

## DIAGNOSTYKA CELIAKII – BADANIA AUTOPRZECIWCIAŁ I DIAGNOSTYKA MOLEKULARNA

*Diagnostyka chorób o podłożu autoimmunizacyjnym stanowiła od początku istnienia DIAGNOSTYKI jej integralny element działalności. Potwierdzeniem tego był rozwój pracowni autoimmunologicznych, w których od 14 lat wykonuje się badania metodami immunofluorescencji, ELISA i ImmunoBLOT. Dzięki specjalistom związanym z pracowniami lekarze otrzymują wyniki badań opatrzone komentarzami, co stanowi istotną pomoc w ukierunkowaniu diagnostyki.*

*W zakresie diagnostyki celiakii, DIAGNOSTYKA może poszczycić się współpracą z odkrywcami przeciwciał przeciw endomyzjum – dziś niepodważalnego standardu w rozpoznawaniu choroby trzewnej. Przeciwciała przeciwko endomyzjum w klasie IgA zostały wykryte w 1983 r. w Laboratorium Kliniki Dermatologicznej Warszawskiej Akademii Medycznej przez Profesora Tadeusza Chorzelskiego i dr Jadwigę Sulej. Tam również został opracowany test do ich wykrywania, a współautorka testu – dr Jadwiga Sulej – pracuje w Laboratorium DIAGNOSTYKI i osobiście wykonuje te badania.*

*Dziś diagnostykę celiakii uzupełniamy o badania genetyczne – najnowsze osiągnięcie w tej dziedzinie i dlatego w artykule zwrócono szczególną uwagę na zaburzenia genetyczne jako czynnik patogenetyczny celiakii. Ponadto przedstawiono przegląd badań przeciwciał charakterystycznych dla celiakii: w tym przeciwciała przeciw deamidowanym peptydom gliadyny, które wnoszą nową jakość w ocenie przeciwciał przeciw gliadynie. Omówiono także znaczenie badań genetycznych. W oparciu o wytyczne NICE i ESPGHAN przedstawiono algorytmy postępowania w diagnostyce celiakii uwzględniające badania autoimmunologiczne i genetyczne.*

### WPROWADZENIE

Celiakia (choroba trzewna) jest to enteropatia zapalna jelita cienkiego o podłożu immunologicznym, powodowana trwałą nietolerancją glutenu, występująca u osób predysponowanych genetycznie.

### CELIAKIA - AUTOIMMUNIZACYJNA CHOROBA GENETYCZNA

Częstość występowania celiakii plasuje ją wśród najczęstszych zaburzeń o podłożu genetycznym. Szacuje się, że na chorobę trzewną choruje do 3% populacji, z czego 10-15% chorych nie jest poprawnie zdiagnozowanych (1, 2, 3). Przyczyną tego może być fakt, że objawy choroby często są niecharakterystyczne, skąpe lub też mogą naśladować inne schorzenia. Celiakia może ujawnić się w każdym wieku z różną symptomatologią u dzieci i dorosłych. Wykazano także, że choć zasadniczym elementem w patogenie choroby jest czynnik genetyczny, to jednak bodźcem do ujawnienia się choroby mogą być różne czynniki środowiskowe np. infekcja, zmiany hormonalne zachodzące w ciąży czy w okresie menopauzy (4).

### DIAGNOSTYKA CELIAKII

Rozpoznanie choroby trzewnej opiera się na kryteriach klinicznych, histopatologicznych i serologicznych. Istotnym elementem postępowania diagnostycznego są także badania genetyczne.

### Badania serologiczne w diagnostyce celiakii

Przeciwciała wykrywane w diagnostyce celiakii (6):

Przeciwciała przeciw czynnikowi zewnętrznemu wywołującemu celiakię	Autoprzeciwciała
Przeciwciała przeciw gliadynie (AGA)	Przeciwciała przeciwko endomyzjum (EMA) Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej (tTG) Przeciwciała przeciw retikulinie (ARA)

Badania swoistych przeciwciał stanowią bardzo ważny element rozpoznawania celiakii i kontroli diety bezglutenowej.

Do diagnostyki celiakii zaleca się wykonywanie badań autoprzeciwciał przeciw endomyzjum (ang. endomysial antibodies, EMA) i transglutaminazie tkankowej (ang. tissue transglutaminase antibodies, tTG) w proponowanym schemacie (7,8, 3, 6):

#### ■ Przesiewowe badania populacyjne:

Diagnostykę należy zaczynać od wykonania badania tTG i EMA w klasie IgA i IgG, ze względu na współwystępowanie niedoborów przeciwciał klasy A z celiakią.

#### ■ Podejrzenie celiakii, badania indywidualnego pacjenta:

Zaleca się w pierwszej kolejności wykonanie oznaczenia tTG w klasie IgA oraz ocenę stężenia przeciwciał IgA. Przeciwciała endomyzjalne stanowią badanie weryfikujące i zaleca się je wykonywać także w przypadku niejednoznacznych wyników badania transglutaminazy tkankowej. Jeżeli u pacjenta stwierdzono niedobór przeciwciał w klasie IgA powinno się wykonać badania tTG i EMA w klasie IgG.

Tab.1. Czulość i swoistość przeciwciał (13).

przeciwciała	Czulość %	Swoistość %
EMA IgA	85-98	97-100
tTG IgA	90-98	95-97
AGA IgA	80-90	85-95
AGA IgG	75-85	75-90

### Przeciwciała przeciw deamidowanym peptydom gliadyny

Przeciwciała przeciw gliadynie (ang. antigliadin antibodies, AGA) występują u ok. 80% chorych na celiakię (12, 11). Jednak metody, w których wykorzystuje się natywną gliadynę cechują się niższą czulością i swoistością w porównaniu do tTG i EMA (13, tab. 1). Mimo że mają ograniczoną wartość diagnostyczną mogą być wykorzystywane w kontroli diety bezglutenowej.

Najnowsze osiągnięcia naukowe pozwoliły jednak na wprowadzenie testów, w których wykrywa się przeciwciała przeciwko deamidowanym peptydom gliadyny (ang. deaminated gliadin peptides, DGP). DGP są to formy gliadyny powstające na skutek działania transglutaminazy tkankowej *In vivo*, odgrywające istotną rolę w patogenezie celiakii.

W przebiegu choroby trzewnej gluten poddawany jest działaniu tTG, która katalizuje reakcję deamidacji glutaminy do kwasu glutaminowego. Powstałe w ten sposób nowe formy antygenów, charakteryzujące się wysokim powinowactwem do heterodimerów HLA DQ2 i HLA DQ8 prezentowane są w blaszce właściwej limfocytom pomocniczym CD4+. W efekcie rozwija się proces zapalny prowadzący do zaniku kosmków błony śluzowej jelita cienkiego (14, 15, 16).

Przeciwciała przeciw deamidowanym peptydom gliadyny w klasie IgA mają porównywalną z tTG i EMA czulość i swoistość. To co je wyróżnia to znacznie wyższa czulość (94%) i swoistość (97%) dla przeciwciał w klasie IgG. **Dzięki temu przeciwciała przeciagliadynowe skierowane przeciwko deamidowanym jej formom, mogą być stosowane w badaniach przesiewowych do rozpoznawania choroby trzewnej, kontroli leczenia i przestrzegania diety bezglutenowej, szczególnie u pacjentów z niedoborami przeciwciał IgA. (3,6)**

Obecność autoprzeciwciał wskazuje na celiakię, jednak jej potwierdzenie wymaga ujawnienia zmian w obrazie histopatologicznym z biopsji jelita. W przypadku ujemnych wyników badań serologicznych u pacjentów, u których istnieje podejrzenie występowania choroby, zaleca się konsultację w wyspecjalizowanym ośrodku gastroenterologicznym (3, 6).

Tab. 2. Wskazania do wykonania przesiewowych badań serologicznych dzieci i dorosłych (wytyczne National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE 2009) (5, 3).

<b>Badania przesiewowe należy wykonać:</b>
<b>Gdy występuje którykolwiek objaw:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>· Przewlekła lub przewlekająca się biegunka</li> <li>· Niedożywienie lub zmniejszenie masy ciała (dzieci)</li> <li>· Utrzymujące się lub występujące bez uchwytnej przyczyny objawy ze strony układu pokarmowego (np. nudności, wymioty)</li> <li>· Uczucie zmęczenia</li> <li>· Przewlekły ból brzucha, kurcze lub wzdęcia brzucha</li> <li>· Ubytek masy ciała (gwałtowny lub nieoczekiwany)</li> </ul>
<b>U chorych na:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>· Autoimmunizacyjne choroby tarczycy</li> <li>· Zapalenie opryszczkowe skóry</li> <li>· Zespół jelita drażliwego</li> <li>· Cukrzycę typu 1.</li> </ul>
<b>U krewnych I stopnia chorych na celiakię</b>
<b>W przypadku innych objawów i schorzeń:</b>
choroba Addisona, brak miesiączki, afty jamy ustnej, choroby autoimmunizacyjne wątroby, małopłytkowość samoistna przewlekła, hipoplazja szkliwa, depresja, zespół Downa, padaczka, złamanie kości po niewielkim urazie, chłoniak, zaburzenia metaboliczne kości, mikroskopowe zapalenie jelita grubego, zaparcia, wzrost aktywności aminotransferaz bez uchwytnej przyczyny, nawracające poronienia, zmniejszenie gęstości mineralnej kośćca, sarkoidoza, zespół Sjogrena, zespół Turnera, łysienie bez uchwytnej przyczyny, zaburzenia płodności bez uchwytnej przyczyny.

Ocenę histopatologiczną w diagnostyce celiakii można pominąć w ściśle określonych przypadkach (rekomendacje European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN, 2010) (9):

Potwierdzenie celiakii nie wymaga biopsji jelita o ile spełnione poniższe warunki:

- dzieci z objawami celiakii
- wysoki poziom przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgA >10x górna granica wartości prawidłowych
- dodatnie wyniki badania EMA
- wykluczony niedobór IgA
- dodatnie wyniki badań genetycznych HLA DQ2 i/lub HLA DQ8

## Badania genetyczne

Z definicji celiakia jest schorzeniem o podłożu genetycznym, stąd badanie genotypu pacjentów stanowi istotny element diagnostyczny w ocenie ryzyka rozwoju tej choroby.

Rozwój choroby trzewnej warunkują allele II klasy układu HLA kodujące antygeny HLA-DQ2 lub HLA-DQ8.

U prawie wszystkich chorych na chorobę trzewną stwierdza się obecność HLA DQ2 i/lub DQ8 (Tab. 3). Niemniej występowanie genów HLA DQ2 i DQ8 w populacji zdrowych szacuje się na ok. 30%. Dlatego badanie genetyczne HLA DQ2 i DQ8 cechuje się wysoką ujemną wartością predykcyjną (NPV) i służy przede wszystkim do wykluczenia rozpoznania choroby trzewnej (3).

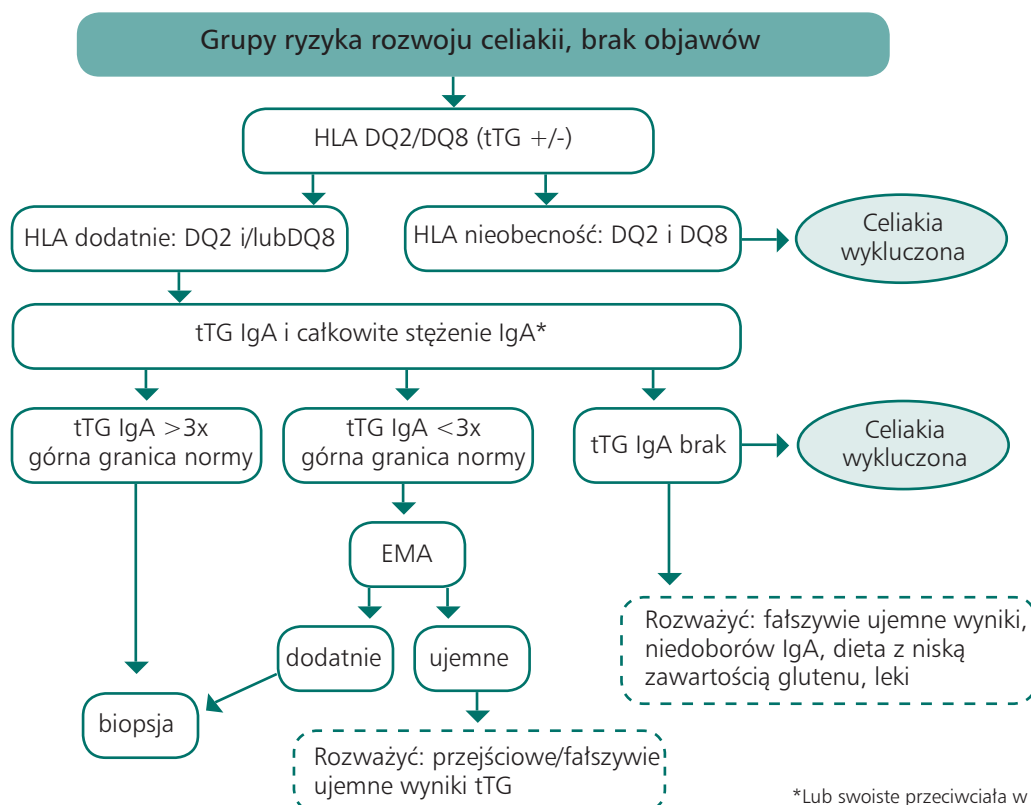
Tab. 3. Częstość wykrywania HLA DQ2 i DQ8 u chorych na celiakię (10, 6).

HLA allele	Chorzy na celiakię
DQ2	90-95%
DQ8	5-10%
<b>Brak HLA DQ2/DQ8 = niskie ryzyko rozwoju celiakii (&lt; 1%)</b>	

### Wskazania do wykonania badania genetycznego:

- Rozpoznanie celiakii potencjalnej
- Grupy ryzyka:
  - krewni pierwszego stopnia osób chorych na celiakię
  - pacjenci z cukrzycą typu 1.
  - pacjenci z zespołem Downa, Turnera i innymi schorzeniami genetycznymi często współwystępującymi z celiakią

Schemat 1. Algorytm postępowania diagnostycznego w przypadku bezobjawowych osób z grup ryzyka, uwzględniający badania genetyczne HLA DQ2/DQ8 (wg ESPGHAN, 2010)



## Badania dostępne w DIAGNOSTYCE

W laboratoriach DIAGNOSTYKI wykonujemy wszystkie badania przeciwciał wykorzystywanych w rozpoznawaniu celiakii. Ponadto w ofercie znajdują się także badania genetyczne na podstawie których ujawnia się predyspozycję genetyczną do zachorowania na chorobę trzewną.

### Badania serologiczne

Nr badania	Nazwa	Metoda
620	P/c. p. endomysium (EmA) w kl. IgA met. IIF	immunofluorescencja pośrednia
621	P/c. p. endomysium (EmA) w kl. IgG met. IIF	
622	P/c. p. endomysium (EmA) w kl. IgG i IgA (łącznie) met. IIF	
623	P/c. p. gliadynie (AGA) w kl. IgA met. IIF	
624	P/c. p. gliadynie (AGA) w kl. IgG met. IIF	
625	P/c. p. gliadynie (AGA) w kl. IgG i IgA (łącznie) met. IIF	
626	P/c. p. endomysium i gliadynie w kl. IgA (łącznie) met. IIF	
627	P/c. p. endomysium i gliadynie w kl. IgG (łącznie) met. IIF	
628	P/c. p. endomysium i gliadynie w kl. IgA i IgG (łącznie) met. IIF	
629	P/c. p. retikulinie (ARA) w kl. IgA met. IIF	
630	P/c. p. retikulinie w kl. IgG met. IIF	
631	P/c. p. retikulinie w kl. IgA i IgG (łącznie) met. IIF	
632	P/c. p. transglutaminazie tkankowej (anty-tTG) w kl. IgA met. ELISA	
633	P/c. p. transglutaminazie tkankowej (anty-tGT) w kl. IgG met. ELISA	
634	P/c. p. transglutaminazie tkankowej (anty-tGT) w kl. IgG i IgA met. ELISA	
3310	P/c. p. endomysium, retikulinie i gliadynie IgA	immunofluorescencja pośrednia
3311	P/c. p. endomysium, retikulinie i gliadynie IgG	
3312	P/c. p. endomysium, retikulinie i gliadynie IgA+ IgG (łącznie)	
3313	P/c. p. Endomysium i retikulinie IgA	
3314	P/c. p. endomysium i retikulinie IgG	
3315	P/c. p. endomysium i retikulinie IgA+ IgG (łącznie)	

### Badania genetyczne

897	Celiakia (HLA DQ2/DQ8)	PCR (EUROArray)
-----	------------------------	-----------------

#### Piśmiennictwo:

1. Di Sabatino A., Corazza G.R. 2009. *Lancet*. 25:1480-1493., 2. Troncone R., Ivarsson A., Szajewska H., Mearin M.L. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008. 27:1030-1043., 3. Szajewska H. 2009. *Pediatr. Współcz. Gastroenterol. Hepatol. Żywnienie Dziecka*. 11:3:89-92., 4. Ziółkowski B. 2005. *Przewodnik Lekarza*. 3:125-130., 5. National Institute for Health and Clinical Excellence. NICE clinical guideline. Źródło i data dostępu: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG86FullGuideline.pdf>; 27.04.2011., 6. Cukrowska B. 2009. *Współcz. Gastroenterol. Hepatol. Żywnienie Dziecka*. 11:3:93-97., 7. Trevisol C., Ventura A., Baldas V i wsp. 2002. *Scand. J. Gastroenterol.*, 8. Zegadło-Mylik M.A., Cukrowska B., Gregorek H. i wsp. w. *Recent advances in the knowledge (...) red. Korzon M., Walkowiak J., Kamińska B.* Wydawnictwo Adam Marszałek, Toruń 2006, 15-25., 9. M.L. Mearin. *ESPGHAN guidelines diagnosis coeliac disease children/adolescents. An evidence-based approach.* CDC 11 november 2010 źródło i data dostępu do źródła, [http://www.celiac-disease-consortium.nl/attachments/080\\_Mearin%20ESPGHAN%20CD%20WG%20voor%20CDC%20november%202010.pdf](http://www.celiac-disease-consortium.nl/attachments/080_Mearin%20ESPGHAN%20CD%20WG%20voor%20CDC%20november%202010.pdf); 27.04.2011, 10. Megjorini F., Mora B. Bonamico M. i wsp. 2009. *Hum. Immunol.* 70:55-59., 11. Tack G.J. 2010. *Nature Rev. Gastroenterol. and Hepatol.* 7: 204-213, 12. Cieślak D., Górska I., Kłincewicz P. i wsp. 2009. *Reumatologia*. 47:6:319-322, 13. Kaniewska M., Rydzewska G. 2009. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 4 (4):173-177., 14. *Choroby wewnętrzne. Red. A.Szczeklik.* 2010. *Medycyna Praktyczna*. Kraków., 15. Gomułka K., Demkow U. 2010. *Borgis-Nowa PEDIATRIA*. 2:44-49., 16. Korponay-Szabó I.R., Vecsei Z., Király R. i wsp. 2008. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 46 (3)