquellos pacientes en los que pudiera haberse detectado otro trastorno de base susceptible de generar hipoacusia, a saber: exposición a ambientes laborales con niveles acústicos superiores a 85 dB (n=2), administración previa de agentes ototóxicos (n=2) o cirugía del oído (n=1).

La evaluación audiológica de los pacientes admitidos a estudio se efectuó mediante Audiometría Tonal Liminar, registrándose el porcentaje de pérdida auditiva monoaural y binaural de cada individuo conforme a las especificaciones del Real Decreto 1971/1999, de 23 de diciembre, de Procedimiento para el Reconocimiento, Declaración y Calificación del Grado de Minusvalía (BOE de 26 de enero de 2000), en su Anexo 1A, Capítulo 13.

La valoración en sangre periférica tipificó en todos los sujetos un perfil analítico inespecífico que incluyó 16 parámetros susceptibles de modificación en circunstancias de dis inmunidad. Este perfil incluyó niveles totales de inmunoglobulinas G (IgG), M (IgM) y A (IgA), fibrinógeno, proteína C reactiva (PCR), fracciones IgG, IgM e IgA del factor reumatoide, titulaciones de antiestreptolisina-O (ASLO), factores del complemento C3, C4 y actividad CH50, VSG, recuento absoluto de leucocitos y linfocitos, y cociente T4/T8. Todas las determinaciones se obtuvieron de suero procedentes de sangre sin anticoagular y centrifugada en menos de 2 horas tras su extracción, excepto el fibrinógeno y la VSG, que se obtuvieron a partir de plasma de sangre tratada con citrato potásico, y los recuentos celulares, procedentes de sangre anticoagulada con EDTA-K<sub>3</sub>. Las muestras séricas y plasmáticas son estables 48 horas a 4°C y hasta 4

semanas a -70°C. Las determinaciones en sangre entera resultaron estables 24 horas a temperatura ambiente.

Además se obtuvo suero para tipificación de autoanticuerpos anticocleares mediante western-blot (WB) frente a extracto antigénico de cóclea bovina diluido en tampón de dodecyl sulfato sódico migrado en geles de poliacrilamida y transferidos a membranas de nitrocelulosa en una unidad minitransforética, según describió Barnette<sup>6</sup>. Tras la incubación de las membranas en tampón Tween-TRIS, estas fueron enfrentadas a diluciones 1:10 de los sueros a testar durante 8 horas a 4°C. Posteriormente, el producto de la incubación fue enfrentado a un exceso de antisuero con inmunoglobulinas anti-cadenas pesadas y conjugado a una fosfatasa alcalina, activadora de un cromógeno fosfato asociado a nitroazul de tetrazolio. El resultado del WB fue cualitativo y se informó como "positivo" o "negativo" en cuanto a presencia de autoanticuerpos anticocleares.

Fueron obtenidos los resultados de umbrales audiométricos de los 49 pacientes, así como el porcentaje de los mismos que evidenciaron titulaciones positivas en el WB. Asimismo se compararon los porcentajes de pérdida auditiva de los pacientes con CU según evidenciaran WB positivo o negativo. También se anotó el volumen de parámetros pertenecientes a la batería inespecífica que resultaron significativamente modificados y se correlacionaron con la positividad del WB. Para evaluar la eventual relación entre pérdida auditiva y añosidad del paciente se efectuó el cálculo de la ecuación de la recta de regresión lineal entre edades y porcentaje de hipoacusia, obteniendo el coeficiente de correlación lineal R<sup>2</sup>. Las comparaciones entre volúmenes de casos con WB positivo y negativo establecidas mediante estudio de medias y desviaciones estándar fueron sometidas a tratamiento estadístico con t-Student, y las establecidas entre proporciones lo fueron mediante  $\phi^2$ , todo ello incluido en los paquetes informáticos que proporcionaron SPSS y *Statgraphics*.

## RESULTADOS

El volumen de 49 casos se distribuyó en 23 hombres y 26 mujeres ( $\sigma/\varphi=0,88$ ), con una edad media de 41,6±9,3 años (rango entre 22 y 62 años). La distribución de ellos según la escala de gravedad de Truelove y Witts resultó bimodal, con dos grupos que reunieron el 77,5% del estudio: aquellos con 0 puntos (n=12) y aquellos con 3 puntos (n=16). El hallazgo clínico más habitual entre los pacientes fue la anemia, seguido de la elevación en la VSG. Conforme a los criterios de pérdida auditiva estipulados por el Real Decreto antes definido, fue detectado algún grado de hipoacusia en 29 casos, el 59,1% del volumen muestral, aunque sólo 13 sujetos, el 26,5%, presentaban sensación subjetiva de perder audición uni o bilateral. De estos 13 individuos, esta sensación de sordera era identificable fácilmente desde hacía menos de 5 años en 11. La edad media de aparición de sordera subjetiva fueron los 40,3±9,8 años, con variaciones entre los 22 y los 58. En la figura 1 se representa la distribución poblacional según intervalos en su porcentaje de pérdida auditiva.

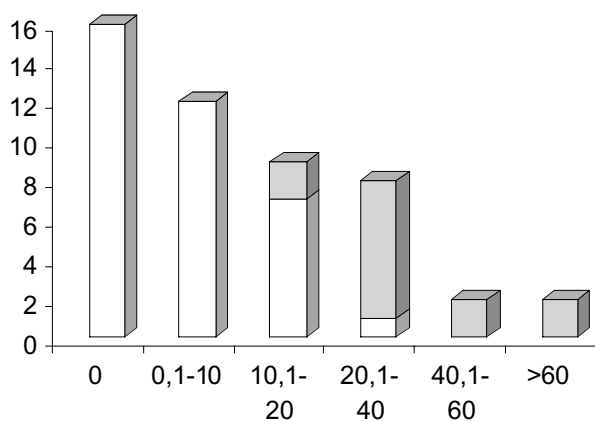


Figura 1. Distribución del volumen muestral (n=49) por intensidad de la hipoacusia detectada calculada en forma de porcentaje (abscisas). Hasta 28 sujetos presentaban una pérdida auditiva inferior al 10%. En oscuro se señalan aquellos individuos que sí referían la sensación subjetiva de sordera.

En el estudio de 16 parámetros en sangre periférica considerados inespecíficos, pero con potencial capacidad para detectar desórdenes inmunomediados, se observó una media de  $2,3 \pm 1,8$  alteraciones por paciente (rango entre 0 y 6). Un total de 114 alteraciones por exceso o por defecto de las 304 determinaciones efectuadas, el 14,5% de ellas, fueron detectadas. En 11 pacientes estudiados no se detectó ninguna alteración. La modificación analítica más frecuente fue la elevación de la VSG (n=28), seguida de los incrementos en la PCR (n=19) y los niveles totales de IgG (n=12).

La realización de WB frente a antígeno coclear bovino permitió observar la aparición de bandas en 24 pacientes con CU, el 48,9% del total. De los 13 individuos con sensación subjetiva de sordera, 12 mostraban WB positivo. La banda detectada siempre emigró en el peso molecular de 68-70 KD, aunque en dos pacientes existió además una segunda banda entre 60 y 63 KD.

El estudio de la pérdida auditiva no se correlacionó en absoluto con la edad del paciente, tal y como refleja la figura 2, y pudiendo descartarse cualquier eventual relación del desorden auditivo con la añosidad de los sujetos mayores. La pérdida auditiva media registrada en la Audiometría To-

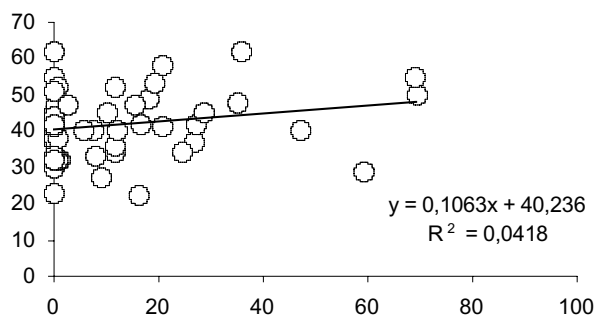


Figura 2. Ecuación y recta de regresión lineal resultante de la correlación de las variables porcentaje de pérdida auditiva (abscisas) y edad en años (ordenadas). El reducido valor de  $R^2$  descarta cualquier eventual asociación entre ambos parámetros.

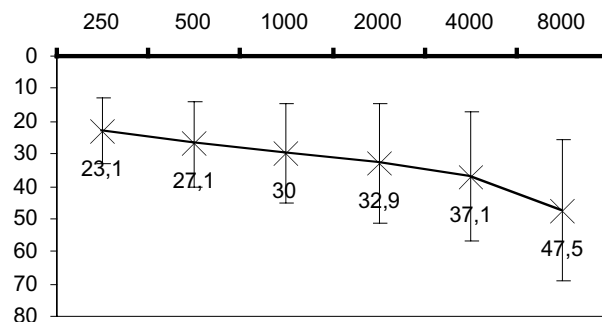
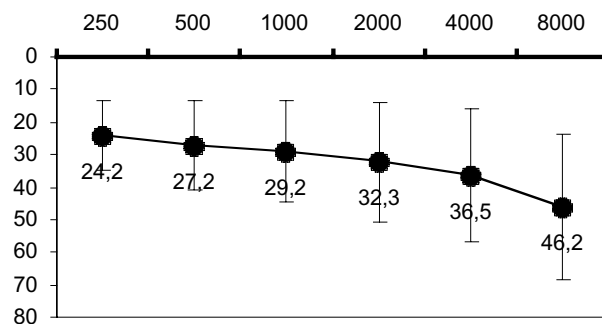


Figura 3. Gráfica audiométrica obtenida con las medias y desviaciones estándar de los umbrales por vía aérea explorados en todos los tonos de los 49 pacientes.

nal Liminar se refleja en la figura 3, y en ella puede observarse una tendencia progresiva a la elevación del umbral por vía aérea conforme más agudo es el tono examinado.

Además, dividiendo el grupo estudiado en dos cohortes según los pacientes expresaran en el WB bandas de anticuerpos anticocleares (n=48 oídos) o no (n=50 oídos), pudo constatar un mayor grado de hipoacusia entre los primeros frente a los segundos, tanto en porcentaje de pérdida auditiva monoaural como en el umbral de audición por vía aérea para todas las frecuencias estudiadas, tal y como se refleja en la tabla 1. Por otro lado, los pacientes con WB positivo presentaron un mayor volumen de parámetros alterados pertenecientes a la batería inespecífica y un índice clínico de actividad de la CU significativamente más elevado.

Finalmente, el estudio de correlación entre las variables cuantitativas pérdida de audición monoaural con el número de parámetros alterados de la batería considerada inespecífica y con el índice de actividad clínica de la CU permitió obtener las ecuaciones de las rectas de regresión lineal que se presentan en la figura 4. Las mismas evidencian una tendencia a la hipoacusia en aquellos sujetos con CU y mayor volumen de indicadores analíticos o clínicos alterados, aunque dicha tendencia resultó estadísticamente no significativa.

## DISCUSIÓN

La concomitancia de colitis ulcerosa e HNS no es un hallazgo nuevo, y aunque su conocimiento se viene documentando en casos aislados en los años 80 y 90, es Kumar

**Tabla 1:** Análisis comparativo y estadístico de las pérdidas auditivas, hallazgos analíticos y grado de actividad de la enfermedad según los pacientes presentaron WB positivo o no para anticuerpos anticocleares

	WB+ (n=24 pacientes 48 oídos)	WB- (n=25 pacientes 50 oídos)	t	SE
Edad	42,7±10,1 años	40,5±8,34 años	1,173	NS
↓250 Hz	26,7±11,1 dB HL	20,6±7,9 dB HL	3,123	<0,01
↓500 Hz	32,5±14,6 dB HL	22,1±8,8 dB HL	4,25	<0,001
↓1000 Hz	37,3±16,9 dB HL	22,2±9,3 dB HL	5,449	<0,001
↓2000 Hz	41,0±19,9 dB HL	24,6±9,9 dB HL	5,133	<0,001
↓4000 Hz	46,9±22,6 dB HL	27,1±13,6 dB HL	5,228	<0,001
↓8000 Hz	55,3±24,5 dB HL	38,8±18,4 dB HL	3,759	<0,001
Σ↓(500-4000 Hz)	157,8±69,6 dB HL	96,0±36,5 dB HL	5,474	<0,001
↓ auditiva monoaural	24,3±22,6%	4,8±7,4%	5,692	<0,001
Pruebas alteradas	3,75±1,06	0,96±1,12	12,68	<0,001
Grado actividad CU	2,2±1,3	0,8±0,9	13,22	<0,001

quien en 2000 detecta en su comparación de controles y 20 pacientes con CU sordera perceptiva en mayor o menor grado en los 20 casos incluidos en el estudio, etiquetando al desorden auditivo como una manifestación extraintestinal del proceso inflamatorio intestinal, cuya actividad se correlacionaría bien con la intensidad de la pérdida sensorial<sup>7</sup>.

Las características clínicas de la HNS descrita por Kumar y otros autores coinciden con las observadas por nosotros. Diversas publicaciones resaltan peculiaridades de esta sordera que la hacen muy sugerente de resultar patogénicamente inmunomediada: su neurosensorialidad y evolución rápida e incluso súbita en el tiempo<sup>8,9</sup>, su respuesta clínica a corticoides u otros inmunosupresores<sup>3,5,8,9</sup> y su asociación a otras entidades con potencial patogenia autoinmune, como el pioderma gangrenoso, iritis o vasculitis<sup>10-12</sup>. El perfil inflamatorio inespecífico empleado por nosotros y sobre todo el desarrollo del WB frente a antígeno coclear, permiten además documentar un grado de inmunoactivación inusual en el sujeto que aproxima aún más este modelo de hipoacusia detectada al descrito por McCabe para definir la autoinmu-

nidad laberíntica. Hoistad refuerza esta hipótesis al documentar en la necropsia de un paciente afecto de leucemia, CU e HNS hallazgos histopatológicos muy semejantes a los encontrados en estudios experimentales previos sobre cobayas inmunizados: atrofia del órgano de Corti, disminución de la celularidad del ganglio espiral, hydrops endolinfático en espiras, utrículo y sáculo, y osteoneogénesis de la rampa timpánica de la espira basal con linfocitosis y fibrosis en el saco endolinfático<sup>13</sup>.

La respuesta inmunológica en la CU ha demostrado un aumento en las células B productoras de inmunoglobulinas, mayormente IgG. En la enfermedad activa este incremento es aún mayor y la teoría más clásica atribuye estas agudizaciones a la citotoxicidad mediada por linfocitos e inducida por inmunoglobulinas<sup>14</sup>. Sin embargo, está igualmente documentada la producción exagerada de inmunocomplejos con generación local de una reacción tipo Arthus y a nivel sistémico una respuesta sérica semejante a la acontecida en la enfermedad del suero<sup>15</sup>. Si los inmunocomplejos son voluminosos -formados en equivalencia y exceso de anticuerpo-, desaparecen rápidamente de la circulación y son fagocitados por células del sistema retículo-endotelial favoreciendo el desarrollo de la enfermedad granulomatosa local.

Por otro lado, el depósito de dichos complejos en las paredes de los vasos explicaría las vasculitis y otras manifestaciones extraintestinales, a la par que condiciona una respuesta inflamatoria casi autolítica que eleva las concentraciones de reactantes de fase aguda, promueve la infiltración leucocitaria y consume complemento. Esto resulta particularmente justificable cuando los complejos son pequeños y preparados en exceso de antígeno<sup>16</sup>. Precisa por ello una sobreexpresión de epítopos antigénicos que inicialmente no están presentes en la luz intestinal o en las células de la mucosa colónica.

En la mucosa de enfermos con CU se observan con frecuencia anticuerpos contra bacterias anaerobias, y en su suero, anticuerpos antimucosa de colon, antiproteínas pre-

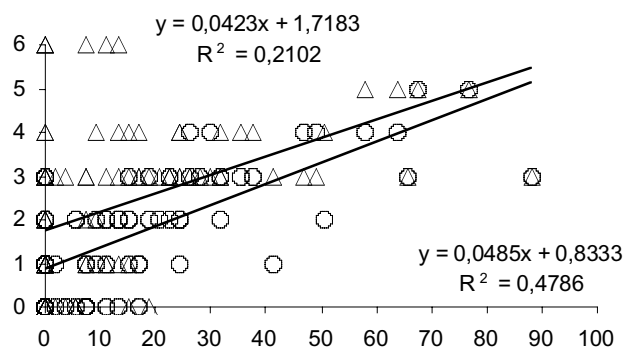


Figura 4. Ecuaciones y rectas de regresión lineal resultantes de la correlación de las variables porcentaje de pérdida auditiva (abscisas) con el número de alteraciones en la batería de laboratorio considerada inespecífica (Δ, recta superior) y con el índice de gravedad de la enfermedad (O, recta inferior). Ambas rectas evidencian una tendencia ascendente que en ninguno de los dos casos resultó estadísticamente significativa.

sentes en las heces y anti*Escherichia coli*<sup>17-19</sup>. Quizás tan bajos títulos reflejan su unión con antígenos tisulares, o la constitución de inmunocomplejos con el antígeno carcinoembrionario. Está comprobada sin embargo la correlación entre la concentración de inmunocomplejos circulantes y la severidad de la colitis y de algunas manifestaciones a distancia. Sobre la audición, esta implicación de intensidad clínica aun hoy es discutida. Nuestros resultados sí objetivan mayor profundidad de la hipoacusia cuando clínicamente la enfermedad presenta indicadores de agresividad, pero no es una relación muy estrecha, y no es un resultado detectado por otros autores.

El suero de enfermos con CU puede inducir colon-citotoxicidad en linfocitos normales si aquel suero contiene anticuerpos anticolon o inmunocomplejos con estos. Está demostrado que estos anticuerpos existen, que pueden reaccionar contra mucosa de colon fetal, y también contra determinantes antigénicos presentes en muchas bacterias intestinales. De la similitud estructural de epítomos de estas bacterias y de otras estructuras de la economía derivará la reactividad lesiva a distancia.

Las proteínas de choque térmico (*Heat Shock Proteins*-HSP) parecen excelentes candidatos al antígeno desencadenante del daño auditivo en la enfermedad. Se trata de familias polipeptídicas constitutivas con importantes propiedades inmunógenas, moléculas intracelulares altamente conservadas estructuralmente en el tiempo y extraordinariamente ubicuas, pero también resultan inducibles en la mucosa intestinal ante diversas formas de daño celular: hipertermia, anoxia, etanol, metales pesados o infección. La función para la que inicialmente estarían destinadas sería la de modular la agresión que el ser vivo puede experimentar en medios hostiles, promoviendo la síntesis proteica de sustratos útiles y la degradación y eliminación de material estructural (receptores, transportadores, membranas, incluso segmentos de genoma) deteriorado.

Mediante inmunohistoquímica está demostrada una fuerte apetencia tintorial para las formas constitutivas e inducibles de HSP70 en especímenes de mucosa con CU, EC o isquemia intestinal, pero sólo se detectan en células mononucleares de pacientes afectados de la primera<sup>20-22</sup>. Por otro lado, la misma técnica no objetiva esta sobreexpresión en tejido intestinal maligno o afecto de poliposis colónica<sup>23</sup>. La familia de las HSP70 cada vez se encuentra más involucrada como agente desencadenante de la inmunomediación que promueve el daño laberíntico con el resultado de hipoacusia y/o episodios vestibulares de rápida progresión<sup>24,25</sup>. En la CU la circulación de autoanticuerpos antiHSP70 fue ya demostrada por Reumaux en el contexto de una hiperexpresión de IgG policlonal antihistonas H2A, antipolimerasas y antiactinas<sup>26</sup>. Venkatraman ha demostrado en estos pacientes que la inhibición de la expresión de HSP70 colónica con enemas de butirato reduce la permeabilidad intestinal, aminora la infiltración polimorfonuclear y protege de las manifestaciones extraintestinales de la enfermedad<sup>27</sup>.

La implicación de las HSP en la mediación de daño a distancia en la CU parece un hecho. La colitis experimental

por *Escherichia coli* genera daños histopatológicos semejantes a los de la CU correlativos a la hiperexpresión de HSP60, y aún más, estas lesiones son reproducibles cuando lo que se inocula en el intestino del ratón es la propia HSP60 originaria de *Yersinia enterocolitica*<sup>28,29</sup>. Diferentes autores han demostrado la explosiva presencia de antiHSP60 y antiHSP65 en el suero de pacientes con CU en contacto con *Escherichia*, pero también *Mycobacterium sp*<sup>18-31</sup>.

Resulta pues razonable correlacionar el deterioro auditivo observado en algunos pacientes con CU, enfermedad que expresa marcadores inmunológicos de reconocido poder lesivo sobre el oído interno, con una manifestación extraintestinal de la misma, y en calidad de inmunomediada, susceptible de ser eficazmente tratada con medidas al respecto ya contrastadas para la EAOI. Está documentada que la misma secuencia de acontecimientos no generan en la EC, en sí un desorden más extenso y profundo de la pared intestinal, la misma agresión sobre el oído interno<sup>32,33</sup>. El porqué de esta discriminación inmunitaria y, sobre todo, por qué no todos los pacientes afectados de CU desarrollan el mismo daño laberíntico, son campos aún oscuros pendientes de estudios consecutivos al aquí presentado.

## Referencias

- McCabe BF. Autoimmune sensorineural hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1979;88:585-9.
- Levitan HL. The etiologic significance of deafness in ulcerative colitis. *Int J Psychiatry Med* 1973;4:379-87.
- Hollanders D. Sensorineural deafness - a new complication of ulcerative colitis? *Postgrad Med J* 1986;62:753-5.
- Summers RW, Harker L. Ulcerative colitis and sensorineural hearing loss: is there a relationship? *J Clin Gastroenterol* 1982;4:251-2.
- Dowd A, Rees WD. Treatment of sensorineural deafness associated with ulcerative colitis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987;295:26.
- Barnette WN. Western blotting electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrilamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem* 1981;112:195-203.
- Kumar BN, Smith MS, Walsh RM, Green JR. Sensorineural hearing loss in ulcerative colitis. *Clin Otolaryngol* 2000;25:143-5.
- Kumar BN, Walsh RM, Wilson PS, Carlin WV. Sensorineural hearing loss and ulcerative colitis. *J Laryngol Otol* 1997;111:277-8.
- Weber RS, Jenkins HA, Coker NJ. Sensorineural hearing loss associated with ulcerative colitis. A case report. *Arch Otolaryngol* 1984;110:810-2.
- Kanra G, Kara A, Secmeer G, Ozen H, Gurakan F, Akcoren Z, et al. Sensorineural hearing loss as an extra-intestinal manifestation of ulcerative colitis in an adolescent girl with pyoderma gangrenosum. *Eur J Pediatr* 2002;161:216-8.
- Karvonen AL, Rahko T, Vaajalahti P, Jouppila J. Intestinal inflammation associated with sensorineural deafness and iritis - an atypical Cogan's syndrome?. *Duodecim* 1988;104:1260-3.
- Jacob A, Ledingham JG, Kerr AI, Ford MJ. Ulcerative colitis and giant cell arteritis associated with sensorineural deafness. *J Laryngol Otol* 1990;104:889-90.
- Hoistad DL, Schachern PA, Paparella MM. Autoimmune sensorineural hearing loss: a human temporal bone study. *Am J Otolaryngol* 1998;19:33-9.
- MacDermott RP, Beale MG, Alley CD, Nash GS, Bertovich MJ, Bragdon MJ. Synthesis and secretion of IgA, IgM, and IgG by peripheral blood mononuclear cells in human disease states, by isolated human intestinal mononuclear cells, and by human bone marrow mononuclear cells from ribs. *Ann N Y Acad Sci* 1983;409:498-509.

15. MacDermott RP. Isolation and characterization of cytotoxic effector cells and antibody producing cells from human intestine. *Acta Chir Scand Suppl* 1985;525:25-43.
16. Jarjour WN, Jeffries BD, Davis JS 4th, Welch WJ, Mimura T, Winfield JB. Autoantibodies to human stress proteins. A survey of various rheumatic and other inflammatory diseases. *Arthritis Rheum* 1991;34:1133-8.
17. Peen E, Enestrom S, Skogh T. Distribution of lactoferrin and 60/65 kDa heat shock protein in normal and inflamed human intestine and liver. *Gut* 1996;38:135-40.
18. Stevens TR, Winrow VR, Blake DR, Rampton DS. Circulating antibodies to heat-shock protein 60 in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* 1992;90:271-4.
19. Elsaghier A, Prantera C, Bothamley G, Wilkins E, Jindal S, Ivanyi J. Disease association of antibodies to human and mycobacterial hsp70 and hsp60 stress proteins. *Clin Exp Immunol* 1992;89:305-9.
20. Ludwig D, Stahl M, Ibrahim ET, Wenzel BE, Drabicki D, Wecke A, et al. Enhanced intestinal expression of heat shock protein 70 in patients with inflammatory bowel diseases. *Dig Dis Sci* 1999;44:1440-7.
21. Lu XP, Omar RA, Chang WW. Immunocytochemical expression of the 70 kD heat shock protein in ischaemic bowel disease. *J Pathol* 1996;179:409-13.
22. Winrow VR, Mojdehi GM, Ryder SD, Rhodes JM, Blake DR, Rampton DS. Stress proteins in colorectal mucosa. Enhanced expression in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1994-2000.
23. Stulik J, Bures J, Jandik P, Langr F, Kovarova H, Macela A. The different expression of proteins recognized by monoclonal anti-heat shock protein 70 (hsp 70) antibody in human colonic diseases. *Electrophoresis* 1997;18:625-8.
24. Harris JP, Sharp PA. Inner ear autoantibodies in patients with rapidly progressive sensorineural hearing loss. *Laryngoscope* 1990;100:516-24.
25. Billings PB, Keithley EM, Harris JP. Evidence linking the 68 kilodalton antigen identified in progressive sensorineural hearing loss patient sera with heat shock protein 70. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995;104:181-8.
26. Reumaux D, Meziere C, Colombel JF, Duthilleul P, Mueller S. Distinct production of autoantibodies to nuclear components in ulcerative colitis and in Crohn's disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1995;77:349-57.
27. Venkatraman A, Ramakrishna BS, Shaji RV, Kumar S, Pulimood A, Patra S. Amelioration of dextran sulfate colitis by butyrate: role of heat shock protein 70 and NF-kappaB. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;285:G177-84.
28. Sukegawa Y, Kamiya S, Yagita A, Sugamata M, Atomi Y. Induction of autoimmune colitis by *Yersinia enterocolitica* 60-kilodalton heat-shock protein. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:1188-93.
29. Yagita A, Sukegawa Y, Maruyama S, Sato N, Atomi Y, Yamaguchi H, et al. Mouse colitis induced by *Escherichia coli* producing *Yersinia enterocolitica* 60-kilodalton heat-shock protein: light and electron microscope study. *Dig Dis Sci* 1999;44:445-51.
30. Bene L, Fust G, Huszti Z, Hernadi Z, Fekete B, Meszaros M, et al. Impaired humoral immune response against mycobacterial 65-kDa heat shock protein (HSP65) in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2002;47:1432-7.
31. Peetermans WE, D'Haens GR, Ceuppens JL, Rutgeerts P, Geboes K. Mucosal expression by B7-positive cells of the 60-kilodalton heat-shock protein in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;108:75-82.
32. Markesich DC, Sawai ET, Butel JS, Graham DY. Investigation on etiology of Crohn's disease. Humoral immune response to stress (heat shock) proteins. *Dig Dis Sci* 1991;36:454-60.
33. Szewczuk MR, Depew WT. Evidence for T lymphocyte reactivity to the 65 kilodalton heat shock protein of mycobacterium in active Crohn's disease. *Clin Invest Med* 1992;15:494-505.