Razrada dijagnostičkog postupnika za celijakiju u djece mlađe od dvije godine starosti

Mišak, Zrinjka

Doctoral thesis / Disertacija

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:714905

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository





SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Zrinjka Mišak

Razrada dijagnostičkog postupnika za celijakiju u djece mlađe od dvije godine starosti

DISERTACIJA

Zagreb, 2009.

Disertacija je izrađena u Klinici za dječje bolesti Zagreb.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Sanja Kolaček, dr. med.

Zahvaljujem se prof dr. sc. Sanji Kolaček na stručnom vođenju i stalnim poticajima na rad. Zahvaljujem se i kolegama s odjela dr. Alemki Jaklin - Kekez, mr. sc. Olegu Jadrešinu, dr. Ivi Hojsak, dr. Slavenu Abdoviću, vms Ireni Rimac, vms Gordani Bukovina, Alojziji Boričević na pomoći i prijateljskoj podršci.

SADRŽAJ

UVOD 1

1. Povijesni pregled 2

2. Epidemiologija 3

3. Patogeneza 4

3.1. Okolišni čimbenici 4

3.2. Genetika 6

3.3. Imunologija 8

3.3.1. Stanična imunost 8

3.3.2. Humoralna imunost i autoimunost 10

4. Klinička slika 12

5. Pridružene bolesti 15

6. Komplikacije 18

6.1. Nemaligne komplikacije 18

6.2. Maligne komplikacije 19

7. Liječenje i prognoza 20

8. Dijagnoza celijakije 23

8.1. Biopsija sluznice tankog crijeva 23

8.2. Intraepitelni limfociti 26

8.3. Serologija 27

8.3.1. Antiglijadinska protutijela 27

8.3.2. Endomizijska protutijela 28

8.3.3. Protutijela na tkivnu transglutaminazu 29

8.4. Određivanje HLA 30

HIPOTEZA 33

CILJEVI 35

1. Cilj rada 36

2. Doprinos i očekivana primjena istraživanja 38

ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA 41

1. Ispitanici 42

2. Metode 45

2.1 Biopsija sluznice tankog crijeva 45

2.2 Serološke pretrage 45

2.2.1. Antiglijadinska protutijela 45

2.2.2. Endomizijalna protutijela 46

2.3. Određivanje HLA 46

3. Statističke metode 48

4. Etička podobnost 50

REZULTATI 51

1. Opći podaci 53

2. Ispitanici koji su kod postavljanja sumnje na celijakiju bili mlađi od 2 godine – skupina A 56

2.1 Opći podaci 56

2.2 Podaci iz osobne anamneze ispitanika 57

2.3 Podaci o prehrani 59

2.4 Klinička slika 61

2.5 Rezultati dijagnostičkih pretraga 64

2.5.1. Početna dijagnostika 64

2.5.1.a. Prva biopsija sluznice tankog crijeva 64

2.5.1.b. Intraepitelni limfociti na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva 69

2.5.1.c. Nalazi seroloških pretraga u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva 70

2.5.2. Druga biopsija sluznice tankog crijeva – za vrijeme bezglutenske prehrane 73

2.5.3. Završna dijagnostika 73

2.5.3.a. Treća biopsija sluznice tankog crijeva – nakon opterećenja glutenom 73

2.5.3.b. Serološke pretrage nakon opterećenja glutenom 75

2.5.4. HLA tipizacija 78

3. Ispitanici stariji od 2 godine kod postavljanja sumnje na celijakiju – skupina B 79

3.1 Opći podaci 79

3.2. Podaci o prehrani 79

3.3 Osobna i obiteljska anamneza 81

3.4. Podaci o kliničkoj slici 81

3.5. Rezultati dijagnostičkih pretraga 84

3.5.1. Prva biopsija sluznice tankog crijeva 84

3.5.2. Intraepitelni limfociti 87

3.5.3. Nalazi seroloških pretraga 88

3.5.4. Postavljanje konačne dijagnoze celijakije 90

4. Statistička analiza pojedinih čimbenika dijagnostičkog postupka: ROC i AUC krivulje za pojedine čimbenike te linearna regresija i odabir kombinacije najznačajnijih prediktivnih čimbenika 91

4.1. Nalaz biopsije sluznice tankog crijeva prema Marsh kriterijima 91
4.2. Broj IEL na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva 94
4.3. Serološke pretrage 98
4.4. Linearna regresija 109
4.5. Prijedlog dijagnostičkog postupnika za celijakiju u djece mlađe od dvije godine 111
4.6. Usporedba dijagnostičkih metoda: a) prema klasičnom postupniku i b) prema novom predloženom postupniku 113
RASPRAVA 115
1. Obilježja celijakije u djece mlađe od dvije godine 116
2. Važnost ranog otkrivanja celijakije 119
3. Dijagnostički kriteriji za celijakiju 123
3.1. Biopsija sluznice tankog crijeva 123
3.2. Uloga intraepitelijalnih limfocita u dijagnostici celijakije 125
3.3. Uloga seroloških pretraga u dijagnostici celijakije 127
3.4. Uloga određivanja HLA u dijagnostici celijakije 130
3.5. Zašto se nastoji pojednostaviti dijagnostički postupak? 130
3.6. Kako pojednostaviti dijagnostički postupak? 132
4. Provjera postavljene hipoteze 135
4.1. Usporedba ispitanika kojima je na kraju postavljena dijagnoza celijakije i onih kojima je celijakija nije potvrđena 135
4.2. Usporedba «novog i starog» dijagnostičkog postupnika 138
ZAKLJUČCI 140
SAŽETAK 146

SUMMARY 148

POPIS LITERATURE 150

PRILOG 175

ŽIVOTOPIS 181

KRATICE

AGA	antiglijadinska protutijela
AUC	površina ispod krivulje (engl. area under curve)
CTLA	engl. cytotoxic T lymphocyte antigen
ELISA	engl. enzyme-linked immunosorbent assay
EATL	engl. enteropathy associated T-cell lymphoma
EMA	endomizijska protutijela
ESPGHAN	Europsko udruženje za pedijatrijsku gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu (engl. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition)
HLA	humani leukocitni antigen
IEL	intraepitelni limfociti
MICA	engl. MHC calss I related A protein
ROC	engl. receiver operating characteristic
SMR	engl. standardized mortality ratio
TM	tjelesna masa
tTG	tkivna transglutaminaza
anti tTg	protutijela na tkivnu transglutaminazu
rh anti tTg	humano rekombitnantno protutijelo na tkivnu transglutaminazu

U V O D

Celijakija je imunološki posredovana kronična bolest tankog crijeva koja, u genetski predisponiranih osoba, nastaje kao posljedica trajne nepodnošljivosti glutena (sastojka pojedinih žitarica: pšenice, raži i ječma). Klinički se očituje malapsorpcijom, a histološki je označena atrofijom crijevnih resica, hiperplazijom Lieberkühnovih kripta i povišenim brojem intraepitelnih limfocita (1,2,3,4,5). Liječi se strogom doživotnom bezglutenskom dijetom, koja dovodi do potpune kliničke i histološke remisije (1,3,4,5).

1. Povijesni pregled

Celijakiju, kao bolest odraslih, po prvi puta spominje Aretej još u 2. stoljeću naše ere. Nakon toga, opis bolesti zaboravljen je tijekom nekoliko stoljeća i tek 1764. godine spominje se "Fluxus coeliacus" (1). Samuel Gee 1888. godine opisao je pojavu celijakije u djece u dobi od 1 do 5 godina starosti (1,2). U to vrijeme dijagnoza se zasnivala na kliničkoj slici, karakterističnom izgledu stolica i tipičnoj dobi u kojoj se bolest javljala. Tek početkom ovog stoljeća postalo je jasno da je uzrok celijakije poremećaj apsorpcije u tankom crijevu (6). Haas je 1920. godine pisao o dijeti s bananama kao načinu liječenja celijakije, ali tek 1950. godine nizozemski pedijatar Willem Karel Dicke iznio je tezu o ulozi glutena u nastanku bolesti (7,8). Prihvaćanje te teze i uvođenje bezglutenske dijete označilo je prekretnicu u liječenju celijakije.

Sredinom 50-tih godina Shiner u Engleskoj i Royer u Argentini konstruirali su, neovisno jedno o drugome, instrumente za peroralnu biopsiju sluznice tankog crijeva (1,9,10). Njihova primjena omogućila je da 1957. godine Margo Shiner

otkrije kako djeca s celijakijom imaju atrofiju resica u sluznici tankog crijeva (1,6,9). Dvanaest godina kasnije, 1969. godine u Interlakenu, Europsko društvo pedijatrijskih gastroenterologa postavilo je kriterije za dijagnozu celijakije na temelju biopsije sluznice tankog crijeva, koji su od tada revidirani, ali još uvijek predstavljaju osnovu dijagnoze (6).

2. Epidemiologija

Danas je opće prihvaćeno da je celijakija puno učestalija nego li se to ranije predmnijevalo i jedna je od najčešćih imunološki posredovanih poremećaja. Bolesnici s celijakijom opisani su u Europi, Sjevernoj i Južnoj Americi, sjevernoj Africi, na jugu i zapadu Azije te u Australiji (11,12). Prema studijama provedenim u različitim krajevima svijeta prevalencija celijakije kreće se od 0,5 do čak 1,99% (13,14,15,16,17,12,18,19,20). Studija probira celijakije u djece pokazale su slične rezultate (prevalencija celijakije od 1,3% u skupini djece u dobi od 2,5 godine, 1% u djece školske dobi te 1% u dobi od 7 godina, uz napomenu da je zadnja studija procijenjena samo na temelju serologije) (19,20,21,22).

U Hrvatskoj su pouzdani podaci o incidenciji i prevalenciji poznati tek odnedavno i to na temelju ispitivanja koje smo proveli u Međimurskoj županiji. U toj regiji, kumulativna incidencija klinički prepoznate celijakije (ispitivana tijekom 10-godišnjeg razdoblja u odnosu na ukupan broj živorođenih u ispitivanom razdoblju na ispitivanom području) iznosila 1.9:1000 ili 1:519 (23), a prevalencija (ispitivana u zdravih adolescenata) 1:461 (24).

3. Patogeneza

Celijakija nastaje kao posljedica interakcije okolišnih čimbenika i nasljedne dispozicije, no, još uvijek nisu u potpunosti razjašnjene sve pojedinosti patogeneze ove bolesti (5).

3.1. Okolišni čimbenici

Gluten je neophodan čimbenik za nastanak oštećenja sluznice tankog crijeva u bolesnika s celijakijom.

Gluten je sastojak pšeničnog brašna, netopiv u vodi, a složen je kao mješavina od najmanje 100 povezanih bjelančevina (25,26). Glavni sastojci glutena su glutenini i glijadini (25). Štetan je dio glutena topiv u alkoholu - u pšenici je to glijadin, u raži sekalin, a u ječmu hordein (12). Smatralo se ranije da glutenini nisu uključeni u patogenezu celijakije, ali pokazano je da i oni mogu stimulirati T stanice (26,27). Ranije se smatralo da je i zob štetna za bolesnike s celijakijom. Međutim, osim što zob ne pripada istoj porodici žitarica kao pšenica, raž i ječam te u zobi avenin čini samo 5-15% ukupne bjelančevine, dok u pšenici, raži i ječmu prolamini čine ukupno 30-50% ukupne bjelančevine (28), studije su pokazale da većina bolesnika s celijakijom tolerira zob u hrani (5,28,29,30,31,32).

Molekule glutena imaju visoki udio glutamina i prolina (35 i 15% od ukupnog aminokiselinskog sadržaja) (25). Zbog visokog udjela prolina, gluten se ne može potpuno probaviti u crijevu čovjeka (33). Nakon dodira sa žučnim, duodenalnim i pankreasnim enzimima ostane peptid od 33 aminokiseline uz, vjerojatno, i neke druge imunogene peptide. Međutim, smatra se da upravo taj

fragment započinje odgovor u predisponiranih osoba (34). Nije jasno kako peptidi glijadina ulaze u sluznicu, ali oštećenje nastalo infekcijom ili promjenom propusnosti u čvrstim vezama između stanica može biti od važnosti (12,16,35). Posljedična infiltracija CD4+ T stanica u laminu propriju i uglavnom CD8+ te CD4-CD8- u epitel odlika je aktivne celijakije (12).

Osim glutena vjerojatno postoje još neki okolišni čimbenici koji imaju ulogu u patogenezi celijakije. Velika studija provedena u Švedskoj pokazala je da postupno uvođenje glutena u prehranu dojenčeta koje se još doji značajno smanjuje rizik od pojave celijakije u ranoj dječjoj dobi, što je potvrđeno i meta-analizom provedenom na 4 studije (36,37). Osim toga, dulje dojenje povezano je sa smanjenim rizikom od celijakije. Međutim, za sada nije jasno je li dojenje samo odgađa pojavu simptoma ili pruža trajnu zaštitu od celijakije (37).

Kao ostali mogući okolišni čimbenici razmatrani su i unos velikih količina glutena, rano uvođenje kravljeg mlijeka u prehranu ili hrane koja sadrži gluten (38). Pokazano je da unos velikih količina glutena značajno povećava rizik od celijakije (36) te da uvođenje glutena u prehranu dojenčadi mlađe od 3 mjeseca 5 puta povećava rizik od pojave celijakične autoimunosti u usporedbi s djecom kojoj je uveden gluten u dobi od 4 do 6 mjeseci starosti (39).

Pojedina su ispitivanja potvrdila i da osobe s celijakijom imaju značajno višu prevalenciju infekcija adenovirusom tip 12. Naime, α-glijadin iz pšenice i adenovirus tip 12 posjeduju homologni slijed aminokiselina te stoga postoji mogućnost da tijekom infekcije, zbog molekularne mimikrije, dolazi do razvoja unakrsne preosjetljivosti (5).

3.2. Genetika

Brojna istraživanja potvrdila su postojanje nasljedne dispozicije za celijakiju. Nasljeđuje se poligeno, interakcijom više lokusa i okolišnih čimbenika (40). U monozigotnih blizanaca celijakija se javlja u oko 80% kod oba blizanca, a u dizigotnih u oko 30% (13,38). Pokazano je i da monozigotni blizanci imaju 70%, a dizigotni 9% kumulativne vjerojatnosti od razvijanja simptomatske ili tihe forme celijakije unutar 5 godina. Procjenjuje se, na temelju prevalencija od 1:91 i 1:1000, da je nasljedivost 87% odnosno 57% (38). Osim toga, celijakiju ima i 10-15% bolesnikovih srodnika u prvom koljenu, iako ih je uglavnom gotovo polovica bez simptoma bolesti (41), odnosno prevalencija iznosi 1:22, dok je rizik u drugom koljenu 1:39 (18).

Poznato je da više od 95% bolesnika s celijakijom nosi DQ2 ili DQ8 haplotip humanog leukocitnog antigena (HLA) II razreda glavnog kompleksa tkivne snošljivosti (42,43,44), dok ga u općoj populaciji ima u oko 30-40% osoba (44). Genski produkt je HLA DQ molekula koja se sastoji od heterodimera s teškim (α) i lakim (β) lancem, a geni koji kodiraju HLA DQ α i β lance su DQA1 i DQB1. Za HLA DQ molekule α i β lanci doprinose polimorfizmu i njihovih odgovarajući geni su visoko polimorfni. Većina bolesnika, više od 90%, ima DQαβ heterodimer kodiran s DQB1*02 i DQA1*0501 (DQ2) alelima (CELIAC1 lokus) u cis poziciji (na jednom kromosomu) u DR3 bolesnika ili u trans poziciji (na oba kromosom) u DR5/7 heterozigotnih bolesnika (13,43,45,46,47). Od preostalih 10% bolesnika većina nosi HLA DQA1*03 i HLA DQB1*0302 alele koji kodiraju HLA DQ8 (13,14). Bolesnici negativni i za DQ2 i DQ8 heterodimer obično imaju samo ili DQA1*05 ili DQB1*02 alele (48). Ispitivanje koje su Jurčić i sur. proveli u

Hrvatskoj pokazalo je da je HLA DQ2 zastupljen u 96% bolesnika s celijakijom (49). Kasnije provedeno ispitivanje u Hrvatskoj pokazalo je da je HLA DQ2 heterodimer prisutan u 93.7% bolesnika s celijakijom (u usporedbi sa 17.6% kontrola), a 4 bolesnika negativna na HLA DQ2 imala su ili HLA DQ8 ili jedan od DQ2 alela (50).

Međutim, iako oko 30-40% bijelaca ima DQ2 ili 8, samo manje od 3% će ih razviti celijakiju (35). Istraživanja su pokazala da HLA geni doprinose oko 40% u nasljedstvu celijakije, a ostalih 60% doprinosi nekoliko ili više gena izvan HLA sustava (45,51). Pretpostavlja se da ulogu u tome imaju geni CELIAC2 na kromosomu 5q31-33, CELIAC3 na kromosomu 2q23-32 te CELIAC 4 na kromosomu 19p13.2 (52). Na genskoj regiji 2q33 nalazi se skupina T limfocitnih imunoregulirajućih gena: CD28, CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4) i ICOS. CD 28 i CTLA4 su kostimulatorne molekule koje se vežu na B7 receptore na površini antigen prezentirajućih stanica i, zajedno s antigen specifičnim T staničnim receptorom, sudjeluju u aktivaciji T stanica. CD28 djeluje kao pozitivni regulator T stanica, dok CTLA4 pruža inhibirajući negativni signal, ima ulogu u kontroli proliferacije T stanica i posreduje u njihovoj apoptozi, a povezan je i s nekim drugim autoimunim bolestima (Gravesova bolest, diabetes mellitus tip 1) (40,53,54,55,56,57,58,59,60). Povezanost CTLA4 i celijakije istraživana je u više studija, ali rezultati nisu konzistentni budući da neke studije nisu potvrdile ovu povezanost (53), a neke su pokazale povezanost samo za grupu djece kod kojih se bolest rano očitovala (59).

Razlike vjerojatno proizlaze iz zemljopisnog podrijetla bolesnika i različitih specifičnih genetskih i okolišnih čimbenika. Odnosno, moguće je da su ovi geni izvan HLA sustava različito sadržani u različitim populacijama ovisno o okolišnim čimbenicima ili epistatskim genskim učincima (40,53).

Ispitivano je više gena kandidata, između ostalih i CD28 i ICOS koji se također nalaze na kromosomskoj regiji 2q33, a reguliraju aktivaciju T limfocita u imunološkom odgovoru. Pokazano je da je prošireni haplotip koji uključuje CD28/CTLA4 i 5' ICOS jače je povezan s bolesti nego haplotipovi zasebnih gena (61).

Osim navedenog, veća učestalost -308A čimbenika nekroze tumora α i +874T interferona γ alela, i kod hetero i homozigota, a najviše kada su prisutni istovremeno, može imati ulogu u stvaranju predispozicije za intoleranciju na gluten. Drugim riječima osobe pozitivne za -308A čimbenika nekroze tumora α i +847T interferon γ alele imaju povećani rizik za celijakiju (62).

3.3. Imunologija

U genetski predisponiranih osoba celijakija nastaje kao rezultat aktivacije i staničnog i humoralnog odgovora nakon izlaganja glutenu (63).

3.3.1. Stanična imunost

U sluznici tankog crijeva bolesnika s celijakijom nalazi se povišen broj T limfocita i u lamini propriji i intraepitelno (5).

Intraepitelni limfociti (IEL) su T stanice s citolitičkim i imunoregulatornim osobinama. Razlikuju se od sistemnih limfocita i u tankom crijevu više od 70% ih je CD4-/CD8+ (64,65,66). U normalnim okolnostima najčešće nose α/β receptore, no u bolesnika s celijakijom značajno je povišen udio s γ/δ receptorima (5,65,66,67). Čini se da je aktivacija IEL posredovana dodatno prirođenim, nespecifičnim imunološkim sustavom za razliku od antigen specifične aktivacije CD4+ T stanica (12). Naime,

ekspresija interleukin-15 citokina nakon nespecifičnog prirođenog imunog odgovora na gluten čini se ima centralnu ulogu u pokretanju različitih procesa koji vode do razaranja epitelnih stanica i oštećenja sluznice posredovanih intraepitelnim limfocitima (12,27). Pokazano je nedavno da najmanje jedan peptid (aminokiseline od 31-43) inducira povećanje proizvodnje interleukina 15 koji je povezan s indukcijom ekspresije MICA (engl. MHC class I related A protein) na enterocitima i ekspresije NKG2D receptora na IEL. Interakcija NKG2D na IEL i MICA na enterocitima dostatna je za aktivaciju T stanica i dovodi do direktnog oštećenja tkiva (27,68).

Glavna patogenetska uloga u nastanku lezije sluznice pridaje se, međutim, T limfocitima lamine proprije. To su uglavnom CD4+ stanice, tj. pomoćnički T limfociti, koji u velikom broju posjeduju i aktivacijske markere. Štoviše, iz sluznice bolesnika izolirani su klonovi T limfocita koji reagiraju s α glijadinom, ali samo ukoliko ga prikazuje antigen-prezentirajuća stanica koja nosi HLA-DQ2 ili DQ8 molekule. Tako stimulirani T limfociti stvaraju proupalne citokine poput čimbenika nekroze tumora i interferona γ - glavnog medijatora imunopatologije u celijakiji, za koje je dokazano da mogu uzrokovati leziju sluznice svojstvenu celijakiji (69,70).

Glijadinom inducirani T stanični odgovor sastoji se od specifične i prirođene, nespecifične komponente te je zbog toga gluten u literaturi nazvan i dvosjeklim mačem (25). Specifičnu komponentu predstavlja DQ2/DQ8 ograničeni CD4+ T stanični odgovor u lamini propriji (12,35). S druge strane, čini se da postoji i aktivacija prirođenog, nespecifičnog imunološkog odgovora koja prethodi ili je istodobna sa specifičnim odgovorom u tankom crijevu bolesnika s celijakijom te koja je uključena u odgovor intraepitelnih CD8+ T stanica (35,52). Ostaje otvoreno

pitanje na koji način prirođeni imunološki sustav prepoznaje gluten i da li samo specifični peptidi glutena započinju ovaj odgovor (52).

U genetski predisponiranih osoba koje nose HLA-DQ2 i DQ8 molekule, antigen prezentirajuće stanice prerade glutenske peptide bogate glutaminom i prolinom i prezentiraju ih gluten specifičnim CD4+ T stanicama (12). Jedan ovakav peptid koji se sastoji od 33 aminokiseline i otporan je na djelovanje probavnih enzima, snažan je aktivator specifičnih T stanica u bolesnika s celijakijom (34). Nakon što prepoznaju tako prezentirane glutenske peptide aktiviraju se T stanice i otpuštaju brojni citokini. Neki od ovih citokina (koje otpuštaju Th2 stanice) pokreću aktivaciju i klonalnu ekspanziju B stanica koje proizvode antitijela. Drugi citokini (koje otpuštaju Th1 stanice) posreduju u različitim upalnim mehanizmima, uključujući i lučenje metaloproteinaza iz fibroblasta, koji mogu oštetiti sluznicu. Još uvijek, međutim nisu poznati svi detalji koji dovode do oštećenja (12).

Općenito je prihvaćeno da imuni odgovor pokreće oštećenje sluznice tankog crijeva u bolesnika s celijakijom. Stoga, čini se da je aktivacija ovog razornog procesa ključ u pokretanju i progresiji bolesti (52).

3.3.2. Humoralna imunost i autoimunost

U serumu većine bolesnika s aktivnom bolesti mogu se dokazati IgA i IgG protutijela na glijadin. Međutim, IgG antiglijadinska protutijela (AGA) i u manjoj mjeri IgA protutijela moguće je naći i u serumima bolesnika s drugim gastrointestinalnim poremećajima, primjerice u Crohnovoj bolesti i alergijskim enteropatijama. Osim AGA, u serumu bolesnika s celijakijom otkrivena su i endomizijska protutijela (EMA) koja su visoko specifična. Premda mogu biti negativna u bolesnika s aktivnom celijakijom, posebno u djece do dvije godine

starosti, njihova prisutnost s visokom specifičnošću upućuje na glutensku enteropatiju. Istodobno nisu dokazana u drugim gastroenterološkim bolestima, a iz seruma bolesnika s celijakijom nestaju nekoliko mjeseci nakon provođenja bezglutenske prehrane (5).

Autoantigen s kojim EMA reagiraju u bolesnika s celijakijom je tkivna transglutaminaza (tTG) (71). To je velika skupina srodnih enzima koji u normalnim okolnostima kataliziraju stvaranje poprečnih veza između specifičnih glutamina i primarnih amina što dovodi do stvaranja izopeptidnih veza unutar jedne ili između dvije bjelančevine (12,72). Osim stvaranja ovih veza, tTG može i hidrolizirati (deamidirati) amidne grupe glutamina na nekoliko mjesta, mijenjajući time njegovu strukturu, i ujedno se s deaminiranim glijadinom vezati u stabilni kompleks (12,73,74,75,76,77,78,79,80). Glutamin čini 35% svih aminokiselina u glijadinu te zbog tako velike količine glutamina gluten predstavlja idealni supstrat za tTG (33,34,71,78,81). Vjeruje se da je ova modifikacija koju katalizira tTG ključni korak u imunološkom odgovoru u celijakiji (12,26,33,78). Naime, tako selektivno deamidiran i negativno nabijen glijadinski peptid ima puno veći afinitet za HLA DQ2 i DQ8 molekule i na taj način postaje moćni aktivator T stanica u bolesnika s celijakijom (45,72,73,74,75,76,77,78,79,80). To je ujedno i zadovoljavajuće objašnjenje za poznatu činjenicu da se celijakija javlja gotovo isključivo u HLA-DQ2 ili HLA-DQ8 pozitivnih osoba (82).

Još je upitno imaju li autoantitijela ulogu u patogenezi celijakije, iako postoji izvješće o slabom inhibitornom učinku antitijela na neke reakcije koje katalizira tkivna transglutaminaza, a i moguće je da su autoantitijela uključena u neke ekstraintestinalne manifestacije celijakije (npr. jetrene bolesti povezane s celijakijom, dermatitis herpetiformis) (68). Međutim, postojanje autoantitijela i autoantigena te

činjenica da bolesnici u visokom postotku nose DR3-DQ2 haplotip karakterističan za veliku većinu autoimunih bolesti, sve zajedno govori u prilog autoimune patogeneze celijakije (5). Iako su predloženi kriteriji za autoimuine bolesti (83), većina autoimunih bolesti zadovoljava samo uvjet postojanja autoantitijela ili samo-reaktivnih T stanica. Ovaj kriterij zadovoljava i celijakija, i iako nije poznata uzročna uloga glutena, celijakija se može okategorizirati kao autoimuna bolest (68).

Zaključno, jasno je da je celijakija složena bolest koja je posljedica zamršenog međuodnosa između različitih imunoloških, genetskih i okolišnih čimbenika čije mnoge aspekte još treba rasvijetliti (12).

4. Klinička slika

Celijakija se klinički može različito očitovati. Najčešće se, ovisno o prisutnosti simptoma, dijeli na simptomatsku, koja može imati tipičnu ili atipičnu sliku, i asimptomatsku (1,2,84).

Tipičnu kliničku sliku obično imaju bolesnici čija se bolest očituje tijekom prve dvije godine života i to kroničnim proljevom, izbočenim i napetim trbuhom, gubitkom tjelesne mase, povraćanjem te zastojem u napredovanju (1,2,4,6,84,85,86). Ponekad, iako rijetko, dojenčad se može prezentirati i celijakičnom krizom koju karakterizira eksplozivni vodeni proljev, značajna distenzija trbuha, dehidracija, hipotenzija i letargija, često praćeno s ozbiljnim elektrolitskim poremećajima koji uključuju i hipokalemiju, a mogu biti prisutni i drugi znakovi teške enteropatije i

malapsorpcije, kao što su hipoproteinemija, hipoprotrombinemija i hipokalcemični rahitis (6,87). Od ostalih kliničkih znakova bolesti česti su emocionalni simptomi (razdražljivost, nezadovoljstvo, zlovoljnost, mrzovoljnost), anoreksija, bolovi u trbuhu i gubitak mišićne snage (2,86,88) (Tablica 1).

Tablica 1. Najčešći simptomi kliničke prezentacije celijakije

Tipična klinička slika celijakije	**Atipična klinička slika** celijakije
(najčešće u djece mlađe od 2 godine)	(najčešće u starijih od 2 godine i odraslih)
- kronični proljev	- bol u trbuhu
- izbočeni i napeti trbuh	- opstipacija
- gubitak tjelesne mase	- zastoj u rastu, niski rast
- zastoj u napredovanju	- gubitak tjelesne mase
- povraćanje	- odgođeni pubertet
- anemija	- anemija
- razdražljivost	- ekstraintestinalni simptomi: osteoporoza,
- bolovi u trbuhu	rekurentne afte, amenoreja, infertilitet

U djece u koje je dijagnoza postavljena u dobi nakon dvije godine te u odraslih klinička slika obično je nejasnija: bol u trbuhu može biti jedini gastrointestinalni simptom, umjesto proljeva (koji je u ovoj dobi rijedak) može se javiti i opstipacija, a česti su i gubitak tjelesne mase, zastoj u rastu i niski rast te odgođeni pubertet (1,2,6,85,86,88). Od drugih ekstraintestinalnih simptoma mogu se

javiti anemija, osteoporoza, neurološki poremećaji (ataksija, periferna neuropatija, miopatija, encefalopatija te dječja epilepsija s okcipitalnim kalcifikacijama), slabost i mentalne promjene, rekurentne afte, angularni stomatitis, glositis, hipoplazija zubne cakline te amenoreja i infertilitet (2,4,35,84,85,89,90,91,92,93,94,95) (Tablica 1).

Herpetiformni dermatitis, kožna bolest s linearnim granularnim depozitima IgA, bilo u dermalnim papilama, bilo uzduž bazalne membrane, posebna je manifestacija celijakije, a ne pridružena bolest kako se to ranije smatralo (1,85). Simptomi, pruritus i simetrično raspoređene vezikule na laktovima, glutealnoj regiji i koljenima, povlače se na bezglutensku dijetu (1). Do 10% bolesnika s herpetiformnim dermatitisom ima i kliničke simptome sa strane probavnog sustava koji ukazuju na celijakiju, ali svi imaju promijenjenu sluznicu tankog crijeva različitog stupnja: od totalne atrofije do normalne arhitekure sluznice, ali s povećanim brojem γ/δ IEL-a (1,85,96).

Bolesnici s celijakijom mogu imati i tihi oblik bolesti: imaju promjene sluznice tankog crijeva tipične za celijakiju koje se normaliziraju uz bezglutensku dijetu, ali pokazuju samo nejasne, minimalne i/ili atipične simptome bolesti (1,6,85). Štoviše, poznato je da osoba može imati izgled sluznice tankog crijeva karakterističan za celijakiju i biti bez ikakvih simptoma ili znakova malapsorpcije (88). To je najčešće slučaj u bliskih srodnika bolesnika s celijakijom, u određenog broja bolesnika nakon opterećenja glutenom te u adolescenata koji su prekinuli bezglutensku dijetu i konzumiraju gluten (88,97). Udio simptomatskih bolesnika u ukupnom broju bolesnika s celijakijom procjenjuje se na najviše 30-40% i stoga se smatra da je celijakija, općenito uzevši, asimptomatska bolest (88).

Potencijalnu celijakiju imaju osobe s pozitivnim nalazom EMA i/ili anti-tTG, HLA DQ2 ili DQ8, ali uz normalnu ili blago promijenjenu sluznicu tankog crijeva (86).

U većini razvijenih zemalja posljednjih se godina dijagnoza celijakije postavlja češće u djece starije od dvije godine, što istovremeno prati i pad incidencije klasične kliničke slike. Na promjenu u kliničkoj slici celijakije mogli su utjecati s jedne strane okolišni čimbenici (dojenački gastroenteritisi i druge infekcije, duljina dojenja, vrijeme uvođenja glutena u dojenačku prehranu te količina uvedenog glutena), budući se genetska pozadina tijekom proučavanog vremena vjerojatno nije značajno mijenjala, a s druge strane i viša razina svjesnosti o celijakiji te bolje prepoznavanje i klinički nejasnijih slika (1,98).

5. Pridružene bolesti

U bolesnika s celijakijom češće se pridruženo javljaju sljedeće bolesti (35,86):

- endokrine bolesti: šećerna bolest tip 1, autoimuna bolest štitnjače, Addisonova bolest
- neurološki poremećaji: cerebelarna ataksija, neuropatija, epilepsija s intrakranijskim kalcifikacijama, migrena
- srčane bolesti: idiopatska dilatativna kardiomiopatija, autoimuni miokarditis
- jetrene bolesti: primarna bilijarna ciroza, povišene jetrene transaminaze, autoimuni hepatitis, autoimuni kolangitis

- ostalo: sideropenična anemija, hiposplenizam, Sjögrenov sindrom, artritis, Downov sindrom, Turnerov sindrom, alopecija areata, upalne bolesti crijeva, mikroskopski kolitis, Williamsov sindrom, IgA deficijencija

Odrasli bolesnici s celijakijom obolijevaju od autoimunih bolesti 10 puta češće nego opća populacija (63,99,100,101,102,103). To se ne odnosi samo na bolesnike s klinički jasnom bolesti već i na bolesnike s tihom celijakijom koji su najčešće neprepoznati, a time i neliječeni i dugotrajno izloženi glutenu (104,105,106). Ipak, čini se da trajanje izloženosti glutenu nema presudnu važnost u razvoju autoimunih bolesti (107).

U bolesnika sa šećernom bolesti tip 1 celijakija je 20 puta češća nego u općoj populaciji. Prevalencija celijakije u ovoj skupini kreće se od 1 do 16% ovisno o studiji (108,109,110).

Prevalencija autoimune bolesti štitnjače veća je 2,5 puta u bolesnika s celijakijom nego u kontrolnoj zdravoj populaciji. Ispitivanje provedeno u više centara u Italiji pokazalo je da i bolesnici koji su duže vrijeme na bezglutenskoj prehrani mogu razviti autoimuno oštećenje štitnjače, to jest da ih isključivanje glutena iz prehrane ne zaštićuje (103), za razliku od drugih studija koje su pokazale pad autoantitijela ili normalizaciju funkcije štitnjače nakon jedne godine bezglutenske prehrane (111,112).

Nedavno je objavljeno da i do 10% osoba koji boluju od Addisonove bolesti ima i celijakiju. Stoga, budući da simptomi mogu biti slični i liječenje Addisonove bolesti može prikriti celijakiju, treba uvijek misliti na povezanost ove bolesti s celijakijom i aktivno je tražiti (113,114).

U velikoj multicentričnoj talijanskoj studiji pokazana je učestalost celijakije od 4,6% u osoba s Downovim sindromom, a i ostale studije provedene u Europi pokazale su slične rezultate (od 3-8%) (86,115,116,117). Osim toga, nađena je i povišena prevalencija celijakije u Turnerovom sindromu (6,4%) (118) te u Williamsovom sindromu (9,5%) (119).

Učestalost celijakije u IgA deficijenciji iznosi od 0,7 do 30,7%, ovisno o studiji (120,121,122), to jest 10-20 puta je češća nego u općoj populaciji (123).

Aktivno treba tražiti celijakiju i kod osoba s povišenim nalazima jetrenih transaminaza nepoznatog uzroka (124,125). Naime, celijakija je nađena u do 10% bolesnika s kronično povišenim jetrenim transaminazama nepoznatog uzroka te u 3,5% bolesnika s nealkoholnom masnom bolesti jetre (124,125,126), iako studija provedena u Grčkoj to nije potvrdila (127). Međutim, kod probira bolesnika na celijakiju treba voditi računa o velikom postotku lažno pozitivnih nalaza anti tTG protutijela i time i niskoj specifičnosti testa u ovoj grupi bolesnika (125,127). S druge strane, poremećene vrijednosti jetrenih transaminaza i oštećenje jetre često se vide u celijakiji (u 15-55% bolesnika) iako patogeneza toga nije potpuno jasna budući da ova odstupanja obično ne koreliraju s malnutricijom i stupnjem oštećenja sluznice crijeva, ali se vrijednosti u više od 90% bolesnika vraćaju na normalne unutar nekoliko mjeseci od započinjanja bezglutenske prehrane (126,128). Smatra se, međutim, da poremećeni jetreni testovi u celijakiji mogu biti odraz klinički okultnog hepatobilijarnog poremećaja s mogućom zajedničkom imunopatogenezom ili biti rezultat poremećene apsorpcije i posljedične malnutricije u celijakiji (126).

Visoka prevalencija celijakije nedavno je objavljena i u odraslih s autoimunim bolestima žučnih vodova, kao što su primarna bilijarna ciroza, autoimuni kolangitis, primarni sklerozirajući kolangitis (129). I svi tipovi autoimunih

poremećaja jetre mogu biti povezani s celijakijom, a autoimuni hepatitis je najčešći od njih (124).

Prema studiji provedenoj u Italiji, prevalencija celijakije u reumatoidnom artritisu iznosila je 3,4%, a u sindromu Sjögren 2,5% što je bilo statistički značajno više nego u odrasloj općoj populaciji (0,18%) (130).

6. Komplikacije

Nedijagnosticirana, a time i neliječena celijakija predstavlja značajan problem zbog komplikacija koje sa sobom nosi. Istraživanje koje su proveli Corrao i sur. pokazalo je da stopa smrtnosti bolesnika s celijakijom, koja je dvostruko veća od očekivane, raste s vremenom koje je proteklo od pojave simptoma do postavljanja dijagnoze bolesti i s lošim pridržavanjem bezglutenske prehrane. Glavni uzrok smrti ovih bolesnika bio je non-Hodgkin limfom (131). Međutim, tri godine kasnije, West i sur. pokazali su samo blago povećanje rizika razvoja maligne bolesti i rizika od smrtnosti, i to prvenstveno tijekom prve godine nakon postavljanja dijagnoze (132).

Općenito, komplikacije se mogu podijeliti u nemaligne i maligne.

6.1. Nemaligne komplikacije

U nemaligne komplikacije donedavna se ubrajala većina ekstraintestinalnih simptoma, koji se danas smatraju dijelom kliničke slike. Stoga se danas ovdje ubrajaju još samo ulcerozni jejunoileitis te kolagena i refrakterna celijakija, koje mogu biti i premaligna stanja (5,133,134).

Za bolesnike koji imaju kliničku sliku celijakije, tešku malapsorpciju i u kojih simptomi, kao ni promjene na sluznici tankog crijeva (totalna atrofija resica) ne prolaze nakon 6 (ili 12) mjeseci bezglutenske dijete smatra se da imaju refrakternu celijakiju (63,133,134,135). Smatra se danas da je refrakterna celijakija početna manifestacija jasnog EATL (eng. enteropathy associated T-cell lymphoma, limfom T stanica povezan s enteropatijom), to jest da je premaligno stanje budući da se promijenjeni IEL klonovi mogu naći u 80% bolesnika s refrakternom celijakijom (133,134,135).

Ulcerozni jejunitis se obično javlja u 6-7. desetljeću života i prezentira se kroničnim bolovima u trbuhu, distenzijom trbuha, povišenom temperaturom, gubitkom na tjelesnoj masi, proljevom i često steatorejom. O ozbiljnosti ove komplikacije govore imunopatološki i molekularni dokazi da većina slučajeva, ako ne i svi, predstavljaju rani stadij T-staničnog limfoma (133).

6.2. Maligne komplikacije

Već 1989. godine Holmes je pokazao da bolesnici s celijakijom imaju 2 puta veći rizik od obolijevanja od maligne bolesti, odnosno 10 puta veći rizik za karcinom probavnog trakta i 43 puta veći rizik za limfom (136). Novije studije pokazale su nešto manje rizike, ali još uvijek veće nego u općoj populaciji. Tako je općenito rizik za razvoj maligne bolesti 1,3 puta veći kod bolesnika s celijakijom, za limfoproliferativne bolesti 2,6-4,8 puta, za karcinom jednjaka 4,2, a za karcinom tankog crijeva rizik i dalje 10 puta veći (132,133,137,138).

U celijakiji postoji povećani rizik za non-Hodgkin limfom, ali, osim za EATL, ovaj rizik puno je manji nego što se to ranije predmnijevalo

(137,139,140,141). I obrnuto, bolesnici s non-Hodgkin limfomom imaju povećani rizik od celijakije. Međutim, klinički tiha bolest nađena studijama probira rijetka je u bolesnika s non-Hodgkin limfomom, odnosno povećana učestalost celijakije odnosi se samo na klinički jasnu bolest (137,140) tako da dosadašnja ispitivanja nisu našla opravdanje za provođenje ranog probira na celijakiju u ovoj skupini bolesnika (141).

Što se ostalih malignih bolesti tiče, prema studiji provedenoj u Velikoj Britaniji celijakiju je imalo 13% bolesnika s adenokarcinomom i 39% bolesnika s limfomom tankog crijeva što je veća učestalost nego u općoj populaciji (142).

Čini se da bezglutenska dijeta ima zaštitni učinak, iako to ne mora biti tako kod EATL ili u bolesnika s celijakijom kojima je dijagnoza postavljena nakon 50 godina starosti (63).

7. Liječenje i prognoza

Liječenje celijakije provodi se strogom doživotnom bezglutenskom prehranom. To znači da je iz prehrane potrebno izostaviti pšenicu, raž i ječam i sve proizvode koje ih sadrže (143). Ranije su se kao bezglutenske namirnice računale one koje su imaju manje od 200ppm glutena, ali danas se prema Codex Alimentariusu bezglutenskim namirnicama smatraju samo one koje imaju manje od 20ppm glutena (87).

Zob, ukoliko je čista i nije kontaminirana drugim žitaricama (čak ni s malim količinama pšenice, raži ili ječma) sigurna je u više od 95% bolesnika, uključujući i djecu (28,31,32,63). Postoji međutim, mali dio bolesnika koji razvijaju T-stanični

odgovor na zob i zbog toga mogu imati i atrofiju sluznice iako se, osim što uzimaju zob, strogo pridržavaju bezglutenske prehrane (31).

Osim bezglutenske prehrane, bolesnici s klasičnom slikom malapsorpcijskog sindroma često zahtijevaju i dodatnu terapiju vitaminima i mineralima. Ponekad je potrebna i intravenska terapija kortikosteroidima – kod kritično bolesnih koji se prezentiraju s akutnom celijakičnom krizom koju označavaju teški proljev, dehidracija, gubitak na tjelesnoj masi, acidoza, hipokalcemija i hipoproteinemija te za rijetke bolesnike s glijadinskim šokom nakon opterećenja glutenom. Bolesnici s refraktornom celijakijom mogu zahtijevati također liječenje kortikosteroidima i drugim imunosupresivnim lijekovima uključujući azatioprin, ciklosporin pa čak i visoke doze kemoterapije (144).

Nedavna ispitivanja koja su pružila nova saznanja o molekularnoj osnovi ove bolesti otvorila su i mogućnosti za nove načine liječenja. Jedna od mogućnosti je i peroralna enzimska terapija (prolil endopeptidaza) kojom bi se u probavnom traktu ubrzala razgradnja glutena bogatog prolinom, naročito njegovog proteolitički stabilnog antigenog peptida. Na taj način bi se bolesnicima omogućilo da povremeno mogu unijeti manje količine glutena (145,146).

Nadalje, moguća mjesta terapijskog djelovanja su i inhibicija intestinalne tkivne transglutaminaze s ciljem prevencije selektivne deamidacije peptida glutena i blokiranje vezanja peptida glutena za HLA DQ2 ili DQ8 molekule. Od ostalih mogućih načina liječenja spominju se citokinska terapija te selektivna inhibicija adhezije leukocita što interferira s upalnim reakcijama (145).

Prognoza celijakije je odlična, ako se liječenje započne na vrijeme i ako se ono dosljedno provodi. Većina komplikacija (i malignih i nemalignih) prevenira se ranim otkrivanjem bolesti i doživotnim pridržavanjem bezglutenske prehrane (136,147). Bolesnik se treba redovito pratiti i savjetuje se odrediti prva kontrolna antitijela (anti tTG) 6 mjeseci nakon započinjanja bezglutenske prehrane i dalje 1x godišnje ili nešto rjeđe u asimptomatskih bolesnika kako bi se pratilo pridržavanje bezglutenske prehrane (87).

8. Dijagnoza celijakije

Sumnja na celijakiju postavlja se na temelju kliničke slike i laboratorijskih nalaza, ali konačna dijagnoza postavlja se na temelju nalaza biopsije sluznice tankog crijeva koja se smatra zlatnim standardom (148,149).

8.1. Biopsija sluznice tankog crijeva

Europsko društvo za pedijatrijsku gastroenterologiju i prehranu (ESPGAN, engl. European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition) postavilo je 1969. godine kriterije za utvrđivanje dijagnoze celijakije. Prema tim kriterijima za konačnu dijagnozu potrebne su tri biopsije sluznice tankog crijeva (2,6)

Klasični ESPGAN-ovi kriteriji za postavljanje dijagnoze celijakije temelje se na sljedećem (2,6,150,151):

1. U vrijeme postavljanja sumnje na celijakiju učini se prva biopsija sluznice tankog crijeva koja pokaže tipičan nalaz kojeg označava atrofija resica, hiperplazija kripti, povišen broj IEL.

+

2. Klinička i histološka remisija nakon uvođenja bezglutenske prehrane (nalaz druge biopsije sluznice tankog crijeva trebao bi biti uredan za vrijeme bezglutenske prehrane).

+

3. Histološki relaps sa ili bez kliničkog relapsa nakon opterećenja glutenom. Treća biopsija sluznice tankog crijeva pokaže ponovno promijenjen nalaz tipičan za celijakiju.

Ovaj niz od tri biopsije preporučen je zato što u dojenačkoj i ranoj dječjoj dobi promjene sluznice tankog crijeva u smislu totalne ili subtotalne vilozne atrofije nisu svojstvene samo celijakiji već se mogu naći i u enteropatiji zbog nepodnošenja kravljeg mlijeka, nakon virusnih enteritisa, u primarnim imunodeficijencijama, u bolesti presatka protiv domaćina (graft-versus-host reakciji) te u kroničnom proljevu drugih uzroka (1,150).

Međutim, u djece starije od dvije godine, nalaz atrofije sluznice tankog crijeva rijetko je uzrokovan drugim stanjima osim celijakijom (6). Uz to, otkriće specifičnih protutijela korisnih za dijagnostičke testove dovelo je 1989. godine do uvođenja revidiranih ESPGAN-ovih kriterija. Prema ovim revidiranim kriterijima, u djece starije od dvije godine dijagnoza celijakije postavlja se na temelju:

1. tipične kliničke slike i histološkog nalaza prve biopsije karakterističnog za celijakiju,

+

2. potpune kliničke remisije nakon uvođenja bezglutenske prehrane (4).

Drugim riječima, opterećenje glutenom i daljnje biopsije više se ne smatraju nužnima za utvrđivanje konačne dijagnoze celijakije (4). Međutim, to vrijedi samo u djece starije od dvije godine dok je u djece mlađe od dvije godine i dalje potrebno provesti opterećenje glutenom i sve tri biopsije sluznice tankog crijeva. Osim toga, ako postoji sumnja u dijagnozu i u bolesnika starijih od dvije godine, potrebno je također provesti opterećenje glutenom i sve tri biopsije sluznice tankog crijeva (6,150).

Bioptat sluznice tankog crijeva može se dobiti endoskopskim putem iz dubokog duodenuma ili uz pomoć peroralne kapsule za biopsiju. Promjene sluznice kod bolesnika s celijakijom zahvaćaju proksimalni dio tankog crijeva i stupanj oštećenja postupno se smanjuje prema distalnom kraju, iako se u težim slučajevima promjene mogu protezati i u ileum. Ponekad promjene mogu biti mjestimične ne zahvaćajući jednakomjerno cijelu sluznicu pa se savjetuje uzeti više bioptata za histopatološku analizu (63,152).

Histopatološki nalaz bioptata je standardiziran i prema Marshovim kriterijima (kasnije dopunjeni kao Marsh-Oberhuberovi kriteriji) promjene se dijele na sljedeći način (149,153,154,155):

Stupanj 0: Preinfiltrativna lezija

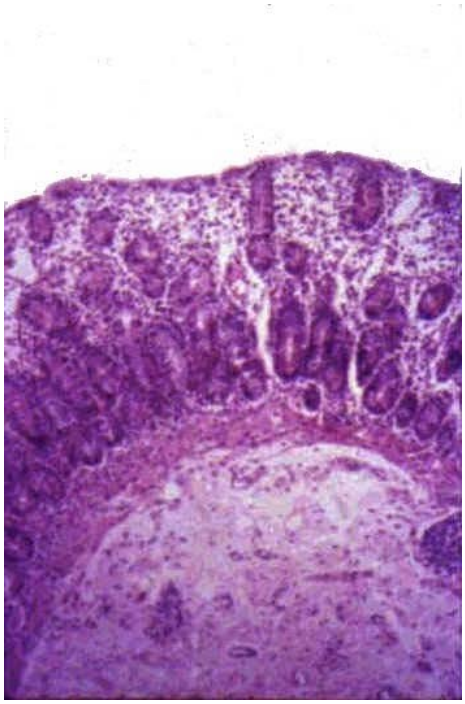
Stupanj I: Infiltrativna lezija – nalazi se normalna arhitektura sluznice, ali uz povećani broj IEL-a (>25/100 enterocita)

Stupanj II: Hiperplastična lezija – uz povećani broj IEL, nalazi se povećana dubina kripti, ali uz normalnu visinu resica

Stupanj III: Destruktivna lezija: nalazi se atrofija resica (A blaga ili parcijalna, B subtotalna, C totalna – slika 1) i hipertrofija kripti

Stupanj IV: Hipoplastična lezija – nalazi se atrofija resica te normalna dubina kripti i broj IEL (prema originalnim Marshovim kriterijima ovaj stadij predstavljao je krajnji, ireverzibilni stadij oštećenja sluznice u celijakiji, međutim, budući da se razvojem novih histokemijskih i molekularnih metoda može s većom sigurnošću nego do sada postaviti dijagnoza kompliciranih oblika bolesti u nekim novijim radovima predlaže izostaviti ovaj stadij (155)).

Slika 1. Destruktivna lezija sluznice tankog crijeva – Marsh IIIc



8.2. Intraepitelni limfociti

Povećani broj IEL-a neophodan je za postavljanje histološke dijagnoze celijakije. Tradicionalna gornja granica normale za broj IEL-a, određena na temelju biopsija jejunuma prije 30 godina bila je 40/100, dok su novija istraživanja pokazala da bi kao gornju granicu normale trebalo uzimati 25 IEL/100 epitelnih stanica (65,149,156).

Međutim, izolirano povišeni broj IEL u bioptatu sluznice tankog crijeva nespecifičan je nalaz, ali bi morao uvijek potaknuti sumnju na celijakiju čak i ako nema atrofije resica i hiperplazije kripti (65,66). Osim u celijakiji, broj IEL može biti povišen i u sljedećim bolestima: tropska spru, autoimune bolesti, korištenje nesteroidnih protuupalnih lijekova, Crohn kolitis, mikroskopski kolitis te bakterijsko prerastanje, parazitarne infekcije te Helicobacter pylori pozitivan gastritis (66).

Stoga se postavlja pitanje kako postaviti dijagnozu u graničnim slučajevima, ako u nalazu biopsije sluznice tankog crijeva postoji samo infiltrativna lezija budući da je diferencijalna dijagnoza široka. U takvim slučajevima ako postoji i pozitivan nalaz specifičnih antitijela, ako je HLA DQ2 ili DQ8 pozitivan i ako se pokaže pozitivan odgovor na bezglutensku dijetu, odnosno pogoršanje nakon opterećenja glutenom, dijagnoza celijakije bit će vjerojatnija. Pomoći može i pozitivna obiteljska anamneza na celijakiju, prateća autoimuna bolest, povišeni udio γδ IEL (osjetljivost 84%, specifičnost 91%). Niti jedan ovaj test nije sam za sebe dovoljan za dijagnozu, ali svi se trebaju uzeti u obzir (66).

8.3. Serologija

Određivanje serumskih protutijela koristi se u probiru bolesnika za invazivniju dijagnostiku, to jest za biopsiju sluznice tankog crijeva te u praćenju oboljelih i njihovog pridržavanja bezglutenske prehrane. Određuju se najčešće IgG i IgA AGA, EMA te anti-tTG (157).

Osjetljivost i specifičnost seroloških markera dosta se razlikuje od studije do studije zbog pristranosti u izboru pacijenata, populacijskom razlikama te različitim metodologijama (12).

8.3.1. Antiglijadinska protutijela

IgG AGA su visoke osjetljivosti i pozitivna su u 90 - 95% bolesnika s celijakijom. No, njihova je specifičnost niska (50%) jer su prisutna i u drugim bolestima tankog crijeva (nepodnošenje kravljeg mlijeka, IgA nefropatija, Crohnova

bolest, eozinofilni enteritis, …). IgA AGA su specifičnija, ali manje osjetljivosti, te se stoga koriste u kombinaciji s IgG protutijelima (44,157).

8.3.2. Endomizijska protutijela

IgA EMA imaju visoku i osjetljivost (u djece 88-100%, u odraslih 85-86%) i specifičnost (koja dosiže do 100%) (148,158,159,160,161). U pojedinih bolesnika s celijakijom mogu biti negativna, jer se u serumu mogu pojaviti tek nakon nekoliko godina trajanja bolesti. To objašnjava i zašto su obično negativna u djece u prvih nekoliko godina života (162,163). Osim toga, u 2 - 3% bolesnika s celijakijom istodobno je prisutan i prirođeni nedostatak IgA te će u tih bolesnika i IgA AGA i IgA EMA biti lažno negativni (163,164). Prema tome, negativna EMA ne isključuje postojanje celijakije i stoga kada se u kliničkoj praksi sumnja na celijakiju potrebno je učiniti biopsiju sluznice tankog crijeva čak i kada su serološki testovi negativni (160).

Kombinacija AGA i EMA testa ima 100% osjetljivost i 98-100% negativnu prediktivnu vrijednost, što znači da gotovo ne postoji lažno negativnih bolesnika (ali mogu postojati lažno pozitivni!) te je ova kombinacija testova korisna za selekcioniranje bolesnika kojima je potrebna biopsija sluznice tankog crijeva (44,157). Iako, studija Reeves i sur. je pokazala da je anti tTG osjetljiva i specifična alternativa EMA u probiru na celijakiju dok se određivanje AGA više ne čini neophodnim u dijagnostičkoj strategiji celijakije kod odraslih zbog svoje niske specifičnosti (87,165). Međutim, u djece mlađe od dvije godine i dalje se savjetuje koristiti AGA što potvrđuje i retrospektivno ispitivanje provedeno u Italiji koje je pokazalo da je u djece mlađe od dvije godine AGA osjetljiviji od anti-h-tTG iako je

imao nisku specifičnost (166,167). Što se tiče pozitivne prediktivne vrijednosti, samo EMA (91,5%) i anti tTG (100%) imaju praktičnu vrijednost (44).

8.3.3. Protutijela na tkivnu transglutaminazu

Otkrivanjem tkivne transglutaminaze, otvorila se mogućnost određivanja specifičnog protutijela na tTG metodom ELISA (engl. enzyme-linked immunosorbent assay) umjesto standardnom metodom za otkrivanje EMA - indirektnom imunoflourescencijom na tkivu jednjaka majmuna. Ova specifična protutijela na tTG (anti tTG) imaju u bolesnika s celijakijom dinamiku sličnu dinamici EMA, stvaraju se u sluznici crijeva samo u prisustvu glutena, a ponekad je nužno i više godina da se pojave u serumu bolesnika (44,168,169).

Određivanje prisutnosti IgA tTG protutijela vrlo je specifičan pokazatelj celijakije i precizan instrument za probir na celijakiju (158,170,171), naročito u genetski predisponiranih osoba koji imaju tipične HLA-DQ haplotipove (115). Nedavno objavljena meta-analiza na temelju 21 studije potvrdila je važnost određivanja humanog IgA anti tTG u dijagnostičkom pristupu celijakiji i u studijama probira zbog svoje visoke osjetljivosti i specifičnosti, pokazavši da je osjetljivost testa i za rekombinantni i pročišćeni humani tTG iznosila 94%, a za tTG zamorca 91% te specifičnost 95% i 94% za humane tTG i 89% za tTG zamorca (172).

U djece s IgA deficijencijom IgA anti tTG test može se zamijeniti određivanjem IgG anti tTG (specifičnost 95%, osjetljivost oko 40%) (12,160,173,174,175).

Za napomenuti je međutim, da anti tTG ima manju specifičnost od EMA, budući da može biti pozitivan i u odsutnosti celijakije kao što je opisano kod bolesnika sa šećernom bolesti te kroničnom jetrenom bolesti (148,176).

Iako su nalazi ovih seroloških pretraga velika pomoć u dijagnostici celijakije, konačna dijagnoza ne može se postaviti samo na temelju jednog od ovih protutijela niti njihove kombinacije, jer postoje i lažno pozitivni i lažno negativni rezultati (157,173). Stoga biopsija sluznice tankog crijeva i dalje ostaje zlatni standard u dijagnostici, posebno u djece mlađe od dvije godine, a određivanje protutijela pruža korisnu dodatnu dijagnostičku informaciju (173,176,177).

8.4. Određivanje HLA

Do sada se u nekoliko studija pokušalo odgovoriti na pitanje kako se celijakija može isključiti u slučajevima kada prva biopsija nije tipična i pomažu li pritom serološki nalazi ili HLA tipizacija. Naime, osim što nije invazivno, određivanje HLA DQ jeftinije je od kontrolnih biopsija u praćenju bolesnika s celijakijom. Međutim, sam pozitivni nalaz ne potvrđuje dijagnozu jer su ovi HLA tipovi česti i u općoj populaciji, ali važnost određivanja HLA DQ heterodimera je u njegovoj visokoj negativnoj prediktivnoj vrijednosti (67,148). Kaukinen i sur. su pokazali da je određivanje HLA DQ2 i HLA DQ8 korisno u isključivanju celijakije (vjerojatno doživotnom) u osoba s nesigurnim histološkim nalazom sluznice tankog crijeva. Međutim, ova metoda ima nisku specifičnost i to treba imati na umu (42). Nadalje, ispitivanje Hadithi i sur. pokazalo je da negativni serološki testovi ne isključuju celijakiju, ali i da celijakija nije dokazana niti u jedne osobe s negativnim i HLA DQ2 i HLA DQ8 i negativnom serologijom (178). Pokazano je, međutim, da se

samo u rijetkih osoba koje nemaju HLA DQ2 ili HLA DQ8, razvije tipična celijakija, što bi potencijalno moglo biti od koristi u dijagnostici celijakije (43,45,67). Ispitivanje provedeno u Velikoj Britaniji pokazalo je da celijakičari negativni i za HLA DQ2 i za HLA DQ8 obično imaju dio DQ2 heterodimera što ukazuje da bi to moglo biti dovoljno za povećanje afiniteta DQ heterodimera za vezanje i prezentiranje glutenskih dijelova (179). Nizozemsko istraživanje pokazalo je pak da je 14% njihovih bolesnika s parcijalnom atrofijom sluznice tankog crijeva bilo HLA DQ2/8 negativno. Postoji mogućnost da to uopće nisu celijakičari, tj. da je dijagnoza pogrešno postavljena iako je kod svih došlo do kliničkog odgovora na bezglutensku prehranu. S druge strane, ovo može značiti da je HLA DQ2/8 povezan s težinom intestinalne lezije (180).

Budući da je biopsija sluznice tankog crijeva invazivna metoda, postavlja se pitanje može li se u u praćenju bolesnika zamijeniti nekom manje invazivnom metodom. Tako su Sategna-Guidetti i sur. ispitivali učinkovitost seroloških markera i iskaza o prehrani u predviđanju izgleda sluznice tankog crijeva nakon započinjanja bezglutenske prehrane. Međutim, pokazali su da se niti serološki markeri niti iskaz o prehrani ne mogu smatrati pouzdanim prediktorima histološkog nalaza na bezglutenskoj prehrani i da se biopsija i dalje smatra najboljim načinom potvrđivanja oporavka sluznice na bezglutenskoj prehrani (187).

Zaključno, celijakija je kronična bolest tankog crijeva od koje boluje oko 1:100 osoba, a koja ako je neliječena nosi sa sobom brojne komplikacije i skraćuje životni vijek bolesnika. Dijagnoza bolesti postavlja se, prema postojećim

ESPGHAN-ovim kriterijima, na temelju tri biopsije sluznice tankog crijeva u djece mlađe od dvije godine, a u starijih na temelju jedne, tipične biopsije i pozitivnog kliničkog odgovora na isključivanje glutena iz prehrane. Ovakav dijagnostički postupak na temelju tri biopsije dugotrajan je (obično tijekom nekoliko godina) i invazivan, no prema sadašnjim saznanjima neophodan. Osim toga, ispitivanja o celijakiji u dobnoj skupini mlađoj od dvije godine u svijetu su rijetka i s malim brojem ispitanika što nama otvara mogućnost razraditi dijagnostički postupnik i za ovu dobnu skupinu.

H I P O T E Z A

Hipoteza

Prema trenutno važećim kriterijima Europskog društva za pedijatrijsku gastroenterologiju i prehranu, u djece mlađe od dvije godine dijagnoza celijakije postavlja se na temelju tri biopsije sluznice tankog crijeva: kod postavljanja sumnje na celijakiju, tijekom bezglutenske prehrane i nakon opterećenja glutenom. To je dugotrajan, skup i iscrpljujući postupak pa se nameće potreba za njegovo skraćivanje i pojednostavljivanje. I dok se u Europi posljednjih godina slika pojavnosti celijakije mijenjala na način da se sve više djece klinički očituje nakon navršene dvije godine života, u Hrvatskoj još uvijek značajan udio bolesnika čine djeca mlađa od dvije godine što nam pruža mogućnost da na dovoljnom broju ispitanika provjerimo postoji li mogućnost promjene klasičnih kriterija u ovoj dobi. Stoga je postavljena sljedeća hipoteza:

Za dijagnozu celijakije u djece mlađe od dvije godine nužni su:

jedna biopsija sluznice tankog crijeva

+

odgovarajuća kombinacija seroloških pretraga

+

pozitivan odgovor na bezglutensku dijetu

Takav dijagnostički postupnik bio bi brži, jednostavniji i jeftiniji, a za dijete i njegovu obitelj puno prihvatljiviji u odnosu na sadašnji.

C I LJ E V I

1. Cilj rada

Budući da se hipoteza ovog rada odnosi na promjenu dijagnostičkog postupnika celijakije za djecu mlađu od 2 godine, ciljevi ispitivanja usmjereni su na obradu svakog pojedinačnog dijagnostičkog čimbenika i na njihovo razvrstavanje u najučinkovitiji redoslijed.

Stoga su **glavni ciljevi** ovog istraživanja sljedeći:

a) u dijagnostici celijakije u djece mlađe od dvije godine odrediti prediktivnu ulogu sljedećih parametera:
   - seroloških pretraga:
     - IgA AGA
     - IgG AGA
     - EMA
   - biopsije sluznice tankog crijeva:
     - Marsh kriterij
     - broj IEL
   - HLA DQ heterodimera

b) definirati slijed pretraga, postupnik, temeljem kojeg se u djece mlađe od dvije godine može postaviti dijagnoza celijakije

Osim toga, ciljevi su i

c) odrediti učestalost bolesnika kojima trećom biopsijom nije potvrđena dijagnoza, a imali su tipičan nalaz prve biopsije i dobar klinički odgovor na bezglutensku prehranu;

d) usporediti skupinu djece kojima je trećom biopsijom potvrđena dijagnoza celijakije i skupinu djece kojima nije potvrđena dijagnoza celijakije u odnosu na:

- vrijeme uvođenja glutena u dohranu,
- trajanje dojenja,
- učestalost crijevnih infekata,
- postojanje alergije na hranu,
- način kliničke prezentacije bolesti i
- rezultate dijagnostičke obrade;

e) usporediti skupinu djece kojima je prva biopsija sluznice tankog crijeva učinjena u dobi mlađoj od dvije godine sa skupinom djece kojima je prva biopsija učinjena u dobi nakon navršene druge godine života u odnosu na:

- vrijeme uvođenja glutena u dohranu,
- trajanje dojenja,
- učestalost crijevnih infekata,
- postojanje alergije na hranu,
- način kliničke prezentacije bolesti i
- rezultate dijagnostičke obrade.

Očekivana primjena ovog ispitivanja je izrada postupnika za postavljanje dijagnoze celijakije u djece mlađe od dvije godine.

2. Doprinos istraživanja

Rezultati ovog istraživanja pokazat će je li moguće postaviti dijagnozu celijakije u djece mlađe od dvije godine s manje od tri biopsije sluznice tankog crijeva. Na taj će se način:

a) smanjiti trauma djeci od ponavljanja invazivnih pretraga i hospitalizacija;

b) smanjiti trauma djeci od ponovnog ukidanja glutena iz prehrane nakon što je isti uveden u okviru opterećenja u dijagnostičkom postupku prije treće biopsije sluznice tankog crijeva;

c) izbjeći oštećivanje sluznice tankog crijeva; naime, ukoliko se dijete neće morati opterećivati glutenom u okviru dijagnostičkog postupka, izbjeći će se svjesno oštećivanje sluznice tankog crijeva do kojeg neizostavno dolazi ako bolesnici s celijakijom uzimaju gluten u hrani, a koje može imati i trajne posljedice poput primjerice oštećenja cakline trajnih zubi;

d) skratiti vrijeme koje je potrebno da bi se došlo do konačne dijagnoze
   - prema postojećim dijagnostičkim kriterijima, koji zahtijevaju tri biopsije sluznice tankog crijeva, za postavljanje konačne dijagnoze potrebno je i nekoliko godina (opterećenje glutenom obično se ne radi prije navršenih 5 godina)
   - tijekom razdoblja između prve i treće biopsije tankog crijeva, to jest prije opterećenja glutenom bolesnici su možda nepotrebno na bezglutenskoj prehrani;

e) smanjiti troškove zbog uzastopnih hospitalizacija i dodatne medicinske obrade za svaku sljedeću biopsiju sluznice tankog crijeva, ako se biopsija

sluznice radi pomoću kapsule te zbog potreba opće anestezije ili sedacije, ako se radi endoskopski.

Doprinos ovog istraživanja značajan je za bolesnike i njihove liječnike, ne samo u našoj zemlji, nego i u svijetu. Naime, kod nas se u oko 50% bolesnika celijakija očituje tijekom prve dvije godine života klasičnom slikom bolesti (23), a u drugim se zemljama to obično događa u starijim dobnim skupinama i s atipičnom slikom. Stoga je ovakovo istraživanje u većini zemalja gotovo nemoguće provesti zbog premalog broja bolesnika mlađih od dvije godine, a istodobno naši će rezultati biti primjenjivi u bilo kojoj sredini.

Nadalje, ispitivanje će pokazati ulogu pojedinih pretraga (npr. određivanja HLA DQ heterodimera) u dijagnostički nejasnim/netipičnim slučajevima kao što su djeca koja imaju nalaz prve biopsije tipičan za celijakiju, dobar odgovor na bezglutensku dijetu, ali nakon opterećenja glutenom i dalje imaju uredan nalaz biopsije sluznice tankog crijeva. Budući da se može raditi o "kasnim relapserima" (prema engl. late relapsers, oni kojima će se bolest vratiti, to jest koji će recidivirati kasnije) za sada su kontrolne biopsije potrebne radi konačnog postavljanja dijagnoze te po potrebi i uvođenja liječenja. Rezultati ovog ispitivanja pokazat će je li moguće kod ove djece smanjiti broj biopsija (kojih sada ima tri i više) kojima će se potvrditi ili isključiti dijagnoza celijakije.

Ispitivanje će pokazati i postoji li razlika među djecom sa sigurnom dijagnozom celijakije i onih kojima treća biopsija nije potvrdila dijagnozu u načinu

prehrane tijekom dojenačke dobi, vremenu uvođenja glutena te o učestalosti crijevnih infekcija.

Zaključno, ispitivanja o celijakiji u dobnoj skupini mlađoj od dvije godine u svijetu su rijetka i s malim brojem ispitanika što nameće nužnost da se ovim ispitivanjem konačno razradi jednostavniji postupnik i za ovu dobnu skupinu.

I S P I T A N I C I

I M E T O D E

I S T R A Ž I V A NJ A

Ovo ispitivanje dio je znanstveno-istraživačkog projekta pri Ministarstvu znanosti i tehnologije Republike Hrvatske pod nazivom "Celijakija u djece: dijagnostika, maligna alteracija, rast (0072001)" i odobrili su ga Etičko povjerenstvo Klinike za dječje bolesti Zagreb i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Ispitivanje je provedeno u Referentnom centru za dječju gastroenterologiju i prehranu Klinike za dječje bolesti Zagreb.

1. Ispitanici

Ispitivanje se temelji na prospektivnom prikupljanju podataka na temelju istog protokola i s istim, ovdje spomenutim ciljevima, koje se neprekinuto provodi od 1996. godine u Referentnom centru za dječju gastroenterologiju i prehranu Klinike za dječje bolesti Zagreb. Tijekom promatranog razdoblja uključeno je ukupno 219 ispitanika. Uključena su sva djeca kod kojih je zbog kliničke slike postavljena sumnja na celijakiju i započeta dijagnostička obrada, a kod kojih je nalaz prve biopsije sluznice tankog crijeva bio tipičan za celijakiju. Ovisno o starosti ispitanika u vrijeme kada im je učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva, ispitanici su podijeljeni u sljedeće skupine:

Skupina A: djeca kojima je prva biopsija sluznice tankog crijeva učinjena prije navršene dvije godine života

Skupina B: djeca kojima je prva biopsija sluznice tankog crijeva učinjena nakon navršene dvije godine života

Ispitanicima iz skupine B dijagnoza je postavljena na temelju revidiranih ESPGHAN-ovih kriterija (na temelju jednog tipičnog nalaza biopsije sluznice tankog crijeva te pozitivnog odgovora na bezglutensku prehranu). Za razliku od toga,

ispitanici iz skupine A prošli su čitav ESPGHAN-ov klasičan dijagnostički postupak koji se temelji na nalazu tri biopsije sluznice tankog crijeva: prva biopsija je učinjena u trenutku postavljanja sumnje na celijakiju, druga biopsija učinjena je za vrijeme bezglutenske dijete i treća biopsija nakon opterećenja glutenom. Ovisno o nalazu treće biopsije, ispitanici skupine A podijeljeni su dalje u sljedeće dvije skupine:

Skupina A1: ispitanici kojima je trećom biopsijom sluznice tankog crijeva postavljena konačna dijagnoza celijakije

Skupina A2: ispitanici kojima nalazom treće biopsije sluznice tankog crijeva nije potvrđena dijagnoza celijakije

Za prikupljanje podataka korišten je upitnik koji se sastojao od sljedećih dijelova (Prilog 1 – Upitnik za prikupljanje podataka o celijakiji):

a) <u>opći dio:</u> - opći podaci o bolesniku
- obiteljska anamneza bolesnika

b) <u>osobna anamneza:</u> - podaci o porođajnoj masi i dužini djeteta
- preboljele bolesti (s naglaskom na crijevne infekcije)
- podaci o mogućem postojanju alergije na hranu

c) <u>prehrana:</u> - način prehrane tijekom dojenačkog razdoblja
- vrijeme i način uvođenja namirnica s glutenom u prehranu
- trajanje dojenja

d) <u>simptomi bolesti:</u> - simptomi kojima se bolest očitovala
- dob pojave prvih simptoma

e) <u>dijagnostička obrada:</u> - dob u kojoj je započeta dijagnostička obrada i učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva

- rezultati pretraga i testova:
    - patohistološki nalazi bioptata sluznice tankog crijeva,
    - serološke pretrage i ukupni IgA,
    - HLA DQ tipizacija

e) terapija: - vrijeme uvođenja bezglutenske prehrane

- klinički odgovor na bezglutensku prehranu
- način provođenja i pridržavanje bezglutenske prehrane

2. Metode

2.1 Biopsija sluznice tankog crijeva

Biopsija sluznice tankog crijeva učinjena je ili sukcijskom biopsijom pomoću Crosby-eve kapsule u visini Treitzovog ligamenta ili endoskopski iz dubokog duodenuma. Bioptati su rutinski bojani hematoksilin – eozin metodom i sve bioptate pregledao je jedan od ukupno dva uključena patologa. Patohistološki nalaz bioptata sluznice tankog crijeva klasificiran je prema Marshovim kriterijima (149,153,181), a broj IEL određen je u odnosu na 100 enterocita (156):

Stupanj 0: preinfiltrativna lezija

Stupanj I: infiltrativna lezija (normalna arhitektura sluznice uz >25 IEL/100 enterocita)

Stupanj II: hiperplastična lezija (povećani broj IEL, povećana dubina kripti, ali normalna visina resica)

Stupanj III: destruktivna lezija: atrofija resica (A blaga ili parcijalna, B subtotalna, C totalna), hipertrofija kripti i povećan broj IEL

2.2 Serološke pretrage

Sve serološke pretrage učinjene su u istom laboratoriju – Biokemijskom laboratoriju Klinike za dječje bolesti Zagreb, pod nadzorom i vodstvom jedne, iste osobe.

2.2.1. Antiglijadinska protutijela

IgA i IgG antiglijadinska protutijela određivana su kvantitativno fluoro-enzim-imuno testom koristeći test-reagencije tvrtke "Eurospital", Trst Italija. U

ovom testu se na stvoreni kompleks antigen-protutijelo vežu antihumana protutijela označena alkalnom fosfatazom koja djeluje na flourescentni supstrat te se mjeri stupanj flourescencije koju emitira nastali produkt reakcije. Rezultat se izražava kao indeks, a predstavlja omjer flourescencije ispitivanog uzorka i pozitivnog kontrolnog seruma. Pozitivnim AGA-IgA indeksom smatrane su vrijednosti iznad 7, a pozitivnim IgG indeksom vrijednosti iznad 15 (183).

2.2.2. Endomizijalna protutijela

Endomizijalna protutijela razreda IgA određivana su metodom indirektne flourescencije koristeći gotove test reagencije firme Eurospital "Antiendomysium test". Kao antigen korišteno je tkivo jednjaka majmuna, a indirektna imunofluorescencija antigen-protutijelo kompleksa vizualizirala se fluorescentnim mikroskopom pomoću fluoresceinom označenog anti-IgA protutijela (anti-IgA-fluorescein izotiocijanat - FITC). Pretragu je kod svih bolesnika radila jedna, uvijek ista osoba. Rezultati su izraženi kvalitativno: pozitivno ili negativno (171,183,184).

Napomena: Budući da je Klinika za dječje bolesti Zagreb prva ustanova u Hrvatskoj u kojoj su uvedene sve gore spomenute serološke metode, zaključno s anti tTG, iskustva s validacijom opisana su u nizu članaka (171,183,184).

2.3. <u>Određivanje HLA</u>

U početku studije antigeni lokusa HLA-DQ 1, 2 i 3 određivani su testom mikrolimfocitotoksičnosti na limfocitima B iz periferne krvi (49). Kasnije, budući da je uvedena nova metoda, za određivanje DQ 2 i 8 heterodimera korištena je metoda lančane reakcije polimerazom (engl. polymerase chain reaction, PCR) i hibridizacija

s oligonukleotidnim probama specifičnih sekvenci (engl. sequence specific oligonucleotide probes, SSOP) (50). Kod svih ispitanika ove pretrage učinjene su u Zavodu za tipizaciju tkiva KBC Zagreb.

3. Statističke metode

S ciljem utvrđivanja dijagnostičke vrijednosti ispitivanih pretraga određene su ROC krivulje (engl. receiver operating characteristic curves) i površina ispod krivulje (engl. area under curve, AUC) za:

- biopsiju sluznice tankog crijeva (Marsh kriterij, IEL)
- serološke testove
- HLA DQ heterodimer

Na temelju analiza određene su granične vrijednosti ovih testova koje imaju optimalnu osjetljivost i specifičnost. U daljnjim analizama korišteni su i originalni rezultati testova, a i binarne varijable koje pokazuju je li rezultat testa iznad ili ispod granične vrijednosti određene ROC krivuljom.

Metodom binarne logističke regresije ispitano je u kojoj mjeri pojavnost celijakije ovisi o kombinaciji svih gore navedenih testova. Nadalje, stepwise metodom određena je kombinacija testova koja ima najveću prediktivnu vrijednost, odnosno koja najbolje predviđa odsutnost ili prisutnost celijakije i na temelju toga predložen je dijagnostički postupnik.

Za usporedbu pojedinih skupina i određivanje statističke značajnosti razlika korišteni su Studentov t-test te X^2 test.

Veličina uzorka određena je na temelju rezultata provedene pilot studije podudarnosti rezultata između standardne i eksperimentalne metode u prvom razdoblju procjene. Pilot-studija je pokazala da je površina (AUC) ispod ROC krivulje kod standardne metode 0,68, a kod eksperimentalne 0,35, uz podudarne

standardne devijacije, a da je korelacija pozitivnih odgovora između dvaju dijagnostičkih testova 0,8. Uz omjer raspodjele uzorka od 0,5, veličina uzorka od 103 bolesnika u skupini pozitivno dijagnosticiranih i 52 u skupini negativno dijagnosticiranih (nakon provedenog cjelokupnog klasičnog dijagnostičkog postupka s 3 biopsije sluznice tankog crijeva) postiže 80%-tnu snagu testa za uočavanje razlike od 0,1550 između standardnog dijagnostičkog testa s površinom ispod ROC krivulje (AUC) od 0,68 i eksperimentalnog s površinom (AUC) od 0,835, uz korištenje dvostranog z-testa na razini statističke značajnosti od 0,05, uz prediktore na ordinalnoj skali.

4. Etička podobnost

Ovo ispitivanje odobrilo je Etičko povjerenstvo Klinike za dječje bolesti Zagreb na sjednici održanoj 03.12.2004. godine te Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na sjednici održanoj 05.11.2004. godine.

R E Z U L T A T I

Na temelju postavljene hipoteze da se dijagnoza celijakije u djece mlađe od dvije godine može postaviti na temelju jedne biopsije sluznice tankog crijeva + serološke pretrage + klinički oporavak nakon uvođenja bezglutenske prehrane, a s ciljem kreiranja novog dijagnostičkog postupnika, obradom dobiveni rezultati prikazani su u okviru sljedećih poglavlja:

1. Opći podaci: podaci o broju ispitanika i podjela u skupine te podaci o bolesnicima koji su isključeni iz praćenja.
2. Ispitanici koji su bili mlađi od 2 godine u vrijeme postavljanja sumnje na celijakiju – skupina A: opći podaci, podaci o prehrani, o kliničkoj slici i dijagnostičkim pretragama za pojedine skupine (A1 i A2) te njihova usporedba.
3. Ispitanici koji su bili stariji od 2 godine u vrijeme postavljanja sumnje na celijakiju – skupina B: opći podaci, podaci o prehrani, o kliničkoj slici i dijagnostičkim pretragama i usporedba sa skupinom A1.
4. Statistička analiza pojedinih čimbenika dijagnostičkog postupka: ROC i AUC krivulje za pojedine čimbenike te linearna regresija i odabir kombinacije najznačajnijih prediktivnih čimbenika.
5. Prijedlog dijagnostičkog postupnika za celijakiju u djece mlađe od dvije godine.
6. Usporedba dijagnostičkih postupnika: a) klasične metode i b) metode predložene u poglavlju 5.

1. Opći podaci

U ovo prospektivno ispitivanje uključeno je ukupno 219 ispitanika koji su zadovoljavali sljedeće kriterije:

- nakon postavljene kliničke sumnje na celijakiju na temelju kliničke slike kojom su se ispitanici prezentirali, učinjena biopsija sluznice tankog crijeva pokazala je nalaz od infiltrativne, hiperplastične do destruktivne lezije (prema Marshovim kriterijima I do III stupnja),
- dijagnoza celijakije postavljena je ili isključena nakon provedenog klasičnog dijagnostičkog postupnika (koje je postavio ESPGHAN) koji se sastoji od 3 biopsije sluznice tankog crijeva za skupinu ispitanika mlađih od dvije godine ili na temelju revidiranih dijagnostičkih kriterija za skupinu ispitanika starijih od dvije godine (tipični nalaz prve biopsije sluznice tankog crijeva i pozitivan odgovor na bezglutensku prehranu).

Ovisno o dobi ispitanika u trenutku kada je započet dijagnostički postupak i učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva, ispitanici su podijeljeni u 2 skupine:

Skupina A: ispitanici kojima je prva biopsija sluznice tankog crijeva učinjena prije navršene dvije godine života

Skupina B: ispitanici kojima je prva biopsija sluznice tankog crijeva učinjena nakon navršene dvije godine života, odnosno dijagnostički postupak je započeo nakon navršene dvije godine.

Ukupno je ispitivanjem obuhvaćeno 219 ispitanika, od toga:

Skupina A: 184 ispitanika

Skupina B: 35 ispitanika

Od ukupno 219 djece (93 dječaka, 126 djevojčica) koji su ušli u studiju 190 (87%) ih je u cijelosti završilo ispitivanje, a 29 (15 dječaka, 14 djevojčica) nije provelo cjelokupni dijagnostički postupak te su stoga isključeni iz praćenja. Razlozi neispunjavanja uvjeta za uključivanje u studiju navedeni su u tablici 2.

Tablica 2. Razlozi isključivanja iz studije

Razlog isključivanja	*Broj djece (%)*
Neodazivanje na kontrole	13 (7%)
Roditelji odbijaju kontrolne biopsije ili opterećenje glutenom	7 (4%)
Prekid opterećenja glutenom zbog razvoja jakih simptoma	3 (2%)
Opterećenje glutenom odgođeno zbog niskog rasta	2 (1%)
Prekid opterećenja glutenom zbog razvoja enterokolitičnog sindroma	1 (0,5%)
Dijete smješteno u dom – izgubljen iz praćenja	1 (0,5%)
Opterećenje glutenom nije učinjeno jer dijete boluje i od cistične fibroze	1 (0,5%)
Dijete poginulo u dobi 20 mj	1 (0,5%)
Ukupno	29

Svih 29 ispitanika pripadaju skupini A i čine 16% ukupnog broja ispitanika skupine A. U tablici 3 prikazane su osnovne značajke i za ispitanike obuhvaćene studijom i za one koji nisu dovršili ispitivanje. Pokazano je da između ove dvije skupine nije bilo statistički značajnih razlika u spolu niti u dobi kada su se javili simptomi bolesti niti u dobi kada su učinjene prve biopsije sluznice tankog crijeva, kao ni u duljini dojenja niti u vremenu uvođenja glutena u dohranu, a najčešći prvi

simptomi kojima se bolest očitovala, u obje grupe, bilo je nenapredovanje na tjelesnoj masi i proljev. Na temelju navedenog, a i budući da je općenito prihvaćeno da gubitak do 20% ispitanika u studiji ne smanjuje kredibilitet studije, smatramo da gubitak 16% naših ispitanika nije utjecalo na ispitivanje.

Tablica 3. Usporedba ispitanika koji su završili ispitivanje i onih koji su isključeni iz studije

Značajke	Ispitanici skupine A uključeni u studiju (N=155)	Ispitanici skupine A isključeni iz studije (N=29)	p
Spol - djevojčice - dječaci	98 (63%) 57 (37%)	14 (48%) 15 (52%)	p>0,05 *
Trajanje dojenja	2,53 mjeseca	3,40 mjeseca	p>0,05 *
Vrijeme uvođenja glutena u dohranu	4,33 mjeseca	4,62 mjeseca	p>0,05 *
Dob kada su se pojavili prvi simptomi bolesti	9,59 mjeseci	9,24 mjeseci	p>0,05 *
Dob kada je učinjena 1. biopsija tankog crijeva	12,96 mjeseci	13,60 mjeseci	p>0,05 *
Vrijeme od pojave prvih simptoma do 1. biopsije	3,67 mjeseca	4,58 mjeseca	p>0,05 *
Najčešći simptom kojim se bolest očitovala	Nenapredovanje 137 (88%) Proljev 127 (82%)	Nenapredovanje 26 (90%) Proljev 22 (76%)	p>0,05 * p>0,05 *

* razlika nije statistički značajna

2. Ispitanici koji su kod postavljanja sumnje na celijakiju bili mlađi od 2 godine – skupina A

2.1 Opći podaci

Ispitivanje je završilo ukupno 155 djece koja su u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva bili mlađi od 2 godine. Od ukupnog broja ispitanika bilo je 57 dječaka (37%) i 98 djevojčica (63%).

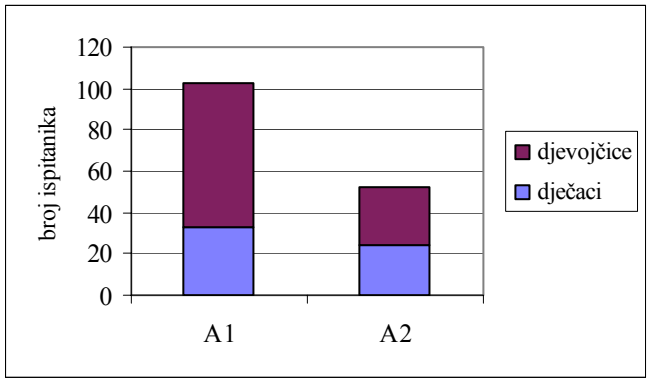
Ovisno o rezultatu završne biopsije ovi ispitanici su podijeljeni u 2 skupine (Slika 2):

Skupina A1: ispitanici kojima je trećom biopsijom sluznice tankog crijeva postavljena konačna dijagnoza celijakije, N = 103 (34 dječaka i 69 djevojčica)

Skupina A2: ispitanici kojima nalazom treće biopsije sluznice tankog crijeva nije potvrđena dijagnoza celijakije, N = 52 (23 dječaka, 29 djevojčica)

U skupini A1 omjer djevojčica i dječaka bio je 2,03:1, a skupini A2 1,12:1, međutim razlika nije bila statistički značajna.

Slika 2. Prikaz ispitanika skupine A prema spolu i ovisno o tomu je li nakon provedenog potpunog dijagnostičkog postupka potvrđena (skupina A1) ili nije potvrđena dijagnoza celijakije (skupina A2)



2.2 *Podaci iz osobne anamneze ispitanika*

Iz osobne anamneze ispitanika (dobivene prema upitniku koji se nalazi u Prilogu 1) uzeti su i podaci o porođajnoj masi i duljini, prikazani u tablici 4, no nisu nađene statistički značajne razlike između skupine A1 i A2.

Tablica 4. Usporedba skupine A1 i A2 u odnosu na spol, porođajnu masu i duljinu.

	A1 (N=103)	A2 (N=52)	P
Spol			
- djevojčice	69 (67%)	29 (56%)	p>0,05 *
- dječaci	34 (33%)	23 (44%)	(X^2-test)
Porođajna masa			
- srednja vrijednost	3314 g	3210 g	p>0,05 *
- raspon	(2050-4900g)	(1950-4370g)	(t-test)
Porođajna duljina			
- srednja vrijednost	50 cm	50 cm	p>0,05 *
- raspon	(42-58 cm)	(44-55 cm)	(t-test)

* razlika statistički nije značajna

Prikupljeni su i podaci o tome jesu li ispitanici ranije imali alergijskih reakcija, jesu li bolovali od nekih drugih bolesti te podaci o obiteljskoj anamnezi, a rezultati su prikazani u tablici 5. Podaci o postojanju alergije ispitanika skupine A1 i A2 nisu se statistički značajno razlikovali, kao ni podaci o preboljelim enteralnim infektima. Za napomenuti je da je od 14 ispitanika iz skupine A1 (14%) koji su

preboljeli enteralni infekt prije započinjanja dijagnostičkog postupka za celijakiju dva ispitanika imalo rotavirusni gastroenterokolitis, kod tri bolesnika uzročnik je bio Campylobacter jejuni, kod po dva Salmonella i Ascaris lumbricoides, dok su ostali imali nespecificirani gastroenterokolitis. U skupini A2 ukupno je 11 ispitanika preboljelo enteralni infekt prije postavljanja sumnje na celijakiju: od toga su u dva ispitanika izolirani i Salmonella i Campylobacter te u po jednog ispitanika Ascaris lumbriciodes, Salmonella, Escherichia coli i Giardia lamblia, dok ostali nisu imali specificiranog uzročnika.

Tablica 5. Usporedba podataka o alergiji, preboljelim enteralnim infektima i osobitostima obiteljske anamneze za skupine A1 i A2.

	A1 (N=103)	A2 (N=52)	p
Osobna anamneza pozitivna na alergiju			
- da	24 (23%)	11 (21%)	p>0,05 *
- ne	79 (77%)	41 (79%)	(X^2-test)
Osobna anamneza pozitivna na preboljele eneteralne infekte			
- da	14 (14%)	11 (21%)	p>0,05 *
- ne	89 (86%)	41 (79%)	(X^2-test)
Obiteljska anamneza pozitivna na celijakiju			
- da	6 (6%)	3 (6%)	

* razlika nije statistički značajna

Podaci prikupljeni iz obiteljskih anamneza ukazali su na to da je 46 ispitanika skupine A1 (45%) imalo pozitivnu obiteljsku anamnezu na neke od sljedećih bolesti: na alergijske bolesti (10/46 ispitanika, 22%), celijakiju (6/46 ispitanika, 13%, od toga 4 ima srodnika u prvom koljenu), epilepsiju (5/46 ispitanika, 11%), ulkusnu bolest i gastritis (7/46 ispitanika 15%) te bolesti štitnjače (4/46 ispitanika, 9%), a 4 bolesnika (9%) imalo je i pozitivnu obiteljsku anamnezu na maligne tumore. Što se tiče ispitanika skupine A2, ukupno 26 ispitanika (50%) imalo je pozitivnu obiteljsku anamnezu i to najčešće na alergijske bolesti (8/26 ispitanika, 31%), tumore (5/26 ispitanika, 19%), ulkus i gastritis (4/26 ispitanika, 15%), celijakiju (3/26 ispitanika, 12%) te bolesti štitnjače (1/26 ispitanika, 4%).

2.3 Podaci o prehrani

Ispitanici grupe A1 dojeni su prosječno 2,13 mjeseci (raspon 0-10 mjeseci), a ispitanici grupe A2 3,32 mjeseca (raspon 0-18 mjeseci), međutim razlika nije bila statistički značajna (Slika 3).

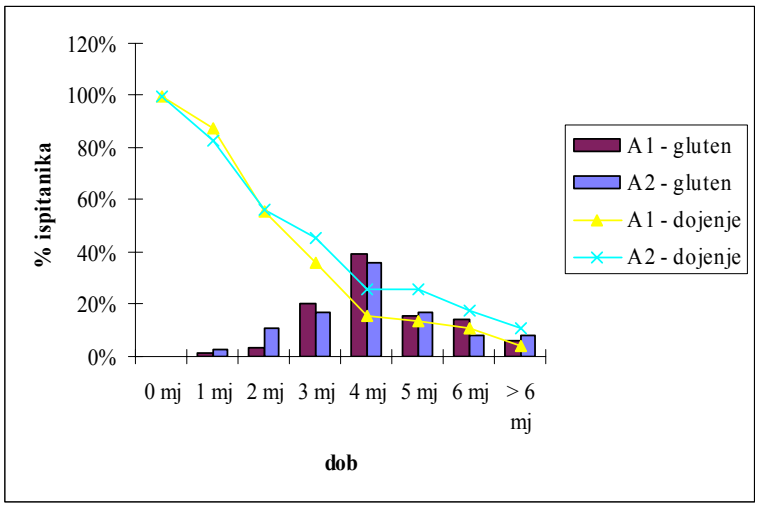
Gluten je uveden u prehranu djece obje skupine u dobi od prosječno navršenih 4 mjeseca (4,38 za skupinu A1 i 4,21 za skupinu A2), i to najčešće u obliku keksa ili griza. Najranije je gluten uveden u dobi od mjesec dana, a najkasnije u dobi od 8 mjeseci (Slika 3). Međutim, zbog kratkoće dojenja, samo je u 6 djece (6%) skupine A1 gluten u prehranu uveden prije završetka dojenja te u 5 djece (10%) skupine A2, a razlika nije bila statistički značajna ($p>0,05$) (Tablica 6, Slika 3).

Tablica 6. Prikaz podataka o prehrani djece za skupine A1 i A2.

	Skupina A1 (N=103)	Skupina A2 (N=52)	p
Trajanje dojenja (mj)			
- prosječno	2,13	3,32	p>0,05 *
- medijan	1,5	2	(t-test)
- raspon	0-10	0-18	
Vrijeme uvođenja glutena (mj)			
- prosječno	4,38	4,21	p>0,05 *
- medijan	4	4	(t-test)
- raspon	1-8	1,5-8	
Uvođenje glutena za vrijeme dojenja			
- da	6 (6%)	5 (10%)	p>0,05 *
- ne	97 (94%)	47 (90%)	(X^2-test)
Vrijeme od uvođenja glutena do pojave simptoma (mj)			
- prosječno	5,24	4,85	p>0,05 *
- medijan	5	4	(t-test)
- raspon	0,5-16	0,5-14	

* razlika nije statistički značajna

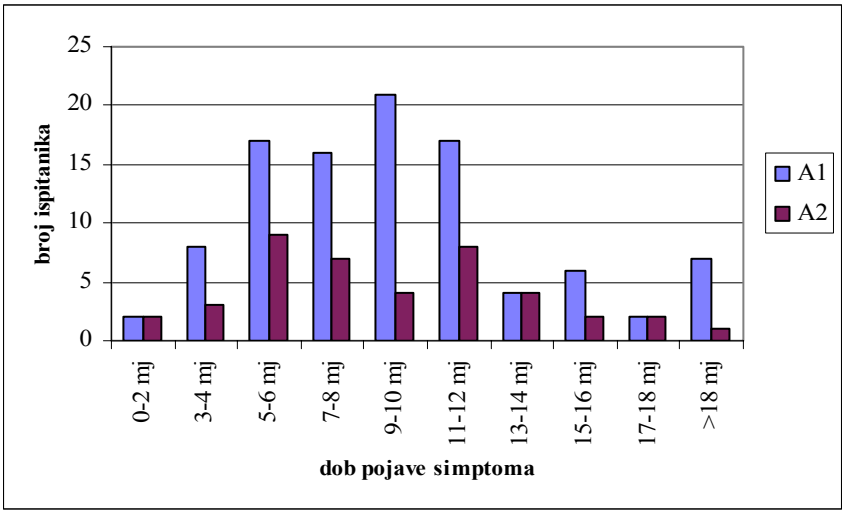
Slika 3. Prikaz trajanja dojenja (linije) i vrijeme uvođenja glutena (stupići) kod ispitanika skupine A1 i A2.



2.4 Klinička slika

Prvi simptomi bolesti koje su roditelji primjetili javili su se u prosjeku u dobi 9,8 mjeseci (medijan 9 mjeseci, raspon od 2 do 21 mjesec) u skupini A1 te u dobi 9,31 mjeseci u skupini A2 (medijan 8,5 mjeseci, raspon 2 do 18 mjeseci) (razlika nije bila statistički značajna). Najranije su se simptomi javili s navršenih 2 mjeseca u djeteta kojem je gluten u obliku keksa uveden već prvom mjesecu života. Međutim, kod najvećeg broja ispitanika (u 71% ispitanika skupine A1 i 67% ispitanika skupine A2) simptomi celijakije počeli su se javljati od navršenih 5 mjeseci do kraja prve godine (Slika 4).

Slika 4. Prikaz pojave prvih simptoma prema dobi u kojoj su se javljali za skupinu A1 i skupinu A2.



Prvi simptomi kojima se bolest u obje skupine ispitanika najčešće očitovala bili su klasični simpomi celijakije: slabije napredovanje i/ili gubitak na tjelesnoj masi, proljev, izbočen i napeti trbuh te anemija. U nekih bolesnika to je bilo popraćeno i povraćanjem, bolovima u trbuhu, sporijim psihomotornim razvojem te hipoproteinemijom i edemima (Slika 5). Bolest se u ispitanika skupine A2 očitovala najčešće istim klasičnim simptomima, međutim slabije napredovanje i proljev ipak su se javljali značajno rjeđe nego u skupini A1 (Tablica 7).

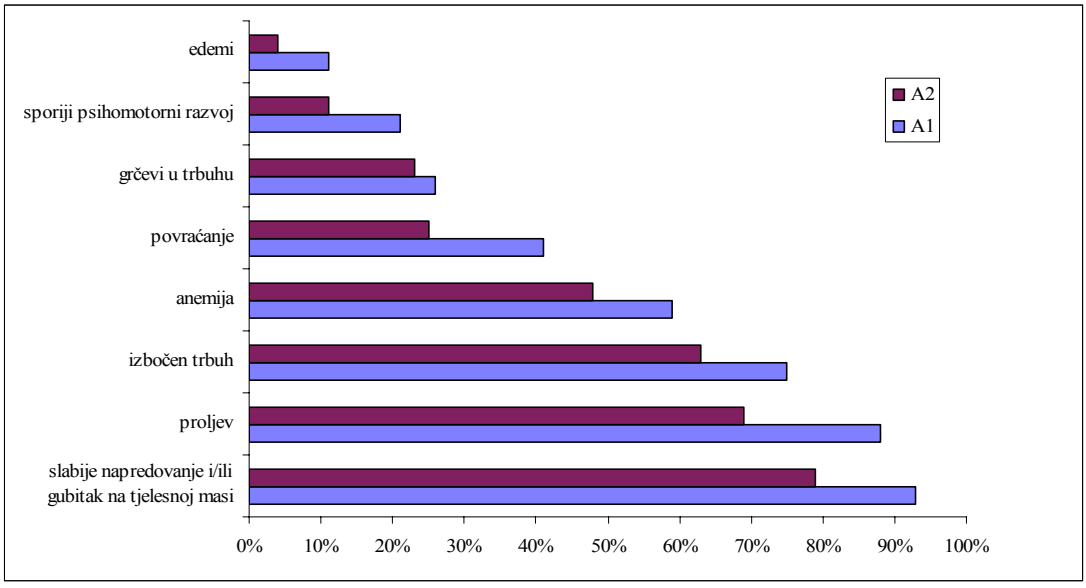
Tablica 7. Prikaz najčešćih simptoma kojima se bolest očitovala u skupini A

	A1 (N=103)	A2 (N=52)	p
Slabije napredovanje i/ili gubitak na TM	96 (93%)	41 (79%)	p<0,01 ** (X^2-test)
Proljev	91 (88%)	36 (69%)	p<0,01 ** (X^2-test)
Izbočen trbuh	78 (76%)	33 (63%)	p>0,05 * (X^2-test)
Anemija	61 (59%)	25 (48%)	p>0,05 * (X^2-test)
Povraćanje	43 (42%)	13 (25%)	p>0,05 * (X^2-test)
Grčevi u trbuhu	27 (26%)	12 (23%)	p>0,05 * (X^2-test)
Sporiji psihomotorni razvoj	22 (21%)	6 (11%)	p>0,05 * (X^2-test)
Edemi	11 (11%)	2 (4%)	

* razlika nije statistički značajna

** razlika je statistički značajna na nivou značajnosti od p<0,01

Slika 5. Grafički prikaz najčešćih simptoma kojima se bolest očitovala:



2.5 Rezultati dijagnostičkih pretraga

Rezultati dijagnostičkih pretraga bit će prikazani na sljedeći način:

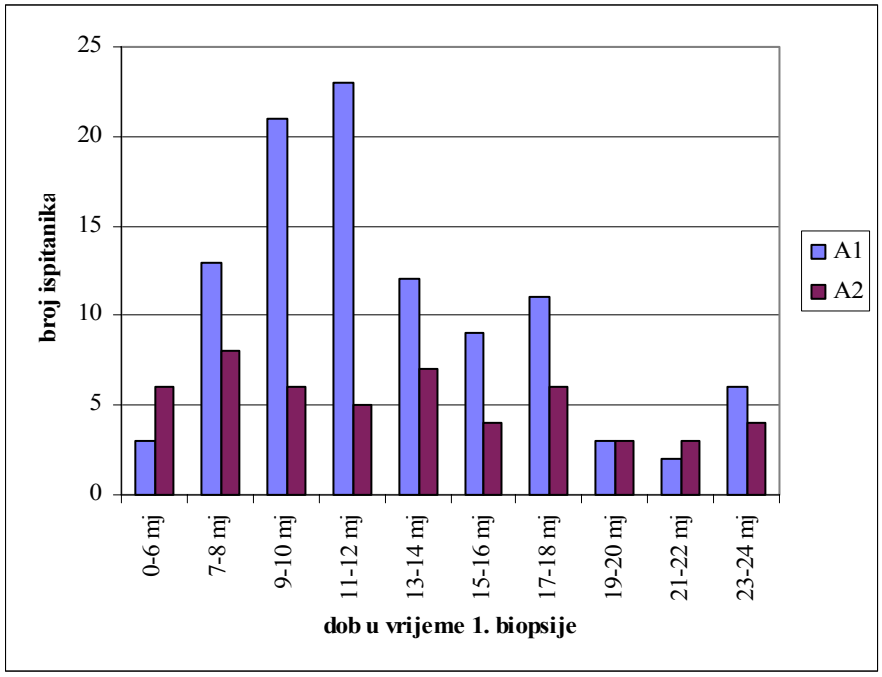
1. početna dijagnostika – u vrijeme postavljanja sumnje na celijakiju, kada je učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva
    a) prva biopsija sluznice tankog crijeva
    b) intraepitelijalni limfociti
    c) nalazi seroloških pretraga
2. druga biopsija sluznice tankog crijeva
3. završna dijagnostika - u vrijeme kada je učinjena treća biopsija sluznice tankog crijeva, nakon opterećenja glutenom
    a) treća biopsija sluznice tankog crijeva
    b) nalazi seroloških pretraga

2.5.1. Početna dijagnostika

2.5.1.a. Prva biopsija sluznice tankog crijeva

Na slici 6 prikazana je raspodjela bolesnika skupine A po dobi kada je učinjena prva biopsije sluznice tankog crijeva. Najmlađe dijete kod kojeg se posumnjalo na celijakiju imalo je 3 mjeseca, a gluten mu je uveden u prehranu u dobi od 2 mjeseca. Ukupno je 3 djece bioptirano prije navršenih 6 mjeseci (od toga 2 djece pripada skupini A2) i još 6 u dobi od 6 mjeseci (od toga 4 djece pripada skupini A2). Međutim, najviše djece (60%) imalo je od navršenih 7 do 14 mjeseci kada im učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva zbog sumnje na celijakiju.

Slika 6. Raspodjela bolesnika skupine A prema dobi kada im je učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva



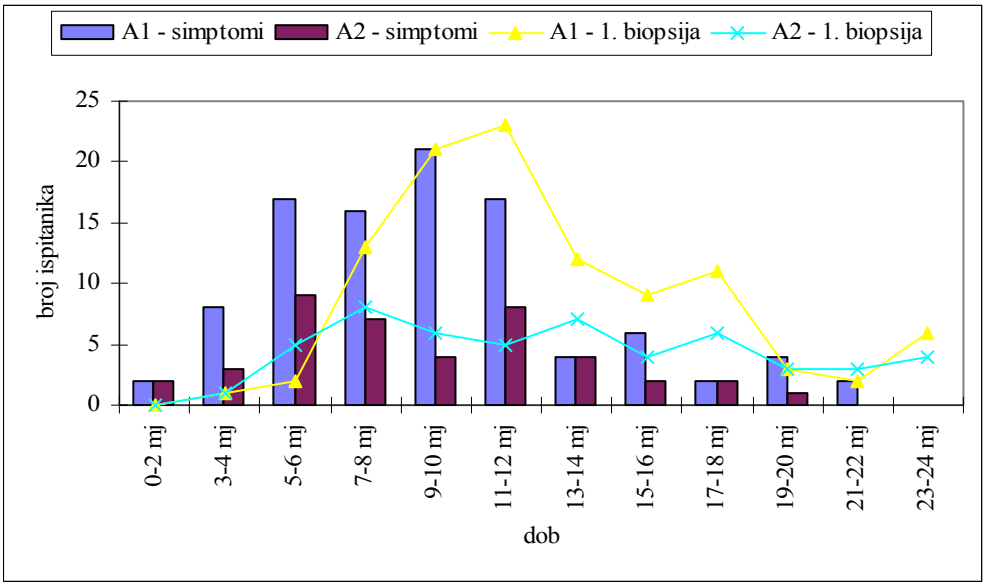
Prosječna dob u kojoj je učinjena prva biopsija bila je 12,8 mjeseci (raspon 4-24 mjeseca) za skupinu A1, i 13,3 mjeseca za skupinu A2 (raspon 3-24 mjeseca) (Tablica 8). Od pojave prvih simptoma do postavljanja sumnje na celijakiju i započinjanja dijagnostičkog postupka prošlo je prosječno 3,3 mjeseca u skupini A1 i 4,6 mjeseci u skupini A2, s tim da je u obje grupe raspon bio od najmanje pola mjeseca do najviše 17 mjeseci u skupini A1 i 15 mjeseci u skupini A2 (Tablica 8, Slika 7).

Tablica 8. Prikaz podataka o pojavi simptoma bolesti i o dobi u kojoj je učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva te o vremenu koje je bilo potrebno od pojave simptoma do započinjanja dijagnostičkog postupka za skupine A1 i A2.

	Skupina A1 (N=103)	Skupina A2 (N=52)	p
Pojava simptoma (dob - mj)			
- prosječno	9,71	9,31	p>0,05 *
- medijan	9	8,5	(t-test)
- raspon	2-21	2-18	
Prva biopsija sluznice tankog crijeva (dob - mj)			
- prosječno	12,78	13,28	p>0,05 *
- medijan	12	14	(t-test)
- raspon	4-24	3-24	
Vrijeme od pojave simptoma do prve biopsije sluznice tankog crijeva (mj)			
- prosječno	3,19	4,56	p>0,05 *
- medijan	2	3	(t-test)
- raspon	0,5-17	0,5-15	

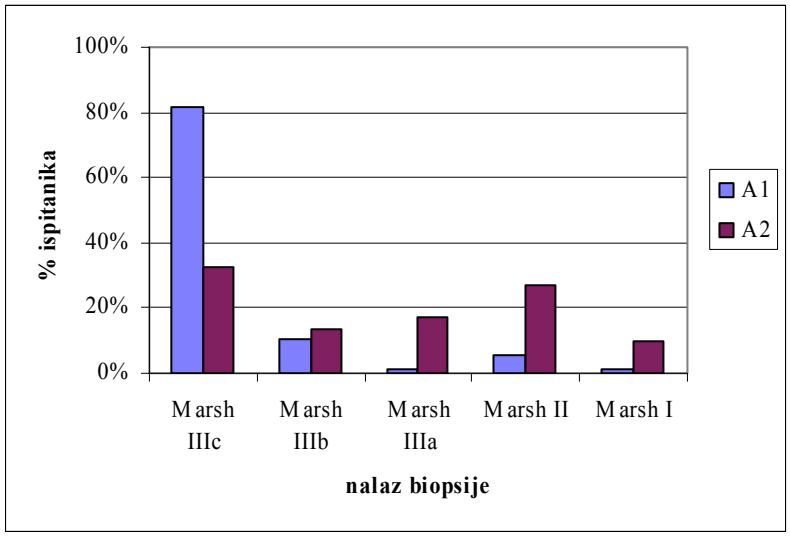
* razlika nije statistički značajna

Slika 7. Usporedni prikaz pojave simptoma i prve biopsije sluznice tankog crijeva ovisno o dobi ispitanika skupine A1 i A2.



Na slici 8 i u tablici 9 prikazani su rezultati prvih biopsija sluznice tankog crijeva prema skupinama bolesnika. U skupini A1, ukupno je 93% ispitanika imalo destruktivnu leziju na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva, odnosno 82% ispitanika imalo je totalnu atrofiju (Marsh IIIc), a 12% imalo je subtotalnu ili blažu parcijalnu atrofiju (Marsh IIIb i IIIa), dok je samo 7% imalo hiperplastičnu (Marsh II) ili infiltrativnu leziju (Marsh I). U skupini A2, međutim, totalnu atrofiju sluznice tankog crijeva (Marsh IIIc) imalo je 33% ispitanika, dok je 13% imalo subtotalnu i 17% blažu destruktivnu leziju. Odnosno, ukupno je 63% ispitanika imalo destruktivnu leziju, dok je čak 37% imalo hiperplastičnu ili infiltrativnu leziju (Marsh II ili I). Ispitana je vjerodostojnost razlike između skupine A1 i A2 (Mann Whitney U test) u odnosu na nalaz biopsije i pokazano je da postoji statistički značajna razlika i ukupno ($p<0,01$) i u odnosu samo na Marsh III nalaz (X^2-test, $p<0,001$).

Slika 8. Nalazi prvih biopsija sluznica tankog crijeva (izraženo kao postoci od ukupnog broja ispitanika pojedinih skupina).



Tablica 9. Usporedba nalaza prve biopsije sluznice tankog crijeva za skupinu A1 i A2.

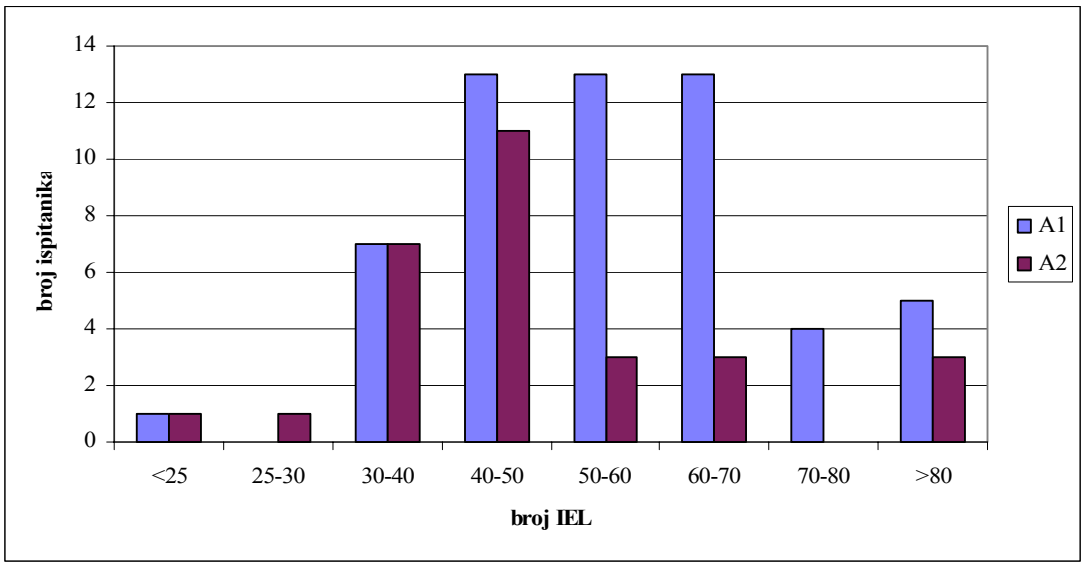
	Skupina A1 (N=103)	Skupina A2 (N=52)	P
Marsh III – destruktivna lezija	96 (93%)	33 (63%)	
Od toga:			p<0,01 **
- totalna atrofija	84 (82%)	17 (33%)	(Mann
- subtotalna atrofija	11 (11%)	7 (13%)	Whitney U
- blaga ili parcijalna atrofija	1 (1%)	9 (17%)	test)
Marsh II – hiperplastična lezija	6 (6%)	14 (27%)	
Marsh I – infiltrativna lezija	1 (1%)	5 (10%)	

** razlika statistički značajna

2.5.1.b. Intraepitelni limfociti na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva

Broj intraepitelnih limfocita prebrojan je u ukupno 55% bioptata. U ostalim bioptatima, brojanje ili nije bilo moguće točno izvesti ili, što je bio češći slučaj, samo je naznačeno da je broj IEL bio povišen (>25 IEL/100 enterocita) ili visok (>40/100 enterocita). U skupini A1 samo jedan bolesnik imao je graničan broj IEL (24 IEL/100 enterocita) na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva, a svi ostali imalo su broj IEL veći od granične vrijednosti. U skupini A2 jedan bolesnik imao vrijednosti ispod granica normale, a jedan je imao graničnu vrijednost (25 IEL/100 enterocita) (slika 9).

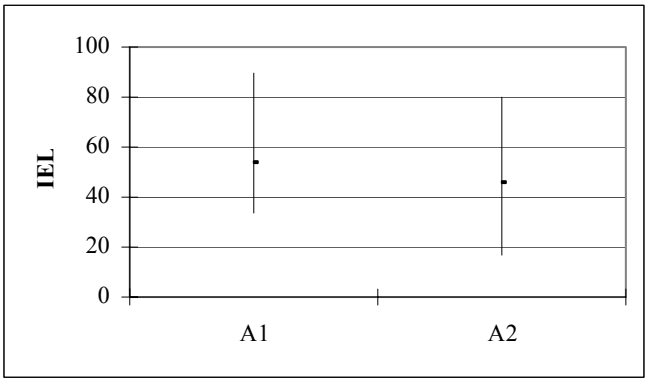
Slika 9. Prikaz broja intraepitelijalnih limfocita u nalazu prve biopsije sluznice tankog crijeva



Najmanja vrijednost IEL u skupini A1 bila 24, a najveća 90 IEL/100 enterocita (prosječno 53), a u skupini A2 najmanja vrijednost bila je 17 IEL/100 enterocita, a najveća 80 IEL/100 enterocita (prosječna vrijednost 46) (Slika 10), što

je statistički značajna razlika (t-test, $p<0,05$). Daljnja statistička analiza ovih podataka (ROC i AUC krivulje) bit će opisana u posebnom poglavlju (molim vidjeti poglavlje 5).

Slika 9. Prikaz raspona broja intraepitelijalnih limfocita u nalazu prve biopsije sluznice tankog crijeva po skupinama ispitanika



2.5.1.c. Nalazi seroloških pretraga u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva

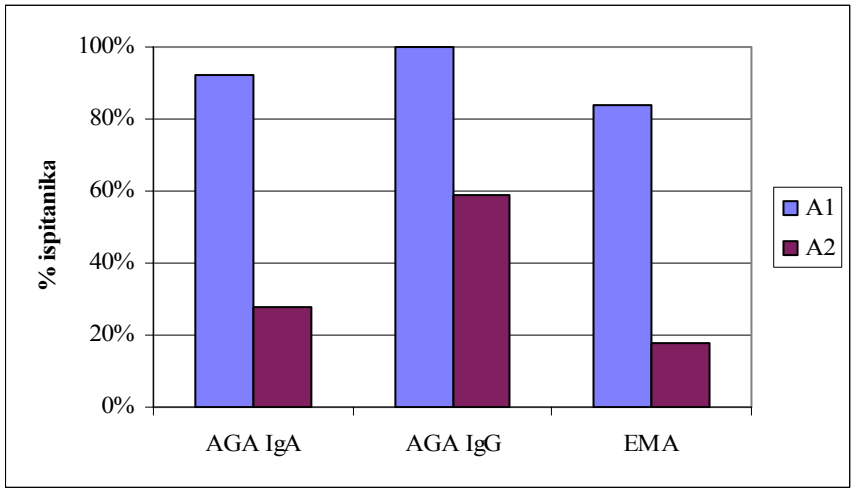
Svi ispitanici skupine A1, kod kojih su učinjene serološke pretrage u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva, imali su pozitivna antiglijadinska protutijela (IgA i/ili IgG) dok su endomizijska protutijela bila pozitivna u 88% ispitanika. Jedan od ukupno 6 negativnih bolesnika imao je sniženi ukupni imunoglobulin A, dok su preostali ispitanici imali uredne vrijednosti. Za napomenuti je da su endomizijalna protutijela bila pozitivna kod jednog ispitanika već u dobi od 5 mjeseci.

Kao pozitivan rezultat testa za AGA IgA smatrane su sve vrijednosti više od 7 i u skupini A1 najniža vrijednost AGA IgA bila je 1,04, a najviša 106, uz prosječnu vrijednost 44,45 i medijan 40,74. Što se tiče AGA IgG, kao pozitivan rezultat

smatrale su se vrijednosti veće od 15 i svi ispitanici skupine A1 imali su pozitivne vrijednosti. Najniža vrijednost bila je 17,72 dok je najviša bila 146,52 uz prosječnu vrijednost 87,09 te medijan 87,38 (Tablica 10).

Za razliku od navedenog za skupinu A1, u skupini A2 samo 18% bolesnika imalo je pozitivan nalaz endomizijskih protutijela, dok je 8 ispitanika (28%) imalo pozitivan nalaz AGA IgA, a ukupno 17 ispitanika (59%) imalo je pozitivan AGA IgG. Sve negativne nalaze seroloških pretraga imalo je 38% ispitanika skupine A2. Najniža vrijednost AGA IgA bila je 0,23, a najviša 64,9 (uz prosječnu vrijednost 13,25 i medijan 4,28), dok je za AGA IgG najniža vrijednost bila 1,41, a najviša 88,79 (uz prosječnu vrijednost 33,39 i medijan 22,88) (Tablica 10). Daljnja statistička obrada (ROC, AUC krivulje) opisana je u posebnom poglavlju (molim vidjeti poglavlje 4).

Slika 11. Prikaz pozitivnih nalaza seroloških pretraga (izraženih kao postotak od ukupnog broja ispitanih svake pojedine skupine)



Tablica 10. Usporedba nalaza seroloških pretraga učinjenih u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva za skupine A1 i A2.

	Skupina A1	Skupina A2	P
AGA IgA	(N=37)	(N=29)	
- pozitivno	34 (92%)	8 (28%)	p<0,01 ** (t-test)
- negativno	3 (8%)	21 (72%)	(za apsolutne
- min	1,04	0,23	vrijednosti)
- max	106	64,90	p<0,001 ** (X^2-test)
- medijan	40,74	4,28	(za poz vs neg nalaz)
- srednja vrijednost	44,45	13,25	
AGA IgG	(N=37)	(N=29)	
- pozitivno	37 (100%)	17 (59%)	p<0,01 ** (t-test)
- negativno	0 (0%)	12 (41%)	(za apsolutne
- min	17,72	1,41	vrijednosti)
- max	146,52	88,79	p<0,001 ** (X^2-test)
- medijan	87,38	22,88	(za poz vs neg nalaz)
- srednja vrijednost	87,09	33,39	
EMA	N=49	N=34	
- pozitivno	43 (88%)	6 (18%)	p<0,001** (X^2-test)
- negativno	6 (12%)	28 (82%)	

** razlika statistički značajna

2.5.2. Druga biopsija sluznice tankog crijeva – za vrijeme bezglutenske prehrane

Na drugoj biopsiji sluznice tankog crijeva 79% ispitanika skupine A1 imalo je uredan nalaz, dok je 13% imalo infiltrativnu leziju, a dva bolesnika imala su hiperplastičnu i tri destruktivnu leziju sluznice. U skupini A2 89% ispitanika imalo je uredan nalaz, 8% je imalo infiltrativnu leziju, a samo jedan bolesnik imao je nalaz parcijalne atrofije (uz negativnu serologiju na celijakiju).

2.5.3. Završna dijagnostika

2.5.3.a. Treća biopsija sluznice tankog crijeva – nakon opterećenja glutenom

Prema važećim klasičnim kriterijima za dijagnozu celijakije koje je postavilo Europsko društvo za dječju gastroenterologiju i prehranu, kod ispitanika je provedeno opterećenje glutenom i učinjena treća biopsija sluznice tankog crijeva. Na temelju dobivenih nalaza treće biopsije ispitanici su i podijeljeni na skupine A1 i A2, ovisno o tomu je li im potvrđena ili nije dijagnoza celijakije.

Tijekom opterećenja glutenom, koje je provođeno od najmanje 2 mjeseca do najviše 132 mjeseca (prosječno 18,1 mjesec, medijan 6 mjeseci) u skupini A1, 27 ispitanika (26%) imalo je subjektivne simptome bolesti: najčešće su se žalili na bol u trbuhu, proljev, slabiji apetit i gubitak tjelesne mase te nadutost trbuha i povraćanje. U skupini A2 opterećenje je trajalo od najmanje 2 do najviše 120 mjeseci (prosječno 22,4) i nakon toga učinjena biopsija sluznice tankog crijeva u ovih bolesnika bila je uredna. Od ukupno 52 bolesnika skupine A2, 6 (12%) ih je tijekom opterećenja

glutenom imalo subjektivne tegobe (bolovi u trbuhu, slabiji apetit, povraćanje, promjene na koži), što je uz vjerojatnost od 0,03 statistički značajno rjeđe u odnosu na skupinu A1 (X^2-test). Za napomenuti je da je uzrok dugotrajnom opterećenju glutenom u nekih bolesnika (najviše 11 godina u skupini A1 i 10 godina u skupini A2) nejavljanje na kontrole i odbijanje biopsija zbog subjektivno dobrog općeg stanja djeteta na prehrani s glutenom.

Ispitanici obje skupine imali su u prosjeku 6 godina i 3 mjeseca (za skupinu A1 medijan 6 godina, a A2 5,5 godina) kada im je učinjena treća biopsija sluznice tankog crijeva nakon opterećenja glutenom.

U skupini A1 63 ispitanika (61%) imalo je destruktivnu leziju, a 32 (32%) hiperplastičnu leziju. Od ispitanika koji su imali destruktivnu leziju, 49 ih je imalo leziju tipa Marsh IIIc (totalnu atrofiju), 8 Marsh IIIb (subtotalnu atrofiju) i 6 Marsh IIIa (blagu ili parcijalnu atrofiju) (Tablica 11). Osam ispitanika imalo je infiltrativnu leziju, najčešće tešku. Za napomenuti je da je kod četiri bolesnika zbog razvoja simptoma treća biopsija učinjena nakon skraćenog opterećenja, a kod jednog čak nakon samo mjesec dana ponovnog uvođenja bezglutenske prehrane što je vjerojatno dovelo do razvoja samo ovih blagih promjena, ali uz pozitivan nalaz seroloških pretraga (Tablica 11). U skupini A2, 45 ispitanika (86%) imalo je potpuno uredan nalaz (uredan izgled resica i kripti uz uredan broj IEL) na trećoj biopsiji sluznice tankog crijeva nakon opterećenja glutenom. Tri ispitanika (6%) imalo je nalaz graničan za infiltrativnu leziju (uredan izgled resica i kripti uz IEL do 30/100 enterocita), a 4 ispitanika (9%) imalo je blažu infiltrativnu leziju (do najviše 45 IEL/100 enterocita), ali uz uredne serološke pretrage (Tablica 11).

Tablica 11. Prikaz histološkog nalaza treće biopsije sluznice tankog crijeva nakon opterećenja glutenom za skupinu A1 i A2.

	Skupina A1 (N=103)	Skupina A2 (N=52)
Marsh III – destruktivna lezija	63 (61%)	0
Od toga:		
- totalna atrofija	49 (48%)	
- subtotalna atrofija	8 (8%)	
- blaga ili parcijalna atrofija	6 (6%)	
Marsh II – hiperplastična lezija	32 (31%)	0
Marsh I – infiltrativna lezija	8 (8%)	4 (8%)
Granično za infiltrativnu leziju	0	3 (6%)
Uredan nalaz	0	45 (86%)

2.5.3.b. Serološke pretrage nakon opterećenja glutenom

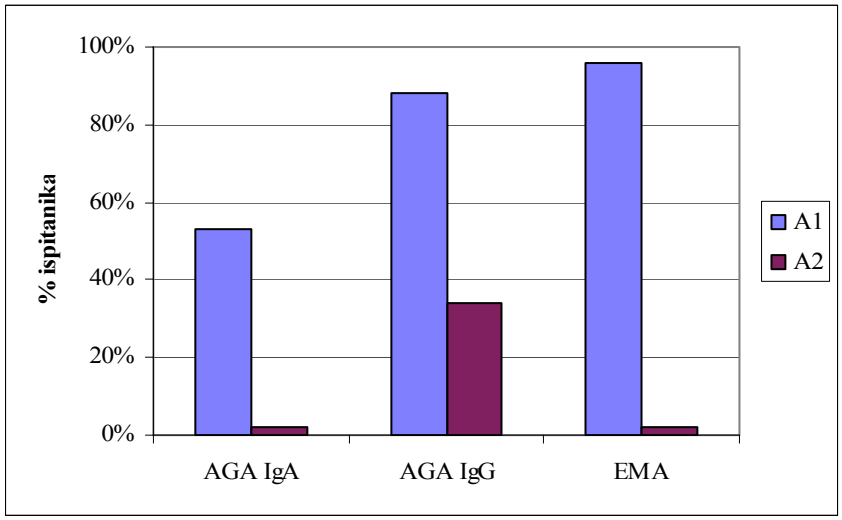
Istodobno s trećom biopsijom učinjene su i serološke pretrage: AGA IgA, AGA IgG te EMA čiji su rezultati prikazani u tablici 12 i na slici 12.

Ukupno je tri ispitanika skupine A1 imalo negativan nalaz EMA, uz histološki nalaz tipičan za celijakiju. Od toga, jednom su ispitaniku protutijela učinjena 2 mjeseca nakon ponovno uvedene bezglutenske prehrane, a jedan ispitanik ima sniženi ukupni IgA, ali je imao povišena IgG antiglijadinska protutijela.

U skupini A2 pozitivan nalaz AGA IgA imao je jedan ispitanik koji je istodobno imao uredan nalaz treće biopsije sluznice tankog crijeva i uredne

vrijednosti AGA IgG i EMA, a i kontrolni serološki nalazi učinjeni kasnije (i dalje je bio na normalnoj prehrani) bili su negativni uključujući i AGA IgA. Slično vrijedi i za jednog ispitanika skupine A2 koji je imao pozitivan nalaz EMA (svi ostali su imali negativne nalaze). Nalaz je semikvantitativno izražen kao slabo pozitivan (1+), a istovremeno je taj ispitanik imao uredan nalaz biopsije sluznice tankog crijeva na opterećenju glutenom i negativne vrijednosti AGA IgA i AGA IgG i kasnije kontrolirani nalazi endomizijskih protutijela (uz nastavljeno opterećenje glutenom) bili su uredni. Nalaz AGA IgG bio je pozitivan u 17 ispitanika (34%) uz uredan nalaz biopsije sluznice tankog crijeva nakon opterećenja i uredne nalaze ostalih seroloških pretraga (slika 12).

Slika 12. Usporedba nalaza seroloških pretraga učinjenih u vrijeme treće biopsije sluznice tankog crijeva (nakon opterećenja glutenom) za skupinu A1 i A2.



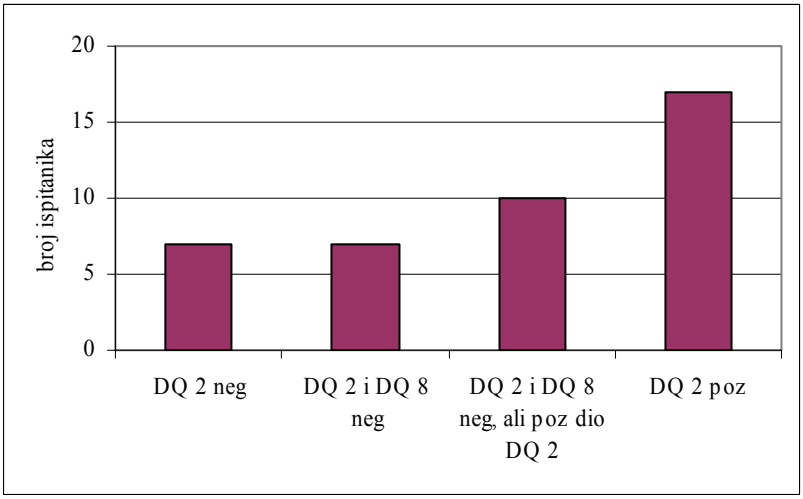
Tablica 12. Usporedba nalaza seroloških pretraga učinjenih u vrijeme treće biopsije sluznice tankog crijeva (nakon opterećenja glutenom) za skupinu A1 i A2.

	Skupina A1	Skupina A2
AGA IgA	(N=73)	(N=50)
- pozitivno	39 (53%)	1 (2%)
- negativno	34 (47%)	49 (98%)
- min	0,48	0,3
- max	53,25	12,2
- medijan	7,48	1,66
- srednja vrijednost	10,44	1,91
AGA IgG	(N=73)	(N=50)
- pozitivno	64 (88%)	17 (34%)
- negativno	9 (12%)	33 (66%)
- min	2,01	1,85
- max	121,7	53,67
- medijan	30,45	9,11
- srednja vrijednost	42,73	15,30
EMA	(N=79)	(N=50)
- pozitivno	76 (96%)	1 (2%)
- negativno	3 (4%)	49 (98%)

2.5.4. HLA tipizacija

U skupini A2 učinjena je HLA tipizacija (određivanje DQ2 ili DQ2 i DQ8) kod 41 bolesnika. Sedamnaest ispitanika (41%) bilo je negativno i za DQ2 i DQ8 heterodimer, ali čak 10 njih bilo je pozitivno za dio heterodimera DQ2. Sedam ispitanika (17%) bilo je negativno za DQ2 – naime, u početku studije određivao se samo DQ2, bez mogućnosti tipizacije DQ8. Pozitivan nalaz DQ2 heterodimera imalo je 17 ispitanika (41%) (slika 13).

Slika 13. Prikaz ispitanika skupine A2 prema nalazu tipizacije HLA DQ heterodimera



3. Ispitanici stariji od 2 godine kod postavljanja sumnje na celijakiju – skupina B

3.1 Opći podaci

U studiju je uključeno ukupno 35 ispitanika (21 dječak i 14 djevojčica) koji su u vrijeme postavljanja sumnje na celijakiju i učinjene prve biopsije sluznice tankog crijeva bili stariji od dvije godine. Svima je dijagnoza celijakije postavljena na temelju klasičnih ili revidiranih ESPGHAN-ovih kriterija.

U tablici 13. prikazane su značajke skupine B u odnosu na spol, porođajnu masu i duljinu te dojenačku prehranu.

3.2. Podaci o prehrani

Podaci o dojenju ispitanika skupine B poznati su za ukupno 26 djece. Raspon trajanja dojenja bio je od 0 do 36 mjeseci (srednja vrijednost 6,2 mjeseca, medijan 2,5 mjeseca). Od toga je ukupno 7 djece dojeno 9 ili više mjeseci, od kojih je 5 djece dojeno je najmanje 12 mjeseci. Jedno dijete je dojeno 6 mjeseci, a preostalih 18 ispitanika dojeni su najviše 4 mjeseca, što se ujedno poklapa i s brojem djece kod koje je gluten uveden nakon prestanka dojenja. Gluten je uveden u dohranu, najčešće u obliku keksa ili griza u dobi od navršenih 3 do 8 mjeseci (prosječno u dobi 5,07 mjeseci, medijan 5 mjeseci).

U usporedbi s ispitanicima skupine A1, dojenje je u skupini B trajalo statistički značajno duže. Sukladno s dužim dojenjem, u usporedbi sa skupinom A1, u skupini B i gluten je statistički značajno češće uveden za vrijeme dok su djeca još bila dojena (Tablica 13).

Tablica 13. Podjela ispitanika skupine B prema spolu, porođajnoj masi i duljini.

	B (N=35)	A1 (N=103)	p
Spol			
- djevojčice	14 (40%)	69 (67%)	P<0,01 **
- dječaci	21 (60%)	34 (33%)	(X^2 test)
Porođajna masa			
- srednja vrijednost	3205 g	3317 g	p>0,05 *
- raspon	1500-3950g	2050-4900 g	(t-test)
Porođajna duljina			
- srednja vrijednost	50 cm	50 cm	p>0,05 *
- raspon	40-54 cm	42-58 cm	(t-test)
Trajanje dojenja			
- prosječno	6,16 mjeseci	2,14 mjeseca	p<0,05 **
- medijan	2,5 mjeseca	1,5 mjesec	(t-test)
- raspon	0-36 mjeseci	0-10 mjeseci	
Vrijeme uvođenja glutena			
- prosječno	5,07 mjeseci	4,38 mjeseca	p>0,05 *
- medijan	5 mjeseci	4 mjeseca	(t-test)
- raspon	3-8 mjeseci	1-8 mjeseci	
Uvođenje glutena za dojenja			
- da	7 (20%)	6 (7%)	p<0,01 **
- nepoznato	9 (26%)		(X^2 test)
- ne	19 (54%)	97 (94%)	

* razlika nije statistički značajna ** razlika statistički značajna

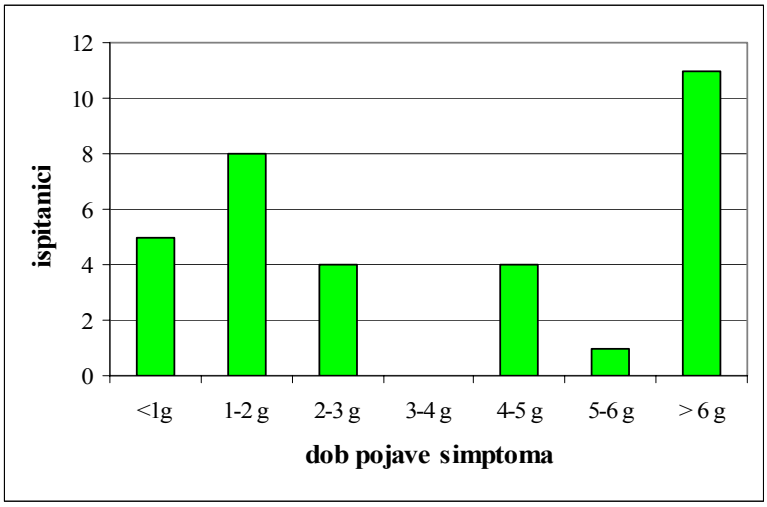
3.3 Osobna i obiteljska anamneza

Od ukupno 35 ispitanika skupine B, 6 je imalo pozitivnu osobnu anamnezu za alergije i 4 je imalo kronični ili recidivirajući proljev. Jedno dijete ima Downov sindrom, ali celijakija ovom djetetu nije otkrivena probirom u okviru genetske obrade već zbog gastrointestinalnih tegoba. Ukupno je 21 ispitanik imao odstupanja u obiteljskoj anamnezi, i to 6 ispitanika imalo je pozitivnu obiteljsku anamnezu za alergije, troje za celijakiju (svi su imali srodnika u prvom koljenu), troje je imalo bliskog srodnika s malignom bolesti, a po jedan s epilepsijom, funkcionalnim poremećajem crijeva, psorijazom i ostalo.

3.4. Podaci o kliničkoj slici

Pet ispitanika skupine B imalo je prve simptome bolesti već tijekom dojenačke dobi (najranije u dobi od 6 mjeseci), a kod sljedećih 8 prvi simptomi javili su se u drugoj godini života. Drugim riječima, iako je ukupno čak 37% ispitanika imalo simptome tijekom prve dvije godine života dijagnoza celijakije postavljena je kasnije (Slika 14). Nadalje, dvoje ispitanika nije imalo simptoma, nego je otkriveno probirom u obiteljima u kojima je po jednom članu već ranije dijagnosticirana celijakija.

Slika 14. Podjela ispitanika grupe B prema dobi kada su se javili prvi simptomi bolesti



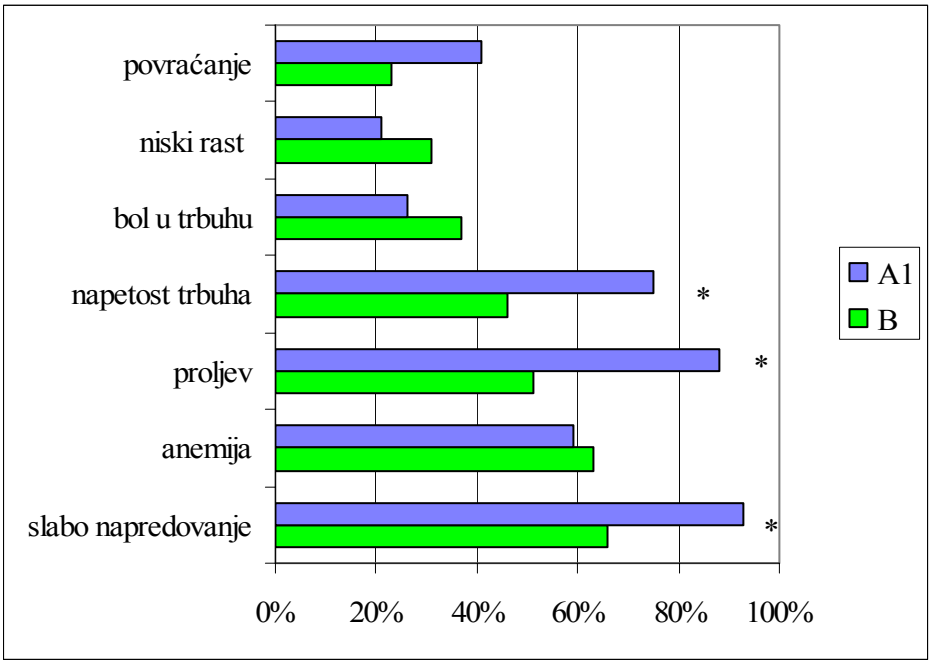
Bolest se najčešće očitovala slabijim napredovanjem i/ili gubitkom na tjelesnoj masi i to u ukupno 23 (66%) ispitanika te anemijom u 22 ispitanika (63%). Proljev je imao svaki drugi bolesnik (51%), dok je veliki, izbočeni trbuh imalo 46%, a bolove u trbuhu 37% ispitanika. Niskog rasta bilo je ukupno 31% ispitanika, a u gotovo svakog četvrtog bolesnika bolest se očitovala povraćanjem (23%). Jedan ispitanik imao je samo kronično povišene vrijednosti transaminaza, a jedan samo opstipaciju (Tablica 14, Slika 15). U usporedbi sa skupinom A1 (ispitanici kojima je potvrđena dijagnoza celijakije, a koji su u trenutku postavljanja sumnje bili mlađi od 2 godine), u skupini B su slabije napredovanje na tjelesnoj masi, proljev i izbočeni trbuh značajno rjeđe bili vodeći simptomi bolesti (Tablica 14).

Tablica 14. Prikaz najčešćih simptoma kojima se bolest očitovala u skupini B i usporedba sa skupinom A1.

	B (N=35)	A1 (N=103)	p (X^2 test)
Slabije napredovanje i/ili gubitak na TM	23 (66%)	96 (93%)	p<0,01 **
Anemija	22 (63%)	61 (59%)	p>0,05 *
Proljev	18 (51%)	91 (88%)	p<0,01 **
Izbočen trbuh	16 (46%)	77 (75%)	p<0,01 **
Bolovi u trbuhu	13 (37%)	27 (26%)	p>0,05 *
Niski rast	11 (31%)	22 (21%)	p>0,05 *
Povraćanje	8 (23%)	42 (41%)	p>0,05 *

* razlika nije statistički značajna; ** razlika statistički značajna

Slika 15. Prikaz simptoma kojima se bolest očitovala u skupini B u usporedbi sa skupinom A1



* razlike statistički značajne (p<0,01)

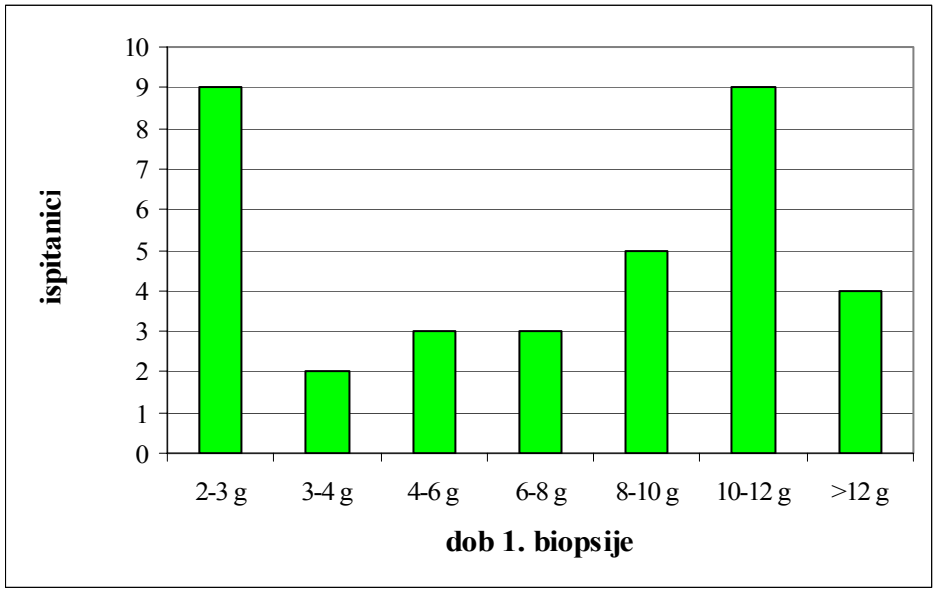
3.5. Rezultati dijagnostičkih pretraga

3.5.1. Prva biopsija sluznice tankog crijeva

Od ukupno 35 ispitanika skupine B, koji su u trenutku postavljanja sumnje na celijakiju i započinjanja dijagnostičkog postupka bili stariji od dvije godine, gotovo četvrtina ispitanika (9 ispitanika, 26%) imala je između navršene dvije i tri godine. Preostalih 26 ispitanika imalo je od navršene tri do najviše 17,4 godina (Slika 16).

Od pojave prvih simptoma bolesti pa do prve biopsije sluznice tankog crijeva bilo je potrebno prosječno gotovo 3 godine i 8 mjeseci (od 1 mjesec do gotovo 12 godina) (Slika 17, Tablica 15).

Slika 16. Podjela ispitanika skupine B prema dobi kada je učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva zbog sumnje na celijakiju

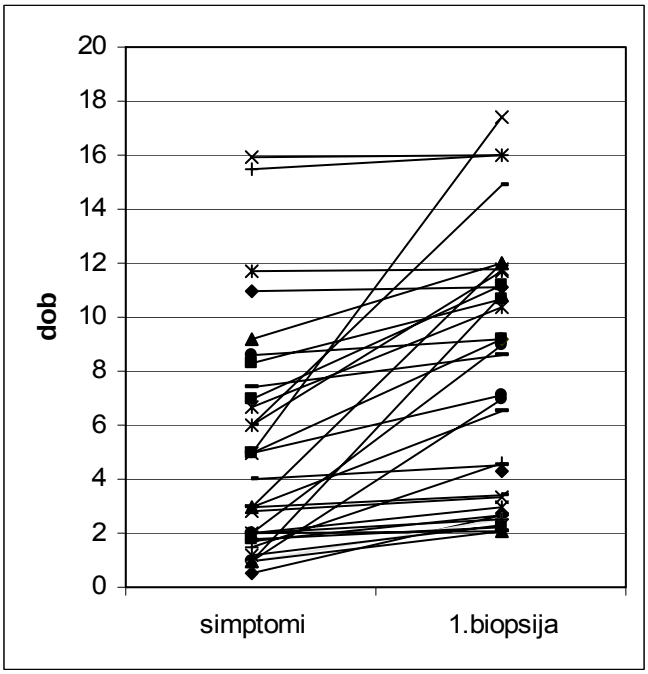


Tablica 15. Prikaz podataka o pojavi simptoma bolesti, o dobi kada je učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva te o vremenu koje je bilo potrebno od pojave simptoma do započinjanja dijagnostičkog postupka za skupinu B.

	Skupina B (N=35)	Skupina A1 (N=103)	P
Vrijeme od uvođenja glutena do pojave simptoma (mj)			
- srednja vrijednost	56,09	5,24	p<0,05 **
- medijan	32	5	(t-test)
- raspon	1-180	0,5-16	
Pojava simptoma (dob - mj)			
- srednja vrijednost	58,94	9,71	p<0,01 **
- medijan	36	9	(t-test)
- raspon	6-191	2-21	
Prva biopsija sluznice tankog crijeva (dob - mj)			
- srednja vrijednost	93,94	12,80	-
- medijan	103	12	
- raspon	25-209	4-24	
Vrijeme od pojave simptoma do prve biopsije sluznice tankog crijeva (mj)			
- prosječno	35,47	3,28	p<0,01 **
- medijan	21,5	2	(t-test)
- raspon	1-149	0,5-17	

* razlika nije statistički značajna; ** razlika statistički značajna

Slika 17. Prikaz razdoblja od pojave simptoma do prve biopsije sluznice tankog crijeva za svakog pojedinog ispitanika skupine B



U tablici 16. prikazani su rezultati prvih biopsija sluznice tankog crijeva. Ukupno je 30 ispitanika (86%) imalo destruktivnu leziju sluznice tankog crijeva, a od toga totalnu atrofiju (Marsh IIIc) imalo je 24 ispitanika, dok je subtotalnu ili blažu parcijalnu atrofiju (Marsh IIIb i IIIa) imalo 6 ispitanika. Hiperplastičnu leziju imala su 4 ispitanika (11%), a infiltrativnu leziju 1 bolesnik. Kod većine ispitanika skupine B dijagnoza celijakije postavljena je na temelju revidiranih kriterija ESPGHAN-a koja se temelji na tipičnoj kliničkoj slici, tipičnom histološkom nalazu te kliničkom oporavku na bezglutensku dijetu. U preostalih ispitanika dijagnoza celijakije potvrđena je nakon provedenog klasičnog dijagnostičkog postupnika – koji se temelji na 3 biopsije sluznice tankog crijeva.

Tablica 16. Patohistološki nalazi prve biopsije sluznice tankog crijeva prema Marshovim kriterijima za skupinu B

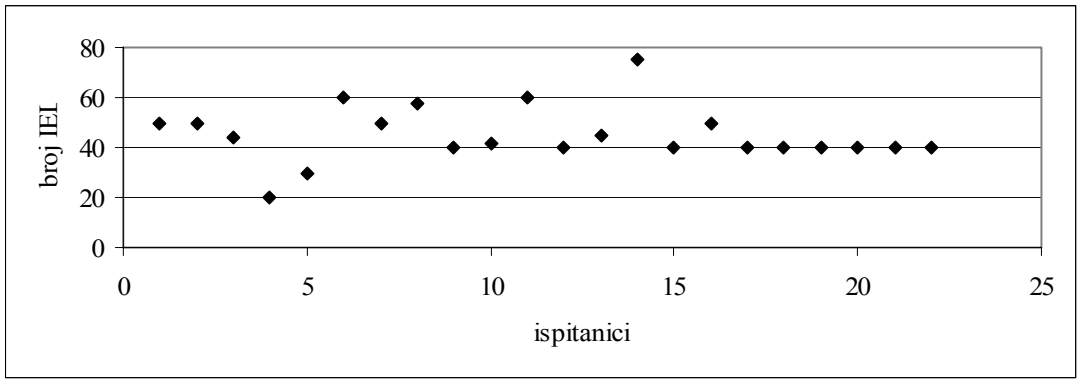
	Skupina B (N=35)	Skupina A1 (N=103)	
Marsh III – destruktivna lezija	30 (86%)	96 (93%)	p>0,05 *
Od toga:			(Mann
- totalna atrofija	24 (69%)	84 (82%)	Whitney U
- subtotalna atrofija	4 (11%)	11 (11%)	test)
- blaga ili parcijalna atrofija	2 (6%)	1 (1%)	
Marsh II – hiperplastična lezija	4 (11%)	6 (6%)	
Marsh I – infiltrativna lezija	1 (2%)	1 (1%)	

* razlika nije statistički značajna

3.5.2. Intraepitelni limfociti

Broj intraepitelnih limfocita u bioptatu točno je određen u 63% bioptata. U ostalim bioptatima, najčešće je samo navedeno da je broj IEL bio visok ili veći od normale (>25/100 enterocita). U jednom bioptatu broj IEL bio je uredan (uz totalnu atrofiju sluznice), dok je u ostalim bioptatima broj IEL bio veći od granične vrijednosti, najmanje 30, a najviše 75/100 enterocita (Slika 18).

Slika 18. Prikaz broja IEL kod ispitanika skupine B



3.5.3. Nalazi seroloških pretraga

Za pozitivan nalaz antiglijadinskih protutijela smatrali su se nalazi >7 za IgA AGA i >15 za IgG AGA. Osam ispitanika (38%) imalo je pozitivan nalaz IgA AGA, a 13 (62%) IgG AGA. Nalazi IgA AGA kretali su se u rasponu od 0,94 do 90,41, a IgG AGA od 8,87 do 113,35. Endomizijska protutijela određivana su kod ukupno 25 ispitanika skupine B i od toga 4 (16%) su bila negativna, a svi ostali (84%) bili su pozitivni. Svi EMA negativni ispitanici imali su sniženi ukupni imunoglobulin A (Tablica 17).

Tablica 17. Nalazi seroloških pretraga učinjenih u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva za skupinu B

	Skupina B	Skupina A1	
AGA IgA	(n=21)	(n=37)	p<0,01 **
- pozitivno	8 (38%)	34 (92%)	(t-test)
- negativno	13 (62%)	3 (8%)	
- raspon	0,94 - 90,41	1,04 – 106	
- medijan	5,83	40,74	
- srednja vrijednost	13,24	44,45	
AGA IgG	(n=21)	(n=37)	p<0,01 **
- pozitivno	18 (86%)	37 (100%)	(t-test)
- negativno	3 (14%)	0 (0%)	
- raspon	8,87 - 113,35	17,72 – 146,52	
- medijan	43,35	87,38	
- srednja vrijednost	43,71	87,09	
EMA	(n=25)	(n=49)	
- pozitivno	21 (84%)	43 (88%)	p>0,05*
- negativno	4 (16%)	6 (12%)	(X^2 test)

* razlika nije statistički značajna ** razlika statistički značajna

3.5.4. Postavljanje konačne dijagnoze celijakije

U ukupno 35 bolesnika skupine B konačna dijagnoza celijakije postavljena je na temelju revidiranih ESPGHAN-ovih kriterija u 26 bolesnika. Svi oni su imali tipičnu prvu biopsiju sluznice tankog crijeva te nakon uvođenja bezglutenske prehrane i negativizaciju seroloških nalaza i/ili klinički oporavak.

U 9 bolesnika postavljena je dijagnoza na temelju klasičnih dijagnostičkih kriterija, to jest na temelju tri biopsije sluznice tankog crijeva. Svih ovih 9 bolesnika imalo je na trećoj biopsiji sluznice tankog crijeva destruktivnu leziju (Marsh III). Četiri bolesnika iz ove skupine, koji imaju sniženi ukupni IgA imali su negativna endomizijska protutijela u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva.

4. Statistička analiza pojedinih čimbenika dijagnostičkog postupka: ROC i AUC krivulje za pojedine čimbenike te linearna regresija i odabir kombinacije najznačajnijih prediktivnih čimbenika

Za sljedeće dijagnostičke parametre učinjena je ROC (engl. receiver operating characteristic) analiza: 1. Marsh kriteriji, 2. IEL, 3. AGA IgA, 4. AGA IgG i 5. EMA. Time je ocijenjena osjetljivost, odnosno specifičnost svake od navedenih metoda u sposobnosti razlikovanja bolesnih (s konačnom dijagnozom celijakije) od zdravih (kojima nije potvrđena dijagnoza celijakije).

4.1. Nalaz biopsije sluznice tankog crijeva prema Marsh kriterijima

Ukoliko se kao pozitivan rezultat testa uzmu nalazi biopsije sluznice tankog crijeva označeni kao Marsh II (hiperplastična) ili III (destruktivna lezija), osjetljivost testa iznosi 99%, a specifičnost 10%, dok je pozitivna prediktivna vrijednost 68% i negativna prediktivna vrijednost 17%. Ako se pak kao pozitivni rezultat smatra samo Marsh III, osjetljivost pada na 93%, a specifičnost raste 37%, dok je pozitivna prediktivna vrijednost 74%, a negativna 27% (Tablica 18). Prema ROC analizi, nalaz sluznice tankog crijeva označen s Marsh IIIb ima najveću točnost, odnosno najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata (Tablica 19).

Tablica 18. Prikaz ocjene valjanosti određivanja Marshovih kriterija (II + III)

	Marsh II+III	Marsh I
A1	102	1
A2	47	5
osjetljivost		0,99
specifičnost		0,10
lažno pozitivni		0,90
lažno negativni		0,01
točna dijagnoza		0,69
kriva dijagnoza		0,31
poz. prediktivna vrijednost		0,68
neg. prediktivna vrijednost		0,17

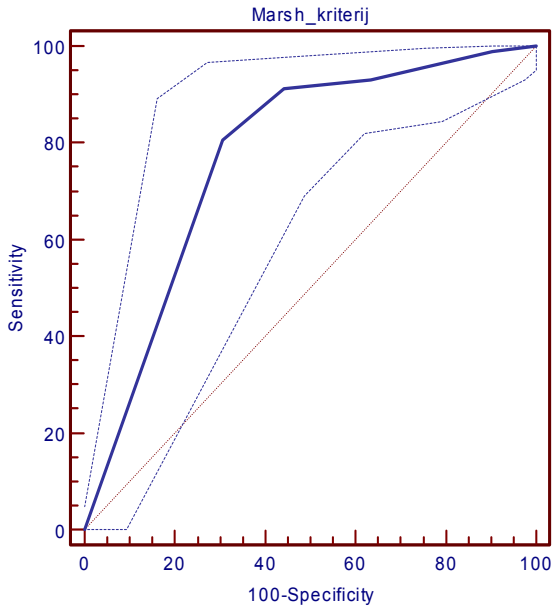
	Marsh III	Marsh I+II
A1	96	7
A2	33	19
osjetljivost		0,93
specifičnost		0,37
lažno pozitivni		0,63
lažno negativni		0,07
točna dijagnoza		0,74
kriva dijagnoza		0,26
poz. prediktivna vrijednost		0,74
neg. prediktivna vrijednost		0,27

Tablica 19. Rezultati ROC analize za nalaz biopsije sluznice tankog crijeva prema Marshovim kriterijima

AUC (aArea under the ROC curve) = 0,771 Standardna pogreška = 0,037 95% Confidence interval = 0,697 to 0,835 P (Area=0.5) < 0,0001				
Kriterij	Osjetljivost (95% C.I.)	Specifičnost (95% C.I.)	+LR	-LR
I	100,0 (96,4-100,0)	0,0 (0,0-6,9)	1,00	
> I	99,0 (94,7-99,8)	9,6 (3,2-21,0)	1,10	0,10
> II	93,2 (86,5-97,2)	36,5 (23,6- 51,0)	1,47	0,19
> IIIa	91,3 (84,1-95,9)	55,8 (41,3- 69,5)	2,06	0,16
> IIIb*	**81,6 (72,7-88,5)**	**69,2 (54,9- 81,3)**	**2,62**	**0,28**
> IIIc	0,0 (0,0-3,6)	100,0 (93,1-100,0)		1,00

*kriterij s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata

Slika 19. ROC krivulja za nalaz prve biopsije sluznice tankog crijeva prema Marsh kriterijima



4.2. Broj IEL na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva

Nadalje je razmatran broj IEL na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva. Kao pozitivan rezultat smatran je broj intraepitelijalnih limfocita iznad 25 i tada je osjetljivost iznosila 98%, a specifičnost 3%, uz pozitivnu prediktivnu vrijednost od 66% i negativnu 50%. Ako se kao granična vrijednost uzme 40 IEL, tada je osjetljivost testa 86%, a specifičnost 31% (Tablica 20). Na slici 21 i tablici 21 prikazani su ROC krivulja i ROC analiza prema kojoj je 44 IEL vrijednost s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata.

Tablica 20. Prikaz ocjene valjanosti određivanja intraepitelnih limfocita u bioptatu sluznice tankog crijeva ovisno o tome je li granična vrijednost 25 ili 40 IEL na 100 enterocita.

	IEL <25	IEL >25
A1	1	55
A2	1	28
osjetljivost		0,98
specifičnost		0,03
lažno pozitivni		0,97
lažno negativni		0,02
točna dijagnoza		0,66
kriva dijagnoza		0,34
poz. prediktivna vrijednost		0,66
neg. prediktivna vrijednost		0,5

	IEL <40	IEL >40
A1	8	48
A2	9	20
osjetljivost		0,86
specifičnost		0,31
lažno pozitivni		0,69
lažno negativni		0,14
točna dijagnoza		0,67
kriva dijagnoza		0,33
poz. prediktivna vrijednost		0,71
neg. prediktivna vrijednost		0,47

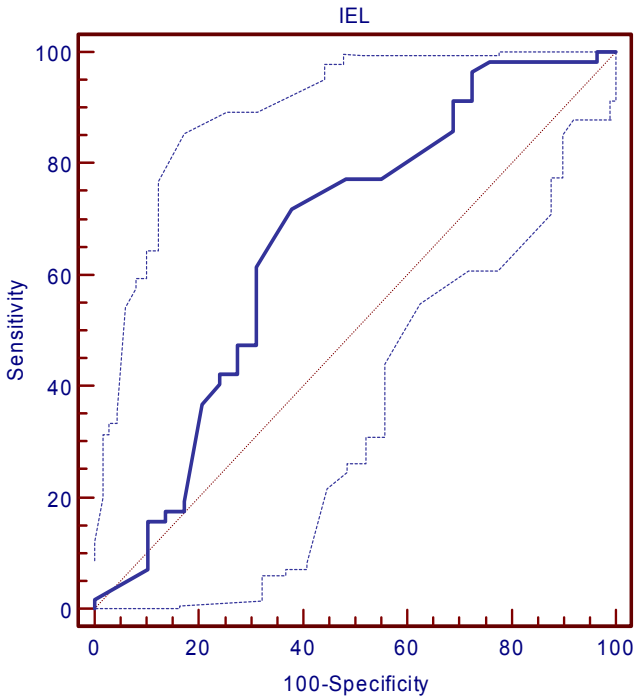
Tablica 21. Rezultati ROC analize za broj IEL na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva

Area under the ROC curve = 0,662 Standard error = 0,060 95% Confidence interval = 0,551 to 0,760 P (Area=0.5) = 0,0068				
Kriterij	Osjetljivost (95% C.I.)	Specifičnost (95% C.I.)	+LR	-LR
>=17	100,0 (93,7-100,0)	0,0 (0,0-12,1)	1,00	
> 17	100,0 (93,7-100,0)	3,4 (0,6-17,8)	1,04	0,00
> 24	98,2 (90,6-99,7)	3,4 (0,6-17,8)	1,02	0,51
> 25	98,2 (90,6-99,7)	6,9 (1,0-22,8)	1,06	0,25
> 30	98,2 (90,6-99,7)	10,3 (2,3-27,4)	1,10	0,17
> 32	98,2 (90,6-99,7)	24,1 (10,3-43,5)	1,30	0,07
> 33	96,5 (87,9-99,5)	27,6 (12,8-47,2)	1,33	0,13
> 34	91,2 (80,7-97,1)	27,6 (12,8-47,2)	1,26	0,32
> 35	91,2 (80,7-97,1)	31,0 (15,3-50,8)	1,32	0,28
> 36	86,0 (74,2- 93,7)	31,0 (15,3-50,8)	1,25	0,45
> 40	77,2 (64,2-87,2)	44,8 (26,5-64,3)	1,40	0,51
> 42	77,2 (64,2- 87,2)	51,7 (32,5- 70,5)	1,60	0,44
> 44 *	**71,9 (58,5- 83,0)**	**62,1 (42,3- 79,3)**	**1,90**	**0,45**
> 45	66,7 (52,9- 78,6)	65,5 (45,7- 82,0)	1,93	0,51
46	61,4 (47,6- 74,0)	69,0 (49,2- 84,7)	1,98	0,56
>50	47,4 (34,0- 61,0)	69,0 (49,2- 84,7)	1,53	0,76
>51	47,4 (34,0- 61,0)	72,4 (52,8- 87,2)	1,72	0,73

> 52	43,9 (30,7- 57,6)	72,4 (52,8- 87,2)	1,59	0,78
> 53	42,1 (29,1- 55,9)	72,4 (52,8- 87,2)	1,53	0,80
> 54	42,1 (29,1- 55,9)	75,9 (56,5- 89,7)	1,74	0,76
> 55	40,4 (27,6- 54,2)	75,9 (56,5- 89,7)	1,67	0,79
> 56	36,8 (24,5- 50,7)	79,3 (60,3- 92,0)	1,78	0,80
> 60	19,3 (10,1- 31,9)	82,8 (64,2- 94,1)	1,12	0,98
> 62	17,5 (8,8- 29,9)	82,8 (64,2- 94,1)	1,02	1,00
> 64	17,5 (8,8- 29,9)	86,2 (68,3- 96,0)	1,27	0,96
> 65	15,8 (7,5- 27,9)	86,2 (68,3- 96,0)	1,14	0,98
> 66	15,8 (7,5- 27,9)	89,7 (72,6- 97,7)	1,53	0,94
> 68	14,0 (6,3- 25,8)	89,7 (72,6- 97,7)	1,36	0,96
> 70	7,0 (2,0- 17,0)	89,7 (72,6- 97,7)	0,68	1,04
> 80	1,8 (0,3- 9,4)	100,0 (87,9-100,0)		0,98
> 90	0,0 (0,0- 6,3)	100,0 (87,9-100,0)		1,00

*kriterij s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata

Slika 21. ROC krivulja za broj IEL na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva



4.3. Serološke pretrage

Za antiglijadinska protutijela IgA klase osjetljivost je bila 92%, specifičnost 72%, pozitivna prediktivna vrijednost 81%, a negativna 12%, dok je za antiglijadinska protutijela IgG klase osjetljivost bila 100%, specifičnost 41% pozitivna prediktivna vrijednost 69% i negativna 0% (Tablica 22). Prema ROC analizi za AGA IgA (Tablica 23 i Slika 22) vrijednost s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata je 6,64 (pri čemu je osjetljivost 92,5%, a specifičnost 68,2%), dok je za AGA IgG optimalna vrijednost 74,01 pri čemu je osjetljivost bila 73%, a specifičnost 96%.

Tablica 22. Prikaz ocjene valjanosti određivanja antiglijadinskih protutijela IgA i IgG klase

	AGA IgA <7	AGA IgA >7
A1	3	34
A2	21	8
osjetljivost		0,92
specifičnost		0,72
lažno pozitivni		0,28
lažno negativni		0,08
točna dijagnoza		0,83
kriva dijagnoza		0,17
poz. prediktivna vrijednost		0,81
neg. prediktivna vrijednost		0,12

	AGA IgG <15	AGA IgG >15
A1	0	37
A2	12	17
osjetljivost		1
specifičnost		0,41
lažno pozitivni		0,59
lažno negativni		0
točna dijagnoza		0,74
kriva dijagnoza		0,26
poz. prediktivna vrijednost		0,69
neg. prediktivna vrijednost		0

Tablica 23. ROC analiza za antiglijadinska protutijela IgA klase

Area under the ROC curve = 0,822

Standard error = 0,052

95% Confidence interval = 0,704 to 0,907

P (Area=0.5) < 0,0001

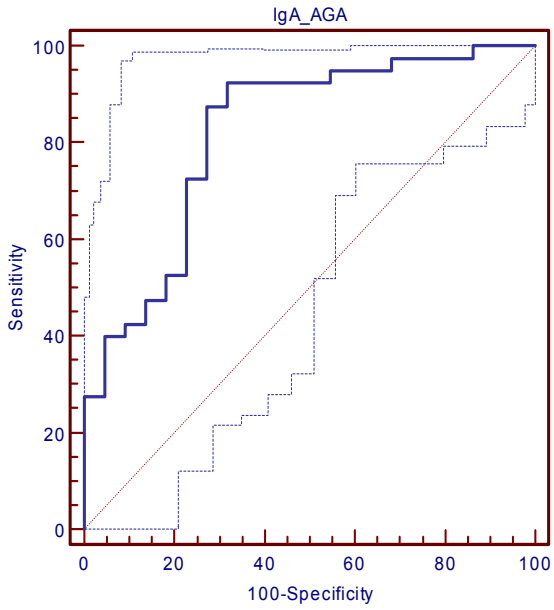
Kriterij	Osjetljivost (95% C.I.)	Specifičnost (95% C.I.)	+LR	-LR
>=0,23	100,0 (91,1-100,0)	0,0 (0,0-15,6)	1,00	
> 0,23	100,0 (91,1-100,0)	4,5 (0,8-22,9)	1,05	0,00
> 0,66	100,0 (91,1-100,0)	9,1 (1,4-29,2)	1,10	0,00
> 0,87	100,0 (91,1-100,0)	13,6 (3,1-34,9)	1,16	0,00
> 1,04	97,5 (86,8-99,6)	13,6 (3,1-34,9)	1,13	0,18
> 1,37	97,5 (86,8-99,6)	18,2 (5,3-40,3)	1,19	0,14
> 1,49	97,5 (86,8- 99,6)	22,7 (7,9- 45,4)	1,26	0,11
> 1,68	97,5 (86,8- 99,6)	27,3 (10,8- 50,2)	1,34	0,09
> 1,80	97,5 (86,8- 99,6)	31,8 (13,9- 54,9)	1,43	0,08
> 2,07	95,0 (83,0- 99,2)	31,8 (13,9- 54,9)	1,39	0,16
> 2,08	95,0 (83,0- 99,2)	36,4 (17,2- 59,3)	1,49	0,14
> 2,09	95,0 (83,0- 99,2)	40,9 (20,7- 63,6)	0,61	0,12
> 2,67	95,0 (83,0- 99,2)	45,5 (24,4- 67,8)	1,74	0,11
> 3,26	92,5 (79,6- 98,3)	45,5 (24,4- 67,8)	1,70	0,16
> 3,45	92,5 (79,6- 98,3)	50,0 (28,2- 71,8)	1,85	0,15
> 5,12	92,5 (79,6- 98,3)	54,5 (32,2- 75,6)	2,03	0,14
>5,3	92,5 (79,6- 98,3)	59,1 (36,4- 79,3)	2,26	0,13

> 6,46	92,5 (79,6- 98,3)	63,6 (40,7- 82,8)	2,54	0,12
> 6,64 *	**92,5 (79,6- 98,3)**	**68,2 (45,1- 86,1)**	**2,91**	**0,11**
>7,5	90,0 (76,3- 97,1)	68,2 (45,1- 86,1)	2,83	0,15
> 7,6	87,5 (73,2- 95,8)	68,2 (45,1- 86,1)	2,75	0,18
> 9	87,5 (73,2- 95,8)	72,7 (49,8- 89,2)	3,21	0,17
> 11,63	85,0 (70,2- 94,3)	72,7 (49,8- 89,2)	3,70	0,16
> 12,03	82,5 (67,2- 92,6)	72,7 (49,8- 89,2)	3,02	0,24
> 13,39	80,0 (64,3- 90,9)	72,7 (49,8- 89,2)	2,93	0,27
> 14	77,5 (61,5- 89,1)	72,7 (49,8- 89,2)	2,84	0,31
> 16,82	75,0 (58,8- 87,3)	72,7 (49,8- 89,2)	2,75	0,34
> 16,9	72,5 (56,1- 85,4)	72,7 (49,8- 89,2)	2,66	0,38
> 18,56	72,5 (56,1- 85,4)	77,3 (54,6- 92,1)	3,19	0,36
> 19,99	70,0 (53,5- 83,4)	77,3 (54,6- 92,1)	3,08	0,39
> 22,3	67,5 (50,9- 81,4)	77,3 (54,6- 92,1)	2,97	0,42
> 22,88	65,0 (48,3- 79,4)	77,3 (54,6- 92,1)	2,86	0,45
> 22,9	62,5 (45,8- 77,3)	77,3 (54,6- 92,1)	2,75	0,49
> 23,6	60,0 (43,3- 75,1)	77,3 (54,6- 92,1)	2,64	0,52
> 26,42	57,5 (40,9- 72,9)	77,3 (54,6- 92,1)	2,53	0,55
> 28,36	55,0 (38,5- 70,7)	77,3 (54,6- 92,1)	2,42	0,58
> 29	52,5 (36,1- 68,5)	77,3 (54,6- 92,1)	2,31	0,61
> 31,26	52,5 (36,1- 68,5)	81,8 (59,7- 94,7)	2,89	0,58
> 32,93	50,0 (33,8- 66,2)	81,8 (59,7- 94,7)	2,75	0,61
> 37,64	47,5 (31,5- 63,9)	81,8 (59,7- 94,7)	2,61	0,64
> 38,84	47,5 (31,5- 63,9)	86,4 (65,1- 96,9)	3,48	0,61

> 40,74	45,0 (29,3- 61,5)	86,4 (65,1- 96,9)	3,30	0,64
> 41	42,5 (27,1- 59,1)	86,4 (65,1- 96,9)	3,12	0,67
> 41,12	42,5 (27,1- 59,1)	90,9 (70,8- 98,6)	4,67	0,63
> 45,03	40,0 (24,9- 56,7)	90,9 (70,8- 98,6)	4,40	0,66
> 46,01	40,0 (24,9- 56,7)	95,5 (77,1- 99,2)	8,80	0,63
> 47,33	37,5 (22,7- 54,2)	95,5 (77,1- 99,2)	8,25	0,65
> 51,16	35,0 (20,6- 51,7)	95,5 (77,1- 99,2)	7,70	0,68
> 53,17	32,5 (18,6- 49,1)	95,5 (77,1- 99,2)	7,15	0,71
> 53,61	30,0 (16,6- 46,5)	95,5 (77,1- 99,2)	6,60	0,73
> 59,1	27,5 (14,6- 43,9)	95,5 (77,1- 99,2)	6,05	0,76
> 64,9	27,5 (14,6- 43,9)	100,0 (84,4-100,0)		0,72
> 67,8	25,0 (12,7- 41,2)	100,0 (84,4-100,0)		0,75
> 68,17	22,5 (10,9- 38,5)	100,0 (84,4-100,0)		0,78
> 78,48	20,0 (9,1- 35,7)	100,0 (84,4-100,0)		0,80
> 79,13	17,5 (7,4- 32,8)	100,0 (84,4-100,0)		0,82
> 79,54	15,0 (5,7- 29,8)	100,0 (84,4-100,0)		0,85
> 80,77	12,5 (4,2- 26,8)	100,0 (84,4-100,0)		0,88
> 82,27	10,0 (2,9- 23,7)	100,0 (84,4-100,0)		0,90
> 84,71	7,5 (1,7- 20,4)	100,0 (84,4-100,0)		0,93
> 88,5	5,0 (0,8- 17,0)	100,0 (84,4-100,0)		0,95
> 100,71	2,5 (0,4- 13,2)	100,0 (84,4-100,0)		0,98
> 106	0,0 (0,0- 8,9)	100,0 (84,4-100,0)		1,00

*kriterij s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata

Slika 22. ROC krivulja za antiglijadinska protutijela IgA klase



Tablica 24. ROC analiza za antiglijadinska protutijela IgG klase

Area under the ROC curve = 0,882 Standard error = 0,041 95% Confidence interval = 0,777 to 0,949 P (Area=0.5) < 0,0001				
Kriterij	Osjetljivost (95% C.I.)	Specifičnost (95% C.I.)	+LR	-LR
>=1,41	100,0 (91,1-100,0)	0,0 (0,0- 14,4)	1,00	
> 1,41	100,0 (91,1-100,0)	4,2 (0,7- 21,2)	1,04	0,00
>=2,37	100,0 (91,1-100,0)	8,3 (1,3- 27,0)	1,09	0,00
> 4,83	100,0 (91,1-100,0)	12,5 (2,8- 32,4)	1,14	0,00
> 5,44	100,0 (91,1-100,0)	16,7 (4,8- 37,4)	1,20	0,00

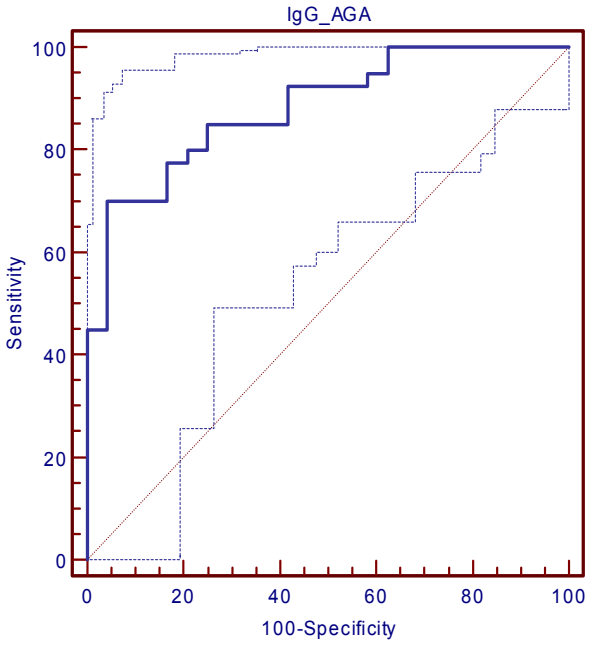
> 5,86	100,0 (91,1-100,0)	20,8 (7,2- 42,2)	1,26	0,00
> 7,28	100,0 (91,1-100,0)	25,0 (9,8- 46,7)	1,33	0,00
> 9,41	100,0 (91,1-100,0)	29,2 (12,7- 51,1)	1,41	0,00
> 11,48	100,0 (91,1-100,0)	33,3 (15,7- 55,3)	1,50	0,00
> 16,03	100,0 (91,1-100,0)	37,5 (18,8- 59,4)	1,60	0,00
> 17,72	97,5 (86,8- 99,6)	37,5 (18,8- 59,4)	1,56	0,07
> 18,08	95,0 (83,0- 99,2)	37,5 (18,8- 59,4)	1,52	0,13
> 20	95,0 (83,0- 99,2)	41,7 (22,1- 63,3)	1,63	0,12
> 20,37	92,5 (79,6- 98,3)	41,7 (22,1- 63,3)	1,59	0,18
> 20,5	92,5 (79,6- 98,3)	45,8 (25,6- 67,2)	1,71	0,16
> 21,7	92,5 (79,6- 98,3)	50,0 (29,1- 70,9)	1,85	0,15
> 24,06	92,5 (79,6- 98,3)	54,2 (32,8- 74,4)	2,02	0,14
> 27,19	92,5 (79,6- 98,3)	58,3 (36,7- 77,9)	2,22	0,13
> 30,1	90,0 (76,3- 97,1)	58,3 (36,7- 77,9)	2,16	0,17
> 39,6	87,5 (73,2- 95,8)	58,3 (36,7- 77,9)	2,10	0,21
> 41,68	85,0 (70,2- 94,3)	58,3 (36,7- 77,9)	2,04	0,26
> 45,4	85,0 (70,2- 94,3)	62,5 (40,6- 81,2)	2,27	0,24
> 47,02	85,0 (70,2- 94,3)	66,7 (44,7- 84,3)	2,55	0,23
> 51,94	85,0 (70,2- 94,3)	70,8 (48,9- 87,3)	2,91	0,21
> 52,1	85,0 (70,2- 94,3)	75,0 (53,3- 90,2)	3,40	0,20
> 55,3	82,5 (67,2- 92,6)	75,0 (53,3- 90,2)	3,30	0,23
> 55,4	80,0 (64,3- 90,9)	75,0 (53,3- 90,2)	3,20	0,27
> 56,1	80,0 (64,3- 90,9)	79,2 (57,8- 92,8)	3,84	0,25
> 61,62	77,5 (61,5- 89,1)	79,2 (57,8- 92,8)	3,72	0,28

> 63	77,5 (61,5- 89,1)	83,3 (62,6- 95,2)	4,65	0,27
> 68,1	75,0 (58,8- 87,3)	83,3 (62,6- 95,2)	4,50	0,30
> 70,67	72,5 (56,1- 85,4)	83,3 (62,6- 95,2)	4,35	0,33
> 72,03	70,0 (53,5- 83,4)	83,3 (62,6- 95,2)	4,20	0,36
> 72,22	70,0 (53,5- 83,4)	87,5 (67,6- 97,2)	5,60	0,34
> 73,34	70,0 (53,5- 83,4)	91,7 (73,0- 98,7)	8,40	0,33
> 74,01 *	**70,0 (53,5- 83,4)**	**95,8 (78,8- 99,3)**	**16,80**	**0,31**
> 75,29	67,5 (50,9- 81,4)	95,8 (78,8- 99,3)	16,20	0,34
> 81,01	65,0 (48,3- 79,4)	95,8 (78,8- 99,3)	15,60	0,37
> 81,09	62,5 (45,8- 77,3)	95,8 (78,8- 99,3)	15,00	0,39
> 82,65	60,0 (43,3- 75,1)	95,8 (78,8- 99,3)	14,40	0,42
> 83,3	57,5 (40,9- 72,9)	95,8 (78,8- 99,3)	13,80	0,44
> 85,56	55,0 (38,5- 70,7)	95,8 (78,8- 99,3)	13,20	0,47
> 85,89	52,5 (36,1- 68,5)	95,8 (78,8- 99,3)	12,60	0,50
> 86,69	50,0 (33,8- 66,2)	95,8 (78,8- 99,3)	12,00	0,52
> 87,38	47,5 (31,5- 63,9)	95,8 (78,8- 99,3)	11,40	0,55
> 88,24	45,0 (29,3- 61,5)	95,8 (78,8- 99,3)	10,80	0,57
> 88,79	45,0 (29,3- 61,5)	100,0 (85,6-100,0)		0,55
> 91,4	42,5 (27,1- 59,1)	100,0 (85,6-100,0)		0,69
> 93	40,0 (24,9- 56,7)	100,0 (85,6-100,0)		0,60
> 96,3	37,5 (22,7- 54,2)	100,0 (85,6-100,0)		0,62
> 100,84	35,0 (20,6- 51,7)	100,0 (85,6-100,0)		0,65
> 101,98	32,5 (18,6- 49,1)	100,0 (85,6-100,0)		0,68
> 106,4	30,0 (16,6- 46,5)	100,0 (85,6-100,0)		0,70

> 111,63	27,5 (14,6- 43,9)	100,0 (85,6-100,0)		0,72
> 112,94	25,0 (12,7- 41,2)	100,0 (85,6-100,0)		0,75
> 113,37	22,5 (10,9- 38,5)	100,0 (85,6-100,0)		0,78
> 113,62	20,0 (9,1- 35,7)	100,0 (85,6-100,0)		0,80
> 116,35	17,5 (7,4- 32,8)	100,0 (85,6-100,0)		0,82
> 117,27	15,0 (5,7- 29,8)	100,0 (85,6-100,0)		0,85
> 118,44	12,5 (4,2- 26,8)	100,0 (85,6-100,0)		0,88
> 123,67	10,0 (2,9- 23,7)	100,0 (85,6-100,0)		0,90
> 127	7,5 (1,7- 20,4)	100,0 (85,6-100,0)		0,93
> 129,09	5,0 (0,8- 17,0)	100,0 (85,6-100,0)		0,95
> 139	2,5 (0,4- 13,2)	100,0 (85,6-100,0)		0,98
> 146,52	0,0 (0,0- 8,9)	100,0 (85,6-100,0)		1,00

*kriterij s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata

Slika 23. ROC krivulja za antiglijadinska protutijela IgG klase



Za endomizijska protutijela osjetljivost je iznosila 88%, specifičnost 82%, dok je pozitivna prediktivna vrijednost bila 88%, a negativna 18% (Tablica 25). ROC krivulja i analiza za endomizijska protutijela prikazani su u tablici 26 i slici 24.

Tablica 25. Prikaz ocjene valjanosti određivanja endomizijskih protutijela

	EMA poz	EMA neg
A1	43	6
A2	6	28

osjetljivost	0,88
specifičnost	0,82
lažno pozitivni	0,18
lažno negativni	0,12
točna dijagnoza	0,86
kriva dijagnoza	0,14
poz. prediktivna vrijednost	0,88
neg. prediktivna vrijednost	0,18

Tablica 26. ROC analiza za endomizijska protutijela

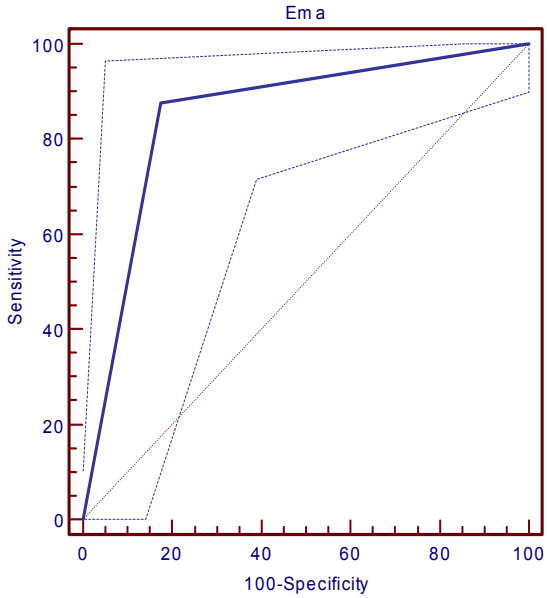
Area under the ROC curve = 0,851

Standard error = 0,041

95% Confidence interval = 0,755 to 0,919

Kriterij	Osjetljivost (95% C.I.)	Specifičnost (95% C.I.)	+LR	-LR
>=0	100,0 (92,7-100,0)	0,0 (0,0- 10,4)	1,00	
> 0 *	**87,8 (75,2- 95,3)**	**82,4 (65,5- 93,2)**	**4,97**	**0,15**
> 1	0,0 (0,0- 7,3)	100,0 (89,6-100,0)		1,00

Slika 24. ROC krivulja za endomizijska protutijela



4.4. Linearna regresija

Zavisna varijabla u logističkoj regresiji bila je konačni ishod dijagnoze (potvrđena celijakija da ili ne, u ispisu rezultata testa označena kao dg). Kao nezavisne varijable korištene su nalaz biopsije sluznice tankog crijeva (označen prema Marshovim kriterijima), broj IEL u bioptatu sluznice tankog crijeva, nalaz EMA (označen kao pozitivan i negativan) te IgA i IgG AGA. Rezultat logističke regresije prikazan je u tablici 27. Analizom je pokazano da su neke varijable (broj IEL u bioptatu sluznice tankog crijeva, IgA AGA i IgG AGA) imale koeficijent regresije koji se nije značajno razlikovao od 0 ($p<0,1$) i zbog toga nisu uključene u regresijski model. Za napomenuti je i da je nalaz biopsije sluznice tankog crijeva izražen prema Marshovim kriterijima od I do IIIc imao regresijski koeficijent koji se nije značajno razlikovao od nule. Tek kada je izražen binarno (nalaz biopsije Marsh IIIc označen kao pozitivan, a o svi ostali kao negativni) imao je dovoljnu diskriminacijsku snagu i uključen je u regresijski model. Stoga su se konačno nalaz biopsije sluznice tankog crijeva Marsh IIIc (koeficijent 1,8355, standardna pogreška 0,7254, $p=0,0114$) i EMA (koeficijent 2,4274, standardna pogreška 0,7242, $p=0,0008$) pokazali kao varijable koje značajno doprinose predikciji konačnog ishoda. Odds ratio za EMA je 11,3289 (C.I. 2,7397 - 46,8449) što znači da je kod djece mlađe od dvije godine s pozitivnim nalazom EMA vjerojatnost pozitivnog ishoda, u ovom slučaju potvrda dijagnoze celijakije, 11 puta veća nego u slučajevima koji su EMA negativni. Za nalaz biopsije sluznice tankog crijeva Marsh IIIc odds ratio bio je 6,2682 (C.I. 1,5125 - 25,9778) što znači da je kod djece mlađe od dvije

godine s nalazom Marsh IIIc na biopsiji sluznice tankog crijeva vjerojatnost da se radi o celijakiji 6 puta veća nego kod ostalih nalaza.

Tablica 27. Rezultat logističke regresije

```
Dependent Y   : dg

Method        : Stepwise
Enter variable if P<0,05
Remove variable if P>0,1


—— Overall Model Fit ————————————————————————————
Null model -2 Log Likelihood = 83,59139
Full model -2 Log Likelihood = 50,74443
Chi-square = 32,8470;  DF = 2;  P < 0,0001

—— Coefficients and Standard Errors ————————————————
Variable                  Coefficient    Std.Err       P
Ema                          2,4274       0,7242     0,0008
mARSH_3C                     1,8355       0,7254     0,0114
Constant                    -1,7931

Variables not included in the model:
IEL_grupe
AGA_IgA
AGA_IgG

—— Odds Ratios and 95% Confidence Intervals ————————————
Variable                      O.R.      95% CI
EMA                          11,3289    2,7397 to 46,8449
MARSH_3C                      6,2682    1,5125 to 25,9778

—— Classification table ————————————————————————————
Actual group    Predicted group     Percent correct
                      0        1
Y = 0                16        7          69,57 %
Y = 1                 1       40          97,56 %
Percent of cases correctly classified =  87,50 %
```

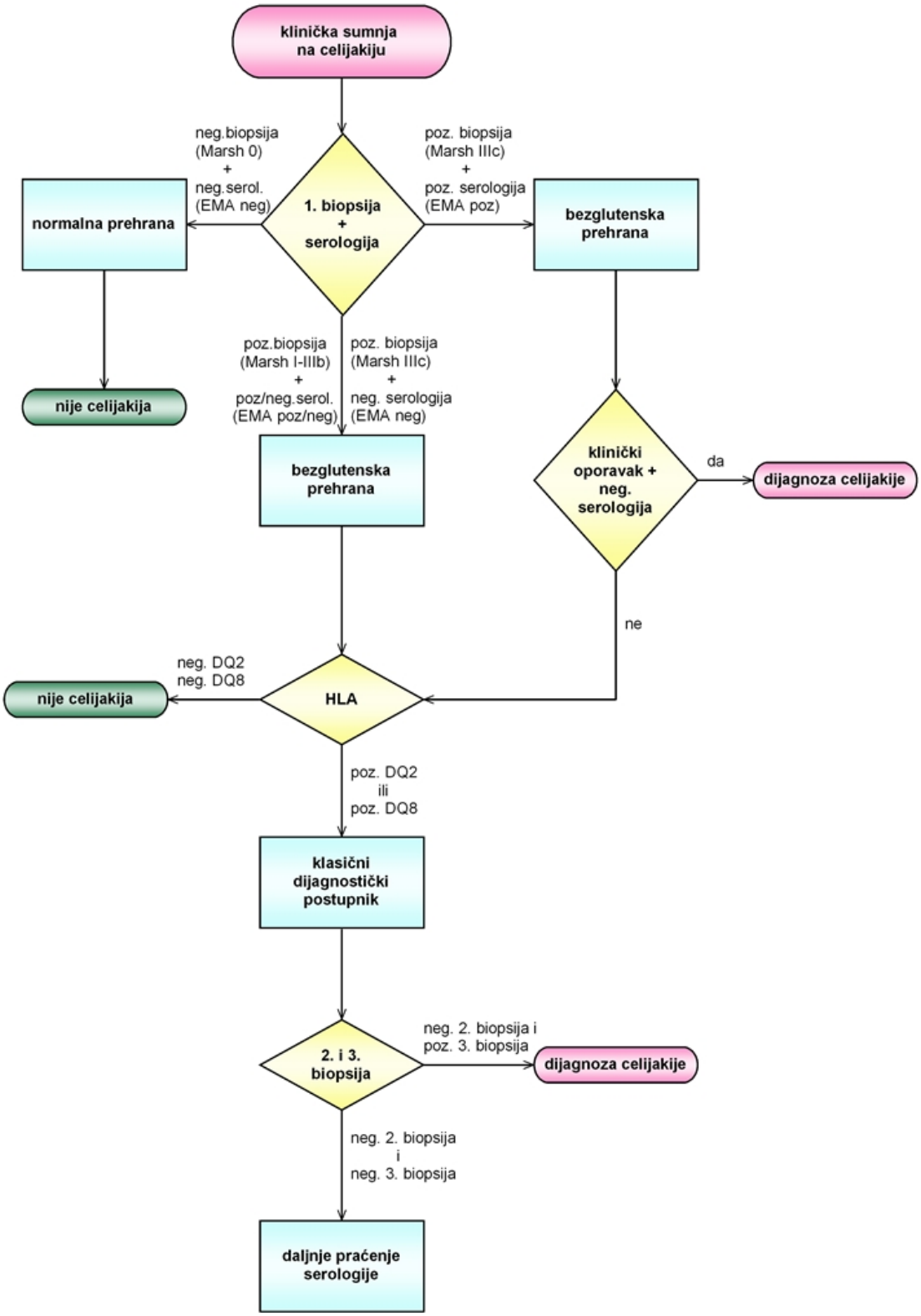
Kao što se vidi u tablici 27, koristeći samo nalaz prve biopsije sluznice tankog crijeva Marsh IIIc i pozitivni nalaza EMA dijagnoza celijakije bila bi točno postavljena u 87,5% slučajeva.

4.5. Prijedlog dijagnostičkog postupnika za celijakiju u djece mlađe od dvije godine

Postupnik za postavljanje dijagnoze celijakije u djece mlađe od dvije godine prikazan na slici 28, a predložen je na temelju rezultata iznesenih u ranijim poglavljima i na temelju rezultata logističke regresije kojom je pokazano da su najbolji prediktori dijagnoze celijakije nalaz Marsh IIIc na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva te pozitivan nalaz EMA.

Na temelju ovog predloženog postupnika nakon postavljanja kliničke sumnje na celijakiju djetetu će se učiniti prva biopsija sluznice tankog crijeva i odrediti endomizijska protutijela. Ukoliko je nalaz i biopsije i seroloških pretraga tipičan za celijakiju (biopsija - destruktivna lezija, Marsh IIIc; pozitivan nalaz endomizijskih protutijela), uvest će se bezglutenska prehrana. Nakon toga ocjenit će se klinički oporavak i odrediti kontrolni nalaz seroloških pretraga. Ukoliko će postojati klinički oporavak i ukoliko dođe do negativizacije seroloških nalaza postavit će se dijagnoza celijakije. Ako neće biti jasnog kliničkog oporavka, odredit će se HLA na temelju kojeg će se moći isključiti celijakija u slučaju da su i DQ2 i DQ8 negativni. U suprotnom (DQ2 ili DQ8 pozitivni) prijeći će se na klasični dijagnostički postupnik koji se temelji na tri biopsije sluznice tankog crijeva. Klasični dijagnostički postupak provest će se (nakon tipizacije HLA heterodimera) i u djece koja će na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva imati subtotalnu ili parcijalnu atrofiju resica (Marsh IIIb i IIIa) te hiperplastičnu ili infiltrativnu leziju.

Slika 28. Postupnik za dijagnozu celijakije u djece mlađe od 2 godine



4.6. Usporedba dijagnostičkih metoda:

a) prema klasičnom postupniku i

b) prema novom predloženom postupniku

U tablici 29. prikazana je usporedba rezultata klasičnog ESPGHAN-ovog dijagnostičkog kriterija za celijakiju za djecu mlađu od dvije godine u odnosu na rezultate koji bi se u istoj skupini bolesnika dobili po predloženom dijagnostičkom postupniku prikazanom na slici 28. Prema ovdje predloženom dijagnostičkom postupniku dijagnozu celijakije bilo bi moguće postaviti na temelju jedne biopsije sluznice tankog crijeva i pozitivnih seroloških nalaza (EMA) u ukupno 71% ispitanika skupine A1. Na taj način trebalo bi u manje od 30% ispitanika provesti klasičan dijagnostički postupak od 3 biopsije, a kod ostalih dijagnoza bi mogla biti postavljena na temelju 1 biopsije i pozitivnog nalaza endomizijskih antitijela. Za napomenuti je da i unutar skupine A2 postoje 4 bolesnika koji po novom predloženom dijagnostičkom postupniku imaju celijakiju, a prema klasičnom ESPGHAN-ovom postupniku nakon treće biopsije sluznice tankog crijeva nije im potvrđena dijagnoza celijakije, iako se vjerojatno radi o kasnim relapserima. Međutim, važno je naglasiti da prema ovom predloženom i pojednostavljenom postupniku niti jedan bolesnik s celijakijom ne bi bio propušten, naime svi oni kojima se dijagnoza celijakije ne bi mogla postaviti na temelju jedne biopsije i pozitivnog nalaza EMA uključuju se u dijagnostički postupak s tri biopsije sluznice tankog crijeva.

Tablica 29. Usporedba klasičnog ESPGHAN-ovog i predloženog, pojednostavljenog dijagnostičkog postupnika.

	A1	A2
Dijagnoza celijakije postavljena na temelju klasičnog ESPGHAN-ovog postupnika (3 biopsije)	100%	0%
Dijagnoza celijakije postavljena na temelju pojednostavljenog postupnika (1 biopsija + poz. EMA)	71%	12%

R A S P R A V A

1. Obilježja celijakije u djece mlađe od dvije godine

Na temelju brojnih studija provedenih diljem svijeta poznato je da je prevalencija celijakije 1:100. Međutim, većina ovih bolesnika nije prepoznata jer na jednog dijagnosticiranog dolazi oko 7 nedijagnosticiranih bolesnika (185). Iako se dijagnoza celijakije može postaviti u bilo kojoj životnoj dobi, najčešće se dijagnosticira u djetinjstvu te nakon toga u 3. ili 4. desetljeću života (11,185). U dobi do dvije godine bolest se najčešće očituje klasičnom kliničkom slikom koju označavaju proljev, gubitak tjelesne mase, napuhani trbuh, slabost i anemija. Međutim, ova klasična slika danas je sve rjeđa, i u većini zapadnih zemalja opisano je da većinu bolesnika čine starija djeca i odrasli koji imaju blaže i nejasnije simptome (bol u trbuhu, napuhivanje, opstipacija) ili su čak i bez simptoma (11,86,185). Osim toga, sve je više i bolesnika koji se otkrivaju u okviru obrade anemije, niskog rasta ili drugih «neklasičnih» simptoma (185,186,187). Nedavno objavljena studija iz Velike Britanije pokazala je da je od 1943. do 1983. godine od ukupnog broja dijagnosticiranih 46,6% bolesnika bilo mlađe od 2 godine (medijan godina iznosio je 1,5 godina), a u skupini odraslih medijan je bio 46,3 godine (188). Ipak, od sredine 70-tih godina zabilježen je značajni pad incidencije celijakije u Engleskoj, Škotskoj, Irskoj i nekim drugim zemljama dok je u Finskoj, na primjer, zabilježen samo pad incidencije za ranu dječju dob, ali i pomak prema blažoj kliničkoj slici i kasnijoj školskoj dobi, uz nepromijenjenu prevalenciju (189,190,191). Prema studiji provedenoj u Hrvatskoj za razdoblje od 1985-1994. godine, celijakija se u više od 60% bolesnika očitovala tipičnom kliničkom slikom, a prva biopsija sluznice tankog crijeva učinjena je u 45% bolesnika prije navršene 2 godine života. Međutim, i tu se tijekom promatranog razdoblja s vremenom primjetio

pomak prepoznavanja celijakije prema starijoj dječjoj dobi (nakon navršene druge godine života) (23). Ipak, u ovom ispitivanju provedenom u Referentnom centru za dječju gastroenterologiju i prehranu, od ukupno 138 djece kojima je u promatranom razdoblju dijagnosticirana celijakija, 75% imalo je manje od 2 godine kada im je postavljena sumnja na celijakiju i učinjena prva biopsija sluznice tankog crijeva.

Moguća objašnjenja za pomicanje dobi u kojoj se postavlja dijagnoza i za veću učestalost atipičnih kliničkih slika su promjene okolišnih čimbenika (npr. kasnije uvođenje glutena u dojenačku prehranu i duže dojenje dovode do pomicanja kliničke slike nakon dojenačke dobi) s jedne strane, a s druge strane razvoj novih seroloških metoda koji je doveo do boljeg otkrivanja celijakije i kod nejasnih kliničkih slika (185). Nasuprot tomu, ono što govori u prilog još uvijek velikog udjela klasične kliničke slike kod naših bolesnika je činjenica da se gluten uvodi vrlo rano u dojenačku prehranu. Naime, u skupini djece kojima je celijakija prepoznata prije navršene druge godine života gluten je uveden najranije već u dobi od mjesec dana, a prosječno u dobi 4 mjeseca, dok je dojenje trajalo vrlo kratko (prosječno 2 mjeseca, a najduže 10 mjeseci). U skupini djece kojoj je celijakija dijagnosticirana u dobi nakon navršene dvije godine, dojenje je trajalo statistički značajno duže (6,6 mjeseci), a i gluten je uveden nešto kasnije (u dobi gotovo 5 mjeseci) što ipak nije bilo i statistički značajno. Međutim, između ove dvije skupine pokazana je statistički značajna razlika u broju bolesnika kojima je gluten uveden još tijekom dojenja. To bi govorilo u prilog da je dulje dojenje pomaklo kliničko očitovanje i prepoznavanje bolesti u kasniju dob. Iako su do sada provedene studije pokazale da dulje dojenje i postupno uvođenje glutena u prehranu dojenčeta koje se još doji značajno smanjuju rizik od pojave celijakije u ranoj dječjoj dobi (36,37), za sada ostaje otvoreno pitanje odgađa li dojenje pojavu simptoma ili pruža trajnu zaštitu od celijakije.

Celijakija se u djece javlja obično podjednako u djevojčica i dječaka dok je u odraslih češća u žena i, slično kao i u ostalim autoimunim bolestima, javlja se prema muškarcima u omjeru 2:1 (35,68,185,188). Među našim bolesnicima koji su bili mlađi od dvije godine prevladavale su djevojčice (u omjeru 2,3:1), a u skupini starijih od dvije godine bilo je više dječaka, čak 1,7:1.

Simptomi s kojima su se najčešće javljali naši bolesnici mlađi od dvije godine bili su slabo napredovanje i/ili gubitak na tjelesnoj masi, proljev, napeti trbuh i anemija. Skupina bolesnika starija od dvije godine također se najčešće prezentirala slabijim napredovanjem i/ili gubitkom tjelesne mase (ali ipak značajno rjeđe od mlađe skupine), anemijom i proljevom. Čak 37% bolesnika starije skupine imalo je simptome tijekom prve dvije godine života, ali bolest nije prepoznata i prosječno je od pojave simptoma do postavljanja dijagnoze proteklo 2 godine i 8 mjeseci. U nedavno objavljenom kanadskom ispitivanju odraslih bolesnika s celijakijom prosječno je od pojave simptoma do postavljanja dijagnoze prošlo 11,7 godina iako je čak 3/4 bolesnika kao vodeći simptom imalo proljev, a 2/3 bolesnika imalo je pad na tjelesnoj masi, dok je većina bolesnika (83%) imala bolove u trbuhu (192). Za razliku od toga, u skupini naših bolesnika prepoznatih u prve dvije godine života, nakon klasične kliničke slike, ponekad i u obliku celijakične krize, bilo je potrebno prosječno 3,4 mjeseca od pojave simptoma do prve biopsije sluznice tankog crijeva i započinjanja liječenja.

2. Važnost ranog otkrivanja celijakije

Brojne studije do sada bavile su se ispitivanjem važnosti ranog otkrivanja celijakije te kako i da li uopće ranije postavljanje dijagnoze utječe na pojave komplikacija i/ili smanjenje smrtnosti.

Solaymani-Dodaran i suradnici pratili su bolesnike tijekom 34 godine i ispitivali je li povećani mortalitet bolesnika s celijakijom direktno vezan uz bolest i izloženost glutenu prije postavljanja dijagnoze (188). Naime, već ranije studije pokazale su 1,3 do 2 puta veći mortalitet bolesnika s celijakijom u odnosu na opću populaciju (99,131,132,188,193). Pretpostavljalo se da trajanje izloženosti glutenu prije postavljanja dijagnoze bolesti ima štetne učinke i na taj način doprinosi mortalitetu. Iz toga je proizlazilo da bi dijagnoza celijakije postavljena u dječjoj dobi trebala biti povezana s manjim mortalitetom nego kada se dijagnoza postavi u odrasloj dobi (131). Međutim, Solaymani-Dodaran sa suradnicima pokazao je da bolesnici s celijakijom dijagnosticirani u dječjoj dobi imaju trostruko veći mortalitet. Za razliku od toga, bolesnici kojima je celijakija dijagnosticirana u odrasloj dobi imaju samo skromni porast mortaliteta. U djece je veći mortalitet bio posljedica nesreća, samoubojstava, nasilja i malignih bolesti te se čini kako to nije direktno vezano uz bolest. Autori sugeriraju da je moguće da povećani mortalitet u djece od vanjskih uzroka odražava promjene ponašanja povezane s podnošenjem kronične bolesti i njezinog liječenja. Osim toga, ne navodi se podatak o pridržavanju bezglutenske dijete i mogućem utjecaju neprovođenja liječenja na smrtnost. Za razliku od djece, u istoj studiji u odraslih je povećani rizik smrtnosti bio povezan uglavnom s malignim neoplazmama (većinom gastrointestinalnim neoplazmama i limfomima) (188). Do sada najveća studija o mortalitetu provedena je u Švedskoj na

skupini od 828 bolesnika s celijakijom (od kojih je pola bilo mlađe od 2 godine kod postavljanja dijagnoze, a prosječna dob postavljanja dijagnoze bila je oko 17 godina) umrlih tijekom promatranih 30 godina. Prosječna dob u vrijeme smrti bila je 68,6 godina. Kada se svi uzroci smrti zajedno uklope, rizik smrtnosti bio je značajno povišen i to dvostruko (95% granice pouzdanosti, CI 1.8-2.1). Najčešći uzrok smrti bile su kardiovaskularne bolesti (u 39,4% svih smrti) nakon kojih su slijedili maligni tumori (19,4%) te probavne (12,1%) i respiratorne bolesti (9,8%). Izračunati rizik smrtnosti bio je povišen za široki spektar bolesti, uključujući i limfom (standardized mortality ratio, SMR 11,4), karcinom tankog crijeva (SMR 17,3), autoimune bolestima (uključujući reumatoidni artritis [SMR 7,3] i difuzne bolesti vezivnog tkiva [SMR 17]), alergijske bolesti (kao što je astma [SMR 2,8]), upalne bolesti crijeva (ulcerozni kolitis Mb Crohn [SMR 70,9]), diabetes melitus (SMR 3), poremećaji imunološke funkcije (SMR 20,9), tuberkulozu (SMR 5,9), pneumonije (SMR 2,9) i nefritis (SMR 5,4) (193). U ostalim studijama također je pokazan dvostuko veći rizik smrtnosti (131,193) te u manjim studijama rizik smrtnosti bio je od 1 do 3,8 (99,195).

Nadalje, duže vrijeme je već poznato da postoji povećan rizik od malignih bolesti kod bolesnika s celijakijom i smatra se da je rizik na non-Hodgkin limfom 3-9x veći u celijakiji (131,141,193,196). Osim toga, opisano je i da bolesnici s celijakijom imaju povećani rizik od razvoja adenokarcinoma tankog crijeva (196). Postoje međutim značajni, iako ne i konačni dokazi da strogo provođenje bezglutenske dijete ima zaštitni učinak protiv razvoja maligniteta (136). Silano i sur. pokazali su da je od 1968 bolesnika 55 imalo maligni tumor (2,09%) dijagnosticiran prije ili istovremeno s celijakijom nasuprot očekivanim 42,1 (standardized incidence ratio SIR = 1.3; 95%CI = 1.0–1.7). Najčešći maligni tumor bio je gastrointestinalni

non Hodgkin limfom (n = 20), a nakon njega karcinom debelog crijeva (n = 7), adenokarcinom tankog crijeva, Hodgkinov limfom, karcinom želuca i dojke. Omjer opaženog i očekivanog rizika bio je 4.7 za non-Hodgkin limfom, 26 za karcinom tankog crijeva, 3 za karcinom želuca i 10 za Hodgkinov limfom, dok je rizik za karcinom dojke bio manji nego u općoj populaciji. Srednja dob postavljanja dijagnoze celijakije u bolesnika koji su imali tumor prije ili istovremeno dijagnosticiran kada i celijakiju bila je 47,6 ± 10.2 godina. To je bilo značajno više od dobi postavljanja dijagnoze celijakije u bolesnika koji nisu razvili malignu bolest (28.6 ± 18.2 godina) i pokazuje da bolesnici s celijakijom imaju povećani rizik razvoja malignog tumora ovisno o dobi kada je postavljena dijagnoza celijakije (197). Neki autori pretpostavljaju da je odgađanje postavljanja dijagnoze celijakije rizični čimbenik u razvoju maligne bolesti zbog produženog perioda izloženosti glutenu (131,136). Ipak, s javnozdravstvenog gledišta, opisani opći rizik razvoja maligne bolesti u populaciji bolesnika s celijakijom i još nesiguran zaštitni učinak bezglutenske prehrane ne opravdavaju mogućnost serološkog probira na celijakiju u općoj populaciji s ciljem sprječavanja maligne bolesti. Međutim, visoka srednja dob postavljanja dijagnoze celijakije u grupi bolesnika koja je imala malignu bolest ukazuje na potrebu detaljne potrage za malignitetima u bolesnika kojima je celijakija dijagnosticirana u odrasloj ili starijoj dobi (197).

Još nekoliko studija je do sada pokazalo da bi štetne posljedice bolesti vezanih uz celijakiju mogle biti umanjene striktnim pridržavanjem bezglutenske prehrane (131,193). Bolesnici koji su imali manje od dvije godine za vrijeme prve hospitalizacije imali su značajno manji rizik od smrtnosti, dok su bolesnici koji su imali dvije ili više godina kod prve hospitalizacije imali veći rizik od vršnjaka iz opće populacije (193). Ova manja stopa smrtnosti u bolesnika kojima je dijagnoza

postavljena prije navršene dvije godine zajedno s već ranije pokazanim i poznatim dobrobitima bezglutenske prehrane (131,136,198) ukazuje na to da rana dijagnoza i rano započinjanje liječenja može smanjiti smrtnost bolesnika s celijakijom i naglašava važnost što ranijeg otkrivanja celijakije (193).

Budući da je poznato da se određene bolesti češće javljaju uz celijakiju, s ciljem što ranijeg otkrivanja celijakije i započinjanja liječenja savjetuje se provoditi probir na celijakiju u asimptomatske djece koja pripadaju specifičnim grupama s povećanim rizikom: djeca koja imaju tip 1 šećernu bolest, Downov sindrom, Turnerov sindrom, Williamsov sindrom, autoimuni tiroiditis, selektivnu IgA deficijenciju te ako imaju rođaka u prvom koljenu oboljelog od celijakije. Rutinsko testiranje treba započeti u dobi nakon navršene 3 godine pod uvjetom da je dijete uzimalo gluten u odgovarajućoj količini tijekom najmanje godinu dana i nakon nekog vremena i ponoviti (87).

Pitanje masovnog probira u općoj populaciji još je otvoreno i dok se ne provede program probira u dobro ograničenoj regiji i to kao kontinuirano i prospektivno ispitivanje troškova i dobiti u usporedbi s kontrolnom populacijom na to neće biti konačnog odgovora (138). Na temelju ispitivanja koje su u odraslih proveli Shamir i suradnici pokazano je da je opći probir isplativ (cost-effective) u populacijama s visokom prevalencijom celijakije i u različitim dobnim skupinama, pretpostavljajući da je stopa smrtnosti veća u nedijagnosticiranih bolesnika s celijakijom i da bi uvođenje i provođenje bezglutenske dijete u bolesnika otkrivenih probirom smanjilo stopu smrtnosti. Sa stajališta isplativosti, EMA je najbolji serološki marker za opći probir. No, budući da postoje još neke nesigurnosti oko pravovaljanosti pretpostavki, opisani probir na celijakiju bit će opravdan samo ako se ove pretpostavke dokažu kao točne (199).

Sve do sada navedeno upućuje na važnost pravodobnog postavljanja dijagnoze celijakije, ali je i nadalje velika dilema koji je najučinkovitiji dijagnostički postupnik, a to je i bilo ključno pitanje na koje bi ova dizertacija morala odgovoriti.

3. Dijagnostički kriteriji za celijakiju

Dijagnoza celijakije postavlja se na temelju kriterija Europskog društva za dječju gastroenterologiju i prehranu donešenih 1969. godine. Prema tim kriterijima potrebne su tri biopsije sluznice tankog crijeva (prva kod postavljanja sumnje na celijakiju, druga za vrijeme bezglutenske prehrane i treća nakon opterećenja glutenom) za postavljanje konačne dijagnoze celijakije (2,6). Ovi kriteriji koriste se za djecu mlađu od dvije godine, dok se za djecu stariju od dvije godine koriste revidirani kriteriji Europskog društva za dječju gastroenterologiju i prehranu koji se temelje na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva i kliničkom oporavku nakon uvođenja bezglutenske prehrane (4).

3.1. Biopsija sluznice tankog crijeva

Iako biopsija sluznice tankog crijeva predstavlja zlatni standard za postavljanje dijagnoze celijakije, to nije uvijek jednostavno jer nalaz biopsije može biti i graničan. Preduvjet za dobru patohistološku analizu bioptata je dobro orijentiran uzorak u kojem se sa sigurnošću može procijeniti visina resica i dubina kripti. Osim toga, budući da promjene na sluznici ne moraju zahvaćati jednoliko

cijelu sluznicu već mogu biti nepravilno i nejednako razbacane, ukoliko se rutinski uzimaju samo 1 do 2 bioptata, može se propustiti dijagnoza (66). Nadalje, celijakija se ne dijagnosticira samo na temelju nalaza totalne atrofije resica, već se smatra da se promjene razvijaju postupno i da su infiltrativna i hiperplastična lezija (Marsh I i II) samo rane, početne promjene sluznice u celijakiji (154,200,201).

U naših ispitanika kojima je klasičnim dijagnostičkim postupkom dokazana celijakija 6% je imalo infiltrativnu ili hiperplastičnu leziju u skupini mlađoj od dvije godine i 7% u skupini starijoj od dvije godine, dok su svi ostali imali destruktivnu leziju sluznice. Pokazano je ipak da je u skupini djece kojima na kraju nije dokazana celijakija bilo značajno manje destruktivnih lezija na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva (iako ih je imalo gotovo 2/3 ispitanika ove skupine). To govori u prilog činjenici da destruktivna lezija ne mora u dobi prije navršene dvije godine nužno značiti i celijakiju nego može biti posljedica nekih drugih poremećaja (npr. alergije na kravlje mlijeko, postenteritičnog sindroma, itd) (1). Uspoređujući skupine naših ispitanika s potvrđenom i nepotvrđenom dijagnozom celijakije nismo našli statistički značajnu razliku niti u odnosu na nutritivne alergije niti preboljele enteralne infekte. Prema iskustvima iz Indije, baš zbog navedenih drugih uzroka, nalazi biopsija označeni kriterijem po Marshu od I do IIIb nisu se donedavno nužno smatrali celijakijom, ali novija istraživanja pokazala su da je na taj način dio bolesnika ostao bez dijagnoze i potrebnog liječenja (202).

3.2. Uloga intraepitelnih limfocita u dijagnostici celijakije

Povećani broj IEL-a u bioptatu sluznice tankog crijeva jedna je od značajki patohistološkog nalaza celijakije. Tradicionalno se kao granicu pozitivnog nalaza smatralo 40 IEL na 100 enterocita, a u novije vrijeme ta granica je pomaknuta na 25 IEL na 100 enterocita (65,66,156). Veress i suradnici predložili su da se 25 IEL na 100 epitelnih stanica uzme kao gornja granica normalnog raspona, da se vrijednosti od 25-29 IEL na 100 epitelnih stanica smatraju graničnima, a patološke vrijednosti bile bi od 30 i više IEL na 100 epitelnih stanica (203).

U našem ispitivanju, u skupini mlađoj od dvije godine kojoj je potvrđena celijakija u svim bioptatima broj IEL bio je veći od granične vrijednosti (prosječno 54, raspon od 34-90 IEL/100 enterocita), dok je u skupini s nepotvrđenom dijagnozom jedan bolesnik imao vrijednosti ispod granica normale, a jedan je imao graničnu vrijednost, što je uz manji prosječni broj (prosjek 46, raspon 17-80 IEL/100 enterocita) ukupno bila statistički značajna razlika (t-test, $p<0,05$). U skupini starijoj od dvije godine samo je jedan bolesnik imao normalnu vrijednost (20 IEL/100 enterocita) dok su svi ostali imali povišene vrijednosti. Učinjenom ROC analizom vrijednost IEL od 44 na 100 enterocita je vrijednost s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata (osjetljivost je bila 0,75, a specifičnost 0,62). To je nešto više od rezultata koje je u svom radu prikazala Jarvinen sa suradnicima, gdje je granična vrijednost IEL s najpovoljnijom specifičnošću i osjetljivošću bila je 37/mm (određen je broj IEL po mm epitela što dobro korelira s određivanjem IEL na 100 enterocita pa su rezultati usporedivi). Pritom je osjetljivost je bila 0,93, specifičnost 0,73, pozitivna prediktivna vrijednost 0,89 i negativna prediktivna vrijednost 0,83. U istoj studiji ispitivan je i udio pojedinih IEL ovisno o receptorima koje nose pa su

tako dobivene granične vrijednosti za αβ+ IEL > 25 te za γδ+ IEL >4,3 stanice/mm epitela uz napomenu da su γδ+ IEL imali najveću dijagnostičku vrijednost (204).

Korisno je prebrojati IEL u bioptatu sluznice tankog crijeva u slučajevima gdje je histološki nalaz teško intepretirati, jer povećan broj IEL, a posebno povećan udio onih s γδ+ receptorom, povećava vjerojatnost celijakije. Međutim, IEL ne moraju uvijek biti povećani u celijakiji i to se posebno odnosi na broj IEL na trećoj biopsiji sluznice tankog crijeva kada na opterećenju glutenom bolesnici možda jedu manje glutena ili opterećenje ne traje dovoljno dugo (204). Jedan od naših bolesnika s celijakijom imao je uredan broj IEL (<20/100 enterocita) na trećoj biopsiji sluznice tankog crijeva. Ukupno broj IEL na trećoj biopsiji bio je nešto niži nego na prvoj (na prvoj prosječno 54/100 enterocita, a na trećoj 49/100 enterocita), ali razlika nije bila statistički značajna.

Jarvinen je pokazala da je i u liječenih bolesnika s celijakijom, koji su na bezglutenskoj prehrani, broj IEL, iako manji nego kod postavljanja dijagnoze, još uvijek veći nego kod kontrola i to na račun γδ+. Moguća uloga određivanja γδ+ IEL-a bila bi u slučajevima kada osobe započnu s bezglutenskom prehranom bez biopsije sluznice tankog crijeva i odbijaju se vratiti na normalnu prehranu. Tada bi povećani broj γδ+ IEL upućivao na celijakiju, a odsustvo bi govorilo protiv. U ovim slučajevima veća specifičnost γδ+ IEL od CD3+ stanica daje im veću značajnost od određivanja CD3+ stanica (204). Međutim, određivanje γδ+ stanica je složena, zahtjevna i skupa metoda za korištenje u svakodnevnoj praksi. Stoga se tražila jednostavnija metoda kojom bi se za nespecifične histološke nalaze potvrdilo radi li se o celijakiji ili ne (205). Goldstein i sur, a nakon toga i Jarvinen i sur ispitivali su određivanje IEL na vrhu resica – određivan je broj IEL na 20 enterocita u 5 resica u bolesnika koji nisu imali atrofiju resica (205,206). Granična vrijednost s optimalnom

osjetljivosti i specifičnosti bila je 4,2 IEL na 20 enterocita (205). Na temelju tog ispitivanja, određivanje IEL na vrhu resice uz endomizijalna protutijela ili protutijela na tkivnu transglutaminazu bili bi prva linija u metodologiji određivanja ranog stadija celijakije još bez atrofije crijevnih resica (205).

3.3. Uloga seroloških pretraga u dijagnostici celijakije

Danas se od seroloških pretraga najčešće koriste AGA, EMA i anti tTG. Destruktivna lezija sluznice, označena kao Marsh III, i pozitivni serološki nalazi ukazuju na dijagnozu celijakije, ali treba napomenuti da postoji i serološki negativna celijakija (200). Naime, nalazi IgA AGA, EMA i anti tTG mogu biti negativni u bolesnika s IgA deficijencijom. Osim toga, nalaz EMA i anti tTG može biti negativan i u djece mlađe od dvije godine (4,162,163,164). Prema tome, negativna EMA ne isključuje postojanje celijakije i stoga kada se u kliničkoj praksi sumnja na celijakiju potrebno je učiniti biopsiju sluznice tankog crijeva čak i kada su serološki testovi negativni (160).

Pokazano da EMA i u djece ima visoku i osjetljivost (88-100%) i specifičnost (čak i do 100%) (148,158,159,160). Kod naših ispitanika mlađih od dvije godine, a kojima je kasnije postavljena dijagnoza celijakije, EMA je bila pozitivna u 81%. Za napomenuti je da je pozitivan nalaz zabilježen najranije u dobi od 6 mjeseci. Od djece s EMA negativnim nalazom, jedan je bolesnik imao sniženi ukupni IgA, dok su ostali imali uredan, i svi su, osim navedenog bolesnika s nedostatkom IgA nakon opterećenja glutenom imali EMA pozitivan nalaz. U skupini starijoj od dvije godine 3 bolesnika imala su negativan nalaz EMA, uz napomenu da je u svih nađen i sniženi ukupni IgA. Osjetljivost ovog testa iznosila je 84% uz relativno nisku specifičnost od

79%, dok je pozitivna prediktivna vrijednosti bila 75%, a negativna 13%. Za napomenuti je da je ovaj niži rezultat uvjetovan time što je ocjena testa izrađena na temelju podataka samo za skupinu djece mlađe od dvije godine, dok su ostale navedene studije uzimale u obzir i stariju djecu. U našem ispitivanju lažno negativnih je bilo 16% što je u skladu s ispitivanjem koje su proveli Burgin-Wolf i suradnici gdje je pokazano da je u djece mlađe od 2 godine EMA lažno negativna u 20% (163). Ranije se kao mogući uzrok lažno pozitivnih seroloških testova navodila lamblijaza (4), ali pokazano je da čak i u zemljama u razvoju (s većom učestalosti parazitoza) AGA i EMA imaju visoku pozitivnu prediktivnu vrijednost (207). Među pozitivnim nalazima EMA u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva u grupi ispitanika kojima ni nakon treće biopsije sluznice tankog crijeva nije dokazana celijakija (ukupno ih je bilo 6) samo jedno dijete ima pozitivnu anamnezu na infektivni gastroenterokolitis u dojenačkoj dobi što je moglo dovesti do lažno pozitivnog rezultata. Ostala djeca, iako je svima treća biopsija učinjena nakon najmanje 8 mjeseci opterećenja glutenom (nekima i nakon više godina) još uvijek mogu biti "kasni relapseri" kod kojih će se tek nakon dužeg opterećenja razviti lezija sluznice i pozitivan nalaz seroloških pretraga te se zbog toga prate i dalje.

Što se tiče AGA, poznato je da IgG AGA imaju visoku osjetljivost, ali nisku specifičnost, dok su IgA AGA specifičnija, ali manje osjetljiva i stoga se obično ova dva testa koriste u kombinaciji (44,157). U skladu s navedenim su i naši podaci. Naime, za IgG AGA osjetljivost je bila 100%, specifičnost 39%, a pozitivna prediktivna vrijednost 76% dok je za protutijela IgA klase osjetljivost je bila 92%, specifičnost 69% uz pozitivnu prediktivnu vrijednost od 72%. Prema ROC analizi za IgA AGA vrijednost s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata bio je 9 (pri čemu je osjetljivost bila 92%, a specifičnost 76,2%), dok je za AGA IgG

optimalna vrijednost bila 74, što je dosta iznad granične vrijednosti, ali je pritom osjetljivost testa bila 69,2%, a specifičnost 95,7%.

Osim u postavljanju dijagnoze celijakije, serološke pretrage koriste se u studijama probira te u praćenju pridržavanja bezglutenske prehrane.

U sustavnom pregledu literature koji je uključio ukupno 39 radova, Lewis i Scott pokazali su da EMA češće ima veću specifičnost, a humani rekombinantni (rh) anti tTG češće veću osjetljivost. Stoga predlažu da se rh anti tTG koristi za probir asimptomatskih bolesnika i za isključivanje celijakije u simptomatskih bolesnika koji imaju vjerojatnost celijakije (odnosno predmnijevanu prevalenciju celijakije za te simptome) manju od 25%. Ako je ta vjerojatnost veća od 25%, savjetuje se biopsija kao i kada je rh anti tTG pozitivan, kako bi se potvrdila dijagnoza (161).

Iako je anti-tTg visoko i osjetljiv i specifičan test, na pitanje može li se on koristiti kao marker za pridržavanje bezglutenske prehrane još nema konačnog odgovora. U nedavno objavljenoj studiji Bazzigaluppi i sur. pokazali su da se test s rh anti tTG može koristiti u praćenju pridržavanja bezglutenske prehrane (169). Međutim, prema nekim ranijim istraživanjima pozitivne vrijednosti nužno ne koreliraju s jačinom promjena na sluznici tankog crijeva i, kao rezultat toga, ne mogu se s velikom sigurnošću koristiti u praćenju bolesnika (173,176,177). Naime, osjetljivost testa anti-tTG, a i EMA smanjena je kod blažih atrofija sluznice što znači da neće nužno ukazivati na parcijalnu atrofiju (12). Iz toga proizlazi da njihova negativnost može biti lažno siguran pokazatelj striktnog pridržavanja dijete (177) i čini se da je AGA mogao biti bolji pokazatelj manjih nepridržavanja bezglutenske prehrane nego tTG (208). Sve zajedno zahtijeva nove studije kojima će se pokušati odgovoriti na to pitanje.

3.4. Uloga određivanja HLA u dijagnostici celijakije

Europska studija je pokazala da 88% bolesnika s celijakijom ima HLA DQ2 heterodimer, 5,6% ima dio DQ2 heterodimera (4% samo DQB1*02 i 2% samo DQA1*05) i 6% DQ8 pozitivan heterodimer (48). Iz toga proizlazi da je HLA DQ2 neophodan, ali ne i dovoljan za razvoj celijakije budući da ga ima i 30% zdrave populacije. Međutim, pogodan je za isključivanje celijakije (185).

Osim navedenog, čini se da homozigoti za HLA DQB1*02 imaju najveći rizik za celijakiju i to najmanje 5 puta veći nego HLA DQ2 heterozigoti (27,33,209).

S ciljem isključivanja celijakije u skupini djece (N=52) kojoj ni trećom biopsijom sluznice tankog crijeva nije potvrđena celijakija učinjena je HLA tipizacija DQ heterodimera u 79% ispitanika. Četrdeset i dva posto bolesnika bilo je negativno i za DQ2 i za DQ8 heterodimer, ali čak gotovo 60% njih imalo je pozitivan dio heterodimera DQ2 tako da se celijakija nije mogla u potpunosti isključiti. Daljnjih 17% ispitanika bilo je negativno samo za DQ2 (u početku studije se određivao samo DQ2 bez mogućnosti tipizacije DQ8) tako da se ni u njih nije mogla isključiti celijakija i nastavljeno je daljnje praćenje ove djece.

3.5. Zašto se nastoji pojednostaviti dijagnostički postupak?

Ranije opisani dijagnostički postupnik koji se za djecu mlađu od dvije godine temelji na tri biopsije sluznice tankog crijeva dugotrajan je i opterećujući i za dijete i za njegove roditelje i za liječnika. Naime, nakon postavljanja sumnje na celijakiju i učinjene prve biopsije sluznice tankog crijeva uvodi se bezglutenska prehrana. Nakon nekoliko godina bezglutenske prehrane (i to ne prije šeste godine života zbog

mogućih posljedica koje gluten kod bolesnika ostavlja na caklini trajnih zubi) uvodi se opterećenje glutenom i time se namjerno izaziva oštećenje sluznice tankog crijeva.

Posebno u djece, ovo opterećenje glutenom povezano je s brojnim problemima i može dovesti do ozbiljnih simptoma (povraćanja, boli u trbuhu, proljeva) već i nakon nekoliko dana od ponovnog uvođenja glutena, a prije negoli se razviju histološke promjene (210,211). Čak i ako se ne razviju ovakvi simptomi, može doći do problema s rastom, a i povećana je vjerojatnost za kasniji razvoj autoimunih bolesti (198). Stoga se pokušavalo s opterećenjem putem rektalne ili oralne sluznice, ali niti jedan od ovih načina nije se pokazao prihvatljivim kod djece (210). Upravo zbog predugog opterećenja glutenom na koje su upozorili Guandalini i sur (212) postavljen je revidirani i pojednostavljeni dijagnostički postupnik, koji se, međutim, odnosi samo na starije od dvije godine (4).

Osim dugotrajnosti opisanog dijagnostičkog slijeda, ponavljanje invazivne biopsije sluznice tankog crijeva (bilo endoskopski, bilo peroralnom sondom) nije ugodno niti za dijete i njegove roditelje niti za liječnika. Biopsija, osim potencijalnih, ali na sreću rijetkih komplikacija koje sa sobom nosi, zahtijeva sedaciju ili ponekad i opću anesteziju te ponovne hospitalizacije i na taj način i povećane troškove što također nije zanemarivo.

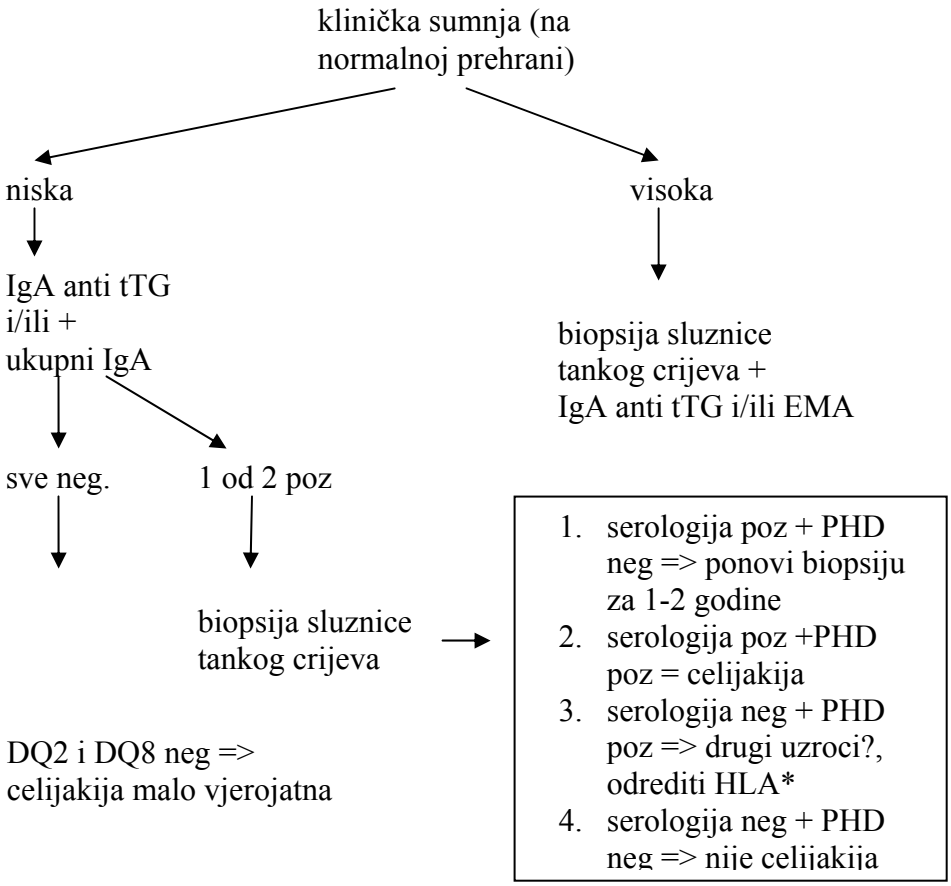
Zbog svega navedenog postavlja se potreba za skraćivanjem dijagnostičkog postupka i u djece koja su u trenutku postavljanja sumnje na celijakiju mlađa od dvije godine. Još uvijek veliki udio djece među našim bolesnicima koja se prezentiraju tijekom prve dvije godine života omogućio nam je da ispitamo novi, jednostavniji, poštedniji i kraći dijagnostički postupnik i za ovu skupinu djece.

3.6. Kako pojednostaviti dijagnostički postupak?

Do sada je u više navrata predloženo pojednostavljenje dijagnostičkog postupnika od kojih su neki prijedlozi navedeni ovdje.

Bai i suradnici predložili su postupnik na temelju visoke i niske kliničke sumnje. Prema tom postupniku (prikazanom na slici 29), za osobe s niskim stupnjem sumnje na celijakiju dovoljno je učiniti anti tTG i ukupni IgA (kako bi se isključila IgA deficijencija) i ukoliko je to negativno daljnje pretrage više nisu potrebne i celijakija je isključena. Međutim, ukoliko je anti tTg pozitivan ili negativan uz nedostatak ukupnog IgA potrebna je daljnja obrada: biopsija sluznice tankog crijeva i serološke pretrage. Biopsija sluznice tankog crijeva potrebna je i kod svih s visokim stupnjem kliničke sumnje na celijakiju. Dijagnoza celijakije se konačno postavlja ako su i rezultati seroloških pretraga i biopsije pozitivni, a isključuje se ako su i serologija i histološki nalaz negativni. Međutim, ako je serologija pozitivna, a biopsija uredna, savjetuje se praćenje i ponavljanje biopsije za 1-2 godine. Nasuprot tomu, ako je serologija negativna, a biopsija tipična za celijakiju savjetuje se učiniti tipizaciju HLA DQ heterodimera i ako je nalaz negativan i za DQ2 i DQ8 celijakija je malo vjerojatna. Ako je nalaz pozitivan i ako nema drugog razloga za leziju sluznice treba započeti s bezglutenskom dijetom (63). Važno je napomenuti da anti tTG, slično kao i EMA u djece mlađe od dvije godine može biti lažno negativan, tako da se ovaj postupnik ipak ne može primijeniti u potpunosti na ovu dobnu skupinu.

Slika 29. Dijagnostički postupnik prema Bai i suradnicima (63)



Budući da su u svom ispitivanju provedenom u Brazilu Gandolfi i sur. pokazali visoku pozitivnu prediktivnu vrijednost EMA, predložili su sljedeći dijagnostički postupnik za zemlje u razvoju. Na temelju njega, pozitivna EMA uz nalaz biopsije tipičan za celijakiju značila bi potvrdu celijakije i započinjanje bezglutenske prehrane. Međutim, napominju da na temelju EMA negativnog rezultata (posebno u djece mlađe od 3 godine) ne bi trebalo isključiti celijakiju i ako je biopsija tipična treba započeti bezglutensku dijetu i provesti klasičan ESPGHAN-ov dijagnostički postupak (207).

Španjolska grupa autora na temelju zapažanja da pozitivitet seroloških nalaza dobro korelira s uzimanjem glutena i s lezijom resica predlaže da bi bilo moguće izbjeći biopsiju u onim slučajevima koji ispunjavaju sljedeće uvjete: ukoliko bolesnici imaju tipične kliničke simptome, pozitivan nalaz antitijela i pozitivan HLA DQ2 heterodimer te kod kojih nakon eliminacije glutena iz prehrane dođe do kliničkog oporavka i negativizacije seroloških nalaza i kod kojih opterećenje glutenom dovodi do ponovno pozitivnih nalaza seroloških pretraga sa ili bez kliničkog pogoršanja (44). Nedostatak ovog postupnika je i dalje prisutna potreba za provođenjem opterećenja glutenom.

Neke studije istraživale su mogućnosti izbjegavanja opterećenja glutenom i izbjegavanja treće biopsije sluznice tankog crijeva. Budući da je primjećeno da se u kulturi bioptata sluznice tankog crijeva bolesnika koji su u remisiji može in vitro potaknuti produkcija EMA u prisutnosti glijadina, Bonamico i sur. pokazali su da ovo in vitro opterećenje glutenom može smanjiti potrebu za in vivo opterećenjem i trećom biopsijom sluznice tankog crijeva. Osim toga, ova metoda mogla bi koristiti i kao pomoć u dijagnostici kod parcijalnih atrofija i blažih enteropatija te kada je dijagnoza nesigurna (213).

Nekoliko ispitivanja do sada bavilo se problemom odabira bolesnika za prvu biopsiju sluznice tankog crijeva pokušavajući odgovoriti na pitanje treba li sve bolesnike s kliničkom sumnjom na celijakiju bioptirati ili ne. Hopper i sur. pokazali su da kombinacija određivanja anti tTG u bolesnika s visokim rizikom (ovisno o njihovim simptomima kod prezentacije) može odrediti koji bolesnici trebaju biopsiju kako bi se dokazala celijakija (214). Studija provedena na djeci pokazala je također da anti tTG može pomoći u ovoj skupini budući da test ima visoku i osjetljivost i specifičnost. Prema toj studiji, s ciljem postavljanja dijagnoze celijakije treba

bioptirati bolesnike s graničnim vrijednostima anti tTG (20-100 IU) ili čak i one s negativnim nalazom (<20 IU) ako je uz to snižen ukupni IgA (215).

4. Provjera postavljene hipoteze

Hipoteza ovog ispitivanja bila je da se u djece mlađe od dvije godine dijagnoza celijakije može postaviti na temelju jedne biopsije sluznice tankog crijeva, pozitivnih seroloških nalaza te kliničkog odgovora na bezglutensku prehranu. S ciljem ispitivanja ove hipoteze, u studiju su uključena sva djeca mlađa od dvije godine kod kojih je postavljena sumnja na celijakiju i kod kojih je proveden klasičan dijagnistički postupak koji se temelji na tri biopsije. Ovisno o nalazu treće biopsije sluznice tankog crijeva ispitanici su podijeljeni u dvije skupine: oni kojima je postavljena dijagnoza celijakije i oni kojima celijakija nije potvrđena.

4.1. Usporedba ispitanika kojima je na kraju postavljena dijagnoza celijakije i onih kojima je celijakija nije potvrđena

Od ukupno 155 djece mlađe od dvije godine kod postavljanja sumnje na celijakiju, u njih 34% nije na kraju klasičnog dijagnostičkog postupnika potvrđena dijagnoza.

Na temelju studije provedene u Italiji 80-tih godina koja je bila osnova za donošenje revidiranih dijagnostičkih kriterija za celijakiju, nađeno je da 4.7% nije imalo potvrđenu dijagnozu nakon provedenog cijelog dijagnostičkog procesa (212),

uz napomenu da nisu bila uključena samo djeca mlađa od dvije godine. Guandalini to objašnjava na sljedeći način: 1. najčešća dijagnoza koja je postavljena umjesto celijakije bila je alergija na bjelančevine kravljeg mlijeka, 2. prosječna dob postavljanja dijagnoze u ovih bolesnika bila je 8 mjeseci, 3. nije bilo moguće odrediti serologiju (212).

U ovom ispitivanju pokušalo se prikupljanjem podataka o tome jesu li ispitanici ranije imali alergijskih reakcija, jesu li bolovali od nekih drugih bolesti te podataka o obiteljskoj anamnezi i usporedbom rezultata za skupine kojima je potvrđena dijagnoza celijakije i kojima nije, iznaći postoje li pokazatelji na temelju kojih bi se već u ranoj dobi (kod pojave simptoma prije navršene dvije godine) moglo pretpostaviti radi li se o celijakiji ili ne. Međutim, nisu nađene statistički značajne razlike u odnosu na alergijske bolesti, kao ni u odnosu na preboljele enteralne infekte. Za napomenuti je ipak da je u skupini ispitanika kojima nije potvrđena dijagnoza celijakije ukupno 10 ispitanika (19%) preboljelo enteralni infekt prije postavljanja sumnje na celijakiju (u usporedbi s 15% u skupini s celijakijom): od toga su u dva ispitanika izolirani i Salmonella i Campylobacter te u po jednog ispitanika Ascaris lumbriciodes, Salmonella, Escherichia coli i Giardia lamblia, dok ostali nisu imali specificiranog uzročnika.

Budući da je kao konačna dijagnoza uzeta ona u trenutku završetka studije, moguće je da netko od ispitanika „late relapser“ koji do kraja ispitivanja još nije razvio bolest (iako je prošlo i po nekoliko godina od započinjanja opterećenja glutenom), ali će se to u budućnosti još dogoditi. Tim više što je na osnovu tipizacije HLA DQ heterodimera bilo moguće isključiti celijakiju u tek 6% ispitanika kojima ni nakon treće biopsije sluznice tankog crijeva nije potvrđena dijagnoza celijakije.

Ostali bolesnici imali su pozitivan ili DQ2 ili DQ8 ili dio DQ2 pa se celijakija nije mogla isključiti.

Usporedbom dviju ispitivanih skupina dobivene su sljedeće statistički značajne razlike:

1. Već kod prezentacije bolesti, u skupini kojoj na kraju nije dokazana celijakija (a bolest se najčešće očitovala klasičnim simptomima) slabije napredovanje, proljev i napeti trbuh značajno su se rjeđe javljali nego u skupini s celijakijom.
2. Ispitanici s potvrđenom celijakijom imali su na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva značajno češće nalaz totalne atrofije (Marsh IIIc) u odnosu na skupinu kojoj nije potvrđena dijagnoza celijakije. Razlika je bila statistički značajna ne samo u odnosu na Marsh IIIc nego i ukupno u odnosu na destruktivnu leziju. Iako se smatra da infiltrativna i hiperplastična lezija mogu biti samo početne lezije u celijakiji i iako su u ispitivanje uključeni samo oni ispitanici s infiltrativnom lezijom koji su imali klasičnu kliničku sliku bolesti, ipak u većine bolesnika (75%) s ovim nalazom na kraju nije potvrđena celijakija.
3. Nalaz AGA i EMA bio je statistički značajno različit u ispitivanim skupinama, sa značajno češće pozitivnim nalazima u skupini u kojoj je potvrđena dijagnoza celijakije.

Na temelju navedenih razlika predložen je novi dijagnostički postupnik za postavljanje dijagnoze celijakije u djece mlađe od dvije godine koji se sastoji od jedne biopsije sluznice tankog crijeva, nalaza seroloških pretraga i odgovora na

bezglutensku dijetu (slika 28). U djece kod koje se postavi sumnja na celijakiju na temelju tipične kliničke slike i koja imaju tipičan nalaz prve biopsije (Marsh III) uz pozitivan nalaz antitijela uvela bi se bezglutenska prehrana i ako bi nakon toga došlo do kliničkog oporavka i negativizacije seroloških nalaza postavila bi se dijagnoza celijakije. Za slučajeve s pozitivnim nalazom biopsije (uključujući Marsh I, II i III) uz negativan nalaz seroloških pretraga (ukoliko na temelju tipizacije HLA DQ2 nije moguće isključiti celijakiju) proveo bi se klasični dijagnostički postupnik.

4.2. Usporedba «novog i starog» dijagnostičkog postupnika

U ranije prikazanoj tablici 29 nalazi se usporedba rezultata klasičnog ESPGHAN-ovog dijagnostičkog postupnika u odnosu na rezultate koji bi se u istoj skupini bolesnika dobili po novom, predloženom postupniku. Prema predloženom postupniku, kod 71% ispitanika skupine A1 bilo bi moguće postaviti dijagnozu celijakije samo na temelju jedne biopsije sluznice tankog crijeva i bez podvrgavanja klasičnom dijagnostičkom postupniku koji zahtijeva ukupno tri biopsije. Osim toga, za napomenuti je i da bi prema predloženom pojednostavljenom postupniku dijagnoza celijakije bila postavljena i u 4 bolesnika kojima trećom biopsijom nije potvrđena dijagnoza celijakije. Naime, niti u jednog od navedena 4 bolesnika nije bilo moguće isključiti celijakiju, a uz tipičan nalaz biopsije sluznice tankog crijeva (Marsh IIIc) i pozitivan nalaz seroloških pretraga dijagnoza je vrlo vjerojatna. Naime, kao što je to opisano i u literaturi (216), moguće je da se radi o „kasnim relapserima“ koji će tek razviti promjene tipične za bolest. U svakom slučaju, niti jedan bolesnik ne bi bio propušten i ostao nedijagnosticiran što je za celijakiju, bolest s brojnim i ozbiljnim komplikacijama vrlo važno.

Zaključno, rezultati ovog istraživanja pokazali su da je moguće postaviti dijagnozu celijakije na temelju jedne biopsije sluznice tankog crijeva te pozitivnog nalaza seroloških pretraga i u djece mlađe od dvije godine. Pridržavajući se ovim ispitivanjem utvrđenog postupnika smanjit će se trauma djece i njihovih roditelja od ponavljanja invazivnih pretraga i hospitalizacija. Štoviše, smanjit će se i trauma od ponovnog ukidanja glutena iz prehrane nakon što je isti uveden u okviru opterećenja u dijagnostičkom postupku prije treće biopsije sluznice tankog crijeva. Osim toga, izbjeglo bi se oštećivanje sluznice tankog crijeva do kojeg dolazi kod opterećenja glutenom, a koje se u klasičnom dijagnostičkom postupniku provodi tijekom najmanje 6 mjeseci. Nadalje, skratit će se vrijeme potrebno za utvrđivanje konačne dijagnoze, a troškovi uzastopnih hospitalizacija i dodatne medicinske obrade za svaku sljedeću biopsiju sluznice tankog crijeva (ako se biopsija sluznice radi pomoću kapsule te zbog potreba opće anestezije ili sedacije ako se radi endoskopski) također će biti značajno manji.

Z A K LJ U Č C I

Na osnovu statističke obrade prikupljenih podataka o djeci koja boluju od celijakije uz hipotezu da se dijagnoza celijakije u djece mlađe od dvije godine može postaviti na temelju jedne biopsije sluznice tankog crijeva + serološke pretrage + klinički oporavak nakon uvođenja bezglutenske prehrane, a s ciljem kreiranja novog dijagnostičkog postupnika, moguće je zaključiti sljedeće:

1. Skupina ispitanika kojoj je nakon klasičnog dijagnostičkog postupka (tri biopsije) potvrđena celijakija i skupina kojoj nakon istog postupka nije potvrđena celijakija nisu se statistički značajno razlikovale po učestalosti alergija niti po preboljelim enteralnim infektima, kao niti po duljini dojenja niti po vremenu uvođenja glutena u prehranu.
2. Prvi simptomi bolesti koje su roditelji primijetili javili su se u obje skupine ispitanika (i onih kojima je potvrđena dijagnoza celijakije i onih kojima nije potvrđena dijagnoza) prosječno u dobi od oko 9 mjeseci i prvi simptomi kojima se bolest u obje skupine ispitanika najčešće očitovala bili su klasični simpomi celijakije (slabije napredovanje i/ili gubitak na tjelesnoj masi, proljev, izbočen i napeti trbuh te anemija). Međutim, u skupini ispitanika kojima na kraju nije potvrđena dijagnoza celijakija, slabije napredovanje i proljev ipak su se javljali statistički značajno rjeđe.
3. U usporedbi s ispitanicima koji su u vrijeme postavljanja sumnje na celijakiju bili mlađi od dvije godine, dojenje je u skupini bolesnika kojima se bolest očitovana nakon navršene dvije godine života trajalo statistički značajno duže. Sukladno s dužim

dojenjem, u skupini starijih od dvije godine i gluten je statistički značajno češće uveden za vrijeme dok su djeca još bila dojena.

4. U skupini bolesnika u kojoj se bolest očitovala nakon navršene dvije godine života, slabije napredovanje na tjelesnoj masi, proljev i izbočeni trbuh značajno rjeđe su bili vodeći simptomi bolesti nego u skupini mlađih od dvije godine.

5. Na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva, skupina bolesnika kojima je trećom biopsijom potvrđena celijakija imalo je statistički značajno češće destruktivnu leziju nego skupina bolesnika kojima na kraju dijagnostičkog postupnika nije potvrđena celijakija, a i broj intraepitelnih limfocita bio je statistički značajno veći.

6. Serološke pretrage učinjene u vrijeme prve biopsije sluznice tankog crijeva također su se statistički značajno razlikovale (skupina bolesnika s potvrđenom dijagnozom celijakije imala je češće pozitivne serološke pretrage).

7. Ukoliko se kao pozitivan rezultat testa uzmu nalazi biopsije sluznice tankog crijeva označeni kao Marsh II (hiperplastična) ili III (destruktivna lezija), osjetljivost testa iznosi 99%, a specifičnost 10%, dok je pozitivna prediktivna vrijednost 68% i negativna prediktivna vrijednost 17%. Ako se pak kao pozitivan rezultat smatra samo Marsh III, osjetljivost pada na 93%, a specifičnost raste 37%, dok je pozitivna prediktivna vrijednost 74%, a negativna 27%. Prema ROC analizi, nalaz sluznice tankog crijeva označen s Marsh IIIb ima najveću točnost, odnosno najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata.

8. Nadalje je razmatran broj IEL na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva. Kao pozitivan rezultat smatran je broj IEL iznad 25 i tada je osjetljivost iznosila 98%, a specifičnost 3%, uz pozitivnu prediktivnu vrijednost od 66% i negativnu 50%. Ako se kao granična vrijednost uzme 40 IEL, tada je osjetljivost testa 86%, a specifičnost 31%. Prema ROC analizi vrijednost od 44 IEL ima najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata.

9. Za antiglijadinska protutijela IgA klase osjetljivost je bila 92%, specifičnost 72%, pozitivna prediktivna vrijednost 81%, a negativna 12%, dok je za antiglijadinska protutijela IgG klase osjetljivost bila 100%, specifičnost 41%, pozitivna prediktivna vrijednost 69% i negativna 0%. Prema ROC analizi za AGA IgA vrijednost s najmanje lažno negativnih i lažno pozitivnih rezultata je 6,64 (pri čemu je osjetljivost 92,5%, a specifičnost 68,2%), dok je za AGA IgG optimalna vrijednost 74,01 pri čemu je osjetljivost bila 73%, a specifičnost 96%.

10. Za endomizijska protutijela osjetljivost je iznosila 88%, specifičnost 82%, dok je pozitivna prediktivna vrijednosti bila 88%, a negativna 18%.

11. Linearnom regresijom nalaz biopsije sluznice tankog crijeva Marsh IIIc i EMA pokazale su kao varijable koje značajno doprinose predikciji konačnog ishoda. Odds ratio za EMA je 11,3289 (C.I. 2,7397 - 46,8449) što znači da je kod djece mlađe od dvije godine s pozitivnim nalazom EMA vjerojatnost pozitivnog ishoda, u ovom slučaju potvrda dijagnoze celijakije 11 puta veća nego u

slučajevima koji su EMA negativni. Za nalaz biopsije sluznice tankog crijeva Marsh IIIc odds ratio bio je 6,2682 (C.I. 1,5125 - 25,9778) što znači da je kod djece mlađe od dvije godine s nalazom Marsh IIIc na biopsiji sluznice tankog crijeva vjerojatnost da se radi o celijakiji 6 puta veća nego kod ostalih nalaza. Koristeći samo nalaz prve biopsije sluznice tankog crijeva Marsh IIIc i pozitivni nalaza EMA dijagnoza celijakije bila bi točno postavljena u 71% slučajeva.

12. Na temelju dobivenih rezultata, može se zaključiti da se dijagnoza celijakije može postaviti i u djece mlađe od dvije godine na temelju jedne biopsije sluznice tankog crijeva i pozitivnog nalaza seroloških pretraga. Naime, nakon postavljanja kliničke sumnje na celijakiju djetetu će se učiniti prva biopsija sluznice tankog crijeva i odrediti endomizijska protutijela. Ukoliko je nalaz i biopsije i seroloških pretraga tipičan za celijakiju (biopsija - destruktivna lezija, Marsh IIIc; pozitivan nalaz endomizijskih protutijela), uvest će se bezglutenska prehrana. Nakon toga ocijenit će se klinički oporavak i odrediti kontrolni nalaz seroloških pretraga. Ukoliko će postojati klinički oporavak i ukoliko dođe do negativizacije seroloških nalaza postavit će se dijagnoza celijakije. Ako neće biti jasnog kliničkog oporavka, odredit će se HLA na temelju kojeg će se moći isključiti celijakija u slučaju da su i DQ2 i DQ8 negativni. U suprotnom (DQ2 ili DQ8 pozitivni) prijeći će se na klasični dijagnostički postupnik koji se temelji na tri biopsije sluznice tankog crijeva. Klasični dijagnostički postupak provest će se

(nakon tipizacije HLA heterodimera) i u djece koja će na prvoj biopsiji sluznice tankog crijeva imati subtotalnu ili parcijalnu atrofiju resica (Marsh IIIb i IIIa) te hiperplastičnu ili infiltrativnu leziju.

S A Ž E T A K

U djece mlađe od dvije godine dijagnoza celijakije postavlja se na temelju tri biopsije tankog crijeva: prva pokazuje destruktivnu leziju, druga (tijekom bezglutenske prehrane) je uredna i treća (nakon opterećenja glutenom) ponovno pokazuje oštećenje sluznice. Ovakav postupak dugotrajan je i invazivan pa je postavljena sljedeća hipoteza: u djece mlađe od dvije godine dijagnoza celijakije može se postaviti na osnovu jedne biopsije, pozitivnih seroloških nalaza i oporavka na bezglutensku prehranu. Glavni ciljevi rada bili su: odrediti prediktivnu vrijednost dijagnostičkih parametara, definirati dijagnostički postupnik za bolesnike mlađe od dvije godine te usporediti skupinu kojoj je treća biopsija potvrdila (A1) i skupinu kojoj nije potvrdila dijagnozu celijakije (A2). Bolesnici skupine A1 značajno češće su se očitovali nenapredovanjem i proljevom i češće su imali Marsh 3C leziju sluznice te pozitivna protutijela. Na osnovu rezultata predložen je novi postupnik: u bolesnika mlađih od dvije godine s tipičnim nalazom biopsije (Marsh 3C) i pozitivnom serologijom, treba započeti bezglutensku prehranu i ako uslijedi oporavak i negativizacija seroloških nalaza postavlja se konačna dijagnoza celijakije. U 71% naših bolesnika dijagnoza se mogla postaviti na temelju jedne biopsije i pritom niti jedan bolesnik ne bi ostao nedijagnosticiran. Ovakav postupnik poštedio bi dijete od ponavljanih biopsija, skratio postupak i smanjio troškove.

S U M M A R Y

DIAGNOSTIC ALGORITHM FOR COELIAC DISEASE IN CHILDREN YOUNGER THAN TWO YEARS OF AGE

Zrinjka Mišak

Zagreb, 2008

In children under two years coeliac disease is diagnosed with three small bowel biopsies: the first shows destructive lesion, second (during gluten-free diet) is normal and third (after gluten challenge) again shows mucosal damage. Such a procedure is long-lasting and invasive, so following hypothesis was set: in children under two years coeliac disease can be diagnosed with one biopsy, positive serological markers and clinical remission to gluten-free diet. Aims were: to determine predictive value of diagnostic parameters, to define algorithm in children under two years and to compare groups with confirmed diagnosis (A1) vs those with diagnosis not confirmed by the third biopsy (A2). More patients in group A1 presented with failure to thrive and diarrhoea, had more Marsh 3C lesions and positive serology results. Based on results a new algorithm was proposed: in children under two years with Marsh 3C lesion and positive serology, gluten-free diet should be commenced and if there is clinical remission and serology tests become negative, diagnosis of coeliac disease is final. In 71% of our patients diagnosis could have been made with one biopsy and not even one patient would be missed. This would spare a child from repeating biopsies, shorten the procedure and save expenses.

L I T E R A T U R A

1. Ascher H. Childhood coeliac disease in Sweden. Changes in epidemiology, clinical pattern and diagnosis. Göteborg, Sweden: Göteborg University, 1996. 65 str. Disertacija.
2. Walker-Smith JA. Celiac Disease. U: Walker, Durie, Hamilton, Walker-Smith, Watkins, ur. Pediatric gastrointestinal disease. Philadelphia Toronto: BC Decker Inc, 1991:700-18.
3. Kačić M, Mardešić D. Celijakija (Glutenska enteropatija). U: Mardešić D, ur. Pedijatrija. Zagreb: Školska knjiga, 2000:851-4.
4. Walker-Smith J, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling D, Visakorpi J. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of the European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Arch Dis Child 1990;65:909-17.
5. Kolaček S. Celijakija. U: Vucelić B, ur. Gastroenterologija i hepatologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2002:561-73.
6. Visakorpi JK. The diagnosis of coeliac disease. Annales Nestle 1993;51:43-9.
7. Haas SV, Haas MP. The treatment of celiac disease with the specific carbohydrate diet; report on 191 additional cases. Am J Gastroenterol 1955;23(4):344-60.
8. Dicke WK. Coeliac disease. Investigation of the harmful effects of certain types of cereal on patients with coeliac disease. Utrecht, Nizozemska: Sveučilište Utrecht, 1950 (3.izdanje na engleskom 2003). 97 str. Disertacija
9. Shiner M. Coeliac disease: histopathological findings in the small intestinal mucosa studies by a peroral biopsy technique. Gut 1960;1:48-54.
10. Royer M, Croxatto O, Mazure P, Sileoni V. Gastric biopsy by blind

aspiration. Medicina (B Aires) 1954;14(4):234-45.

11. Fasano A, Catassi C. Current Approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. Gastroenterology 2001;120:636-51.
12. Alaedini A, Green PHR. Narrative Review: Celiac Disease: Understanding a Complex Autoimmune Disorder. Ann Intern Med 2005;142:289-298.
13. Jennings JSR, Howdle PD. New developments in celiac disease. Curr Opin Gastroenterol 2003;19:118-29.
14. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, i sur. Increasing prevalence of coeliac disease over time. Aliment Pharmacol Ther 2007;26:1217-25.
15. Couignoux S, Mascart-Lemone F, Cottel D, Geboes K, Colombel JF, Amouyel P. Prevalence of adult celiac disease in Northern France. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002.
16. Sanders DS, Patel D, Stephenson TJ, i sur. The relationship of adult coeliac disease with irritable bowel syndrome, iron deficiency anemia and fatigue: a primary care cross-sectional study. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P98.
17. Hovdenak N, Hovlid E, Aksnes L, Fluge G, Erichsen MM, Eide J. High prevalence of asymptomatic coeliac disease in Norway: a study of blood donors. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999;11(2):185-7.
18. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, i sur. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. Arch Intern Med 2003;163(3):286-92.
19. Tommasini A, Not T, Kiern V, et al. Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. Arch Dis Child 2004;89:512-5.
20. Bingley PJ, Williams AJ, Norcross AJ, i sur. Undiagnosed coeliac disease at

age seven: population based prospective birth cohort study. BMJ 2004;328:322-3.

21. Carlsson AK, Axelsson IEM, Borulf SK, Bredberg ACA, Ivarsson SA. Serological screening for celiac disease in healthy 2.5-year-old children in Sweden. Pediatrics 2001;107:42-5.
22. Korponay-Szabó IR, Szabados K, Pusztai J, i sur. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. BMJ 2007;335(7632):1244-7.
23. Matek Z, Jungvirth-Hegeduš M, Kolaček S. Epidemiology of coeliac disease in children in one Croatian county: the cumulative incidence over ten-year period and the way of clinical presentation (Part I). Coll Antropol 1999;23(2):621-8.
24. Hegeduš – Jungvirth M, Kolaček S, Žižić V. Rezultati skrininga o prevalenciji celijakije u odrasloj populaciji u Međimurju. Acta Medica Croatica 2001;55(Suppl 4):139.
25. Koning F, Gilissen L, Wijmenga C. Gluten: a two-edged sword. Immunopathogenesis of celiac disease. Springer Semin Immun 2005;27:217-32.
26. Koning F, Schuppan D, Cerf-Bensussan N, Sollid LM. Pathomechanisms in celiac disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):373-87.
27. Koning F. Celiac disease: Caught between a rock and a hard place. Gastroenterology 2005;129:1294-301.
28. Holm K, Maki M, Vuolteenaho N, Mustalahti K, Ashorn M, Ruuska T, Kaukinen K. Oats in the treatment of childhood coeliac disease: a 2-year controlled trial and a long-term clinical follow-up study. Aliment Pharmacol

Ther 2006;23(10):1463-72.

29. Kilmartin C, Lynch S, Abuzakouk M, Wieser H, Feighery C. Avenin fails to induce a Th1 response in coeliac tissue in-vitro. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, O18.
30. Janatuinen EK, Kemppainen TA, Julkunen RJ i sur. No harm for five year ingestion of oats in celiac disease. Gut 2002,50:332-5.
31. Arentz-Hansen H, Fleckenstein B, Molberg O, Scott H, Koning F, et al. The Molecular Basis for Oat Intolerance in Patients with Celiac Disease. PLoS Med 2004;1(1):e1.
32. Högberg L, Laurin P, Fälth-Magnusson, Grant C, i sur. Oats to children with newly diagnosed coeliac disease: a randomised double blind study. Gut 2004;53:649-54.
33. Stepniak D, Koning F. Celiac disease – sandwiched between innate and adaptive immunity. Human Immunology 2006;67:460-8.
34. Shan L, Molberg O, Parrot I, i sur. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. Science 2002;297(5590):2275-9.
35. Green PH, Jabri B. Celiac disease. Ann Rev Med 2006;57:207-21.
36. Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. Am J Clin Nutr 2002;75(5):914-21.
37. Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. Arch Dis Child 2006;91:39-43.
38. Nistico L, Fagnani C, Coto I, i sur. Concordance, disease progression, and heritability of coeliac disease in Italian twins. Gut 2006;55(6):803-8
39. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, i sur. Risk of celiac disease

autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. JAMA 2005;293:2343-51.

40. Caillat-Zucman S. Why mapping celiac disease susceptibility genes is so challenging: Lessons from the CTLA-4 gene. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;37:115-6.
41. Vitoria JC, Arrieta A, Astigarraga I, i sur. Serological markers as screening test in family members of patients with coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1994;19:304-9.
42. Kaukinen K, Partanen J, Maki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. Am J Gastroenterol 2002;97(3):695-9.
43. Zubillaga P, Vidales MC, Zubillaga I, Ormaechea V, Garcia-Urkia N, Vitoria JC. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 genetic markers and clinical presentation in celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002;34(5):548-54.
44. Vargas Pérez MSL, Melero Ruiz J, Fernández de Mera JJ, González Roiz C, Catalina Fernández I, Romero Albillos A. Marcadores serológicos y genéticos en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad celíaca. Anales de pediatria 2005;62(5):412-9.
45. Sollid LM. Molecular basis of celiac disease. Ann Rev Immunol 2000;18:53-81.
46. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. Nat Rev Immunol 2002;2:647-55.
47. Fraser JS, Ciclitira PJ. Pathogenesis of coeliac disease: implications for treatment. World J Gastroenterol 2001;7:772-6.
48. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, i sur. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the

European genetics cluster on celiac disease. Hum Immunol 2003; 64: 469-477.

49. Jurčić Z, Brkljačić-Šurkalović L, Grubić Z, Žunec R, Vezmar V, Kaštelan A. Glutenska enteropatija u hrvatske djece primarno je udružena s haplotipom HLA-DR3-DQ2. Lijec Vjesn 2000;122:259-63.

50. Žunec R, Grubić Z, Jurčić Z, Peršić M, Kaštelan A, Kerhin-Brkljačić V. HLA-DQ2 heterodimer in the diagnosis of celiac disease. Biochemia medica 2004;14(3-4):119-24.

51. Bevan S, Popat S, Braegger CP, i sur. Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease. J Med Genet 1999;36:687-90.

52. Diosdado B, Wijmenga C. Molecular mechanisms of the adaptive, innate and regulatory immune responses in the intestinal mucosa of celiac disease patients. Expert Rev Mol Diagn 2005;5(5):681-700.

53. Martin-Pagola A, Perez de Nanclares G, Vitoria JC, Bilbao JR, Ortiz L, Zubillaga P, Castano L. No association of CTLA4 gene with celiac disease in the Basque population. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;37:142-5.

54. Nisticó L, Buzzetti R, Pritchard LE, i sur. The CTLA-4 gene region on chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. Hum Mol Genet 1996;5:1075-80.

55. Kouki T, Gardine CA, Yanagawa T, i sur. Relation of three polymorphisms of the CTLA-4 gene in patients with Graves' disease. J Endocrinol Invest 2002;25:208-13.

56. Harper K, Balzano C, Rouvier E, i sur. CTLA-4 and CD28 activated lymphocyte molecules are closely related in both mouse and human as to sequence, message expression, gene structure, and chromosomal location. J

Immunol 1991;147:1037-44.

57. Walunas TL, Lenschow DJ, Baker CY, i sur. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. Immunity 1994;1:405-13.

58. van Heel DA, Hunt K, Greco L, Wijmenga C. Genetics in coeliac disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):323-39.

59. Zhernakova A, Eerligh P, Barrera P, Weseloy JZ, Huizinga TW, Roep BO, Wijmenga C, Koeleman BP. CTLA4 is differentially associated with autoimmune diseases in the Dutch population. Hum Genet 2005;118(1):58-66.

60. Alegre ML, Frauwirth KA, Thompson CB. T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. Nat Rev Immunol 2001;1(3):220-8.

61. Brophy K, Ryan AW, Thornton JM, i sur. Haplotypes in the CTLA4 region are associated with coeliac disease in the Irish population. Genes Immun 2006;7(1):19-26

62. Lio D, Scola L, Forte GI, Accomando S, Giacalone A, Crivello A, Cataldo F. TNFalpha, IFNgamma and IL-10 gene polymorphisms in a sample of Sicilian patients with coeliac disease. Dig Liver Dis 2005;37(10):756-60.

63. Bai J, Zeballos E, Fried M, i sur. WGO-OMGE practice guideline celiac disease. World Gastroenterology News 2005;10(Suppl):1-8.

64. Hayday A, Theodoridis E, Ramsburg E, i sur. Intraepithelial lymphocytes: exploring the hird way in immunology. Nat Immunol 2001,2:997-1003.

65. Chang F, Mahadeva U, Deere H. Pathological and clinical significance of increased intraepithelial lymphocytes (IELs) in small bowel mucosa. APMIS 2005;113(6):385-99

66. Collin P, Wahab PJ, Murray JA. Intraepithelial lymphocytes and coeliac

disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):341-50.

67. Collin P. Augmented diagnostic approach of coeliac disease. Gut 2000; 47(Suppl III):A49

68. Sollid LM, Jabri B. Is celiac disease an autoimmune disorder? Curr Opin Immunol 2005;17:595-600.

69. Mazzarella G, Stefanile R, MacDonald TT; i sur. Activation of STAT1 in celiac disease. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P48.

70. Hammarstöm M-L, Forsberg G, Melgar S, Hernell O, Hammarström S. Intraepithelial CD8+ T cells consitute a major source of interferon-α in active celiac disease. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P42.

71. Dietrich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nat Med 1997;3:797-801.

72. Aleanzi M, Demote AM, Esper C, Garcilazo S, Waggener M. Antibody recognition against native and selectively deamidated gliadin peptides. Clinical Chemistry 2001;47:20023-8.

73. Molberg O, McAdam SN, Korner R, i sur. Tissue transglutaminase selectivity modifies gliadin peptides that are recognized by gluten-derived T cells in celiac disease. Nat Med 1998;4:713-17.

74. Van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, i sur. Selective deaminidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. J Immunol 1998;161:1585-88.

75. Arentz-Hansen H, Korner R, Molberg O, i sur. The intestinal T cell response

to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deaminated glutamine targeted by tissue transglutaminase. J Exp Med 2000; 191:603-12.

76. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AV. In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. Nat Med 2000;6:337-42.
77. Vader W, Kooy Y, van Veelen P, i sur. The gluten response in children with recent onset celiac disease. A highly diverse response towards multiple gliadin and glutenin derived peptides. Gastroenterology 2002;122:1729-37.
78. Vader LW, de Ru A, van de Wal Y, i sur. Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease. J Exp Med 2002;195(5):643-9.
79. van de Wal Y, Kooy YMC, Drijfhout JW, Amons R, Koning F. Peptide binding characteristics of the coeliac disease-associated DQ(alpha1*0501, beta10201) molecule. Immunogenetics 1996;44:246-53.
80. Vartdal F, Johansen BH, Friede T, i sur. The peptide binding motif of the disease associated HLA-DQ (alpha 1* 0501, beta 1 *0201) molecule. Eur J Immunol 1996;26:2764-72.
81. Ciclitira PJ, Johnson MW, Dewar DH, Ellis HJ. The pathogenesis of coeliac disease. Mol Aspects Med 2005;26(6):421-58
82. Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. Gastroenterology 1993;105:910-22.
84. Auricchio S, Visakorpi JK. Epidemiology of coeliac disease in Europe and Mediterranean area – Detailed reports from the centers participating in the multicentre study of the European society of pediatric gastroenterology and nutrition. U: Auricchio S, Visakorpi JK, ur. Common Food Intolerances 1:

Epidemiology of Coeliac Disease. Basel: Karger, 1992:153-87. (Paubert-Braquet, ur. Dynamic Nutrition research; vol 2).

85. Visakorpi JK. Silent coeliac disease: The risk groups to be screened. U: Auricchio S, Visakorpi JK, ur. Common Food Intolerances 1: Epidemiology of Coeliac Disease. Basel: Karger, 1992:84-92. (Paubert-Braquet, ur. Dynamic Nutrition research; vol 2).
86. Fasano A, Catassi C. Coeliac disease in children. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):467-78.
87. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, i sur. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society fo Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005;40:1-19.
88. Mearin ML. Is childhood coeliac disease still underdiagnosed? Pediatrika 1996;16(9):358-62.
89. Bianchi ML, Bardella MT. Bone and celiac disease. Calcif Tissue Int 2002;71:465-71.
90. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Davies-Jones GA. Gluten sensitivity as a neurological illness. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2002 May;72(5):560-3.
91. Ballinger A, Hughes C, Kumar P, Hutchinson I, Clark M. Dental enamel defects in coeliac disease. Lancet 1994;343:230-1.
92. Romano C, Bellatoni A, Constantino D, Tedeschu A. Fertility and pregnancy history in coeliac disease (CD): a retrospective study. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P131.
93. Bradley RJ, Rosen MP. Subfertility and gastrointestinal disease: 'unexplained'

is often undiagnosed. Obstet Gynecol Surv 2004;59(2):108-17.

94. Bucci P, Carile F, Sangianantoni A, D'Angio F, Santarelli A, Lo Muzio L. Oral aphthous ulcers and dental enamel defects in children with coeliac disease. Acta Paediatr 2006;95(2):203-7.

95. Bustos D, Moret A, Tambutti M, Gogorza S, Testa R, Ascione A, Prigoshin N. Autoantibodies in Argentine women with recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol 2006;55(3):201-7.

96. Reunala T. Dermatitis herpetiformis: from gut to skin. U: Lohiniemi S, Collin P, Mäki M, ur. Changing features of coeliac disease. Tampere: The Finnish Coeliac Society, 1998:13-7.

97. Bonamico M, Mariani P, Mazzilli MC, i sur. Frequency and clinical pattern of celiac disease among siblings of celiac children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1996;23:159-63.

98. Steens RF, Csizmadia CG, George EK, Ninaber MK, Hira Sing RA, Mearin ML. A national prospective study on childhood celiac disease in the Netherlands 1993-2000: an increasing recognition and a changing clinical picture. J Pediatr 2005;147(2):239-43

99. Collin P, Reunala T, Pukkala E, i sur. Coeliac disease-associated disorders and survival. Gut 1994;35:1215-8.

100. Kumar V, Rajadhyaksha M, Wortsman J. Celiac disease-associated autoimmune endocrinopathies. Clin Diag Lab Immunol 2001;8:678-85.

101. Kaukinen K, Collin P, Mykkanen AH, i sur. Celiac disease and autoimmune endocrinologic disorders. Dig Dis Sci 1999;44:1428-33.

102. Petaros P, Martellossi S, Tommasini A, i sur. Prevalence of autoimmune disorders in relatives of patients with celiac disease. Dig Dis Sci

2002;47:1427-31.

103. Ansaldi N, Palmas T, Corrias A, i sur. Autoimmune thyroid disease and celiac disease in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;37(1):63-6.

104. Pocecco M, Ventura A. Coeliac disease and insuline-dependent diabetes mellitus: a causal association. An Italian multicentre study. Acta Paediatr 1995;84:1432-3.

105. Lepore L, Martellossi S, Pennesi M, i sur. Prevalence of coeliac disease in patients with juvenile chronic arthritis. J Pediatr 1996;129:311-3.

106. Cataldo F, Marino V. Increased prevalence of autoimmune diseases in first-degree relatives of patients with celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;36(4):470-3.

107. Viljamaa M, Kaukinen K, Huhtala H, Kyronpalo S, Rasmussen M, Collin P. Coeliac disease, autoimmune diseases and gluten exposure. Scand J Gastroenterol 2005;40(4):437-43

108. Crone J, Rami B, Huber WD, Granditsch G, Schober E. Prevalence of celiac disease and follow-up of EMA in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;37(1):67-71.

109. Kuchtova P, Paskova M, Barlova E, i sur. Coeliac disease in patients with IDDM in region Eastern Slovakia. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P145.

110. Picarelli A, Sabbatella L, Di Tola M, i sur. Anti-endomysial antibody of IgG1 isotype detection strongly increases the prevalence of coeliac disease in patients affected by type I diabetes mellitus. Clin Exp Immunol 2005;142:111-5.

111. Sategna-Guidetti C, Volta U, Ciacci P, i sur. Prevalence of thyroid disorders

in untreated adult celiac disease patients and effect of gluten withdrawal: an Italian multicenter study. Am J Gastroenterol 2001;96:751-7.

112. Ventura A, Neri E, Ughi C, i sur. Gluten dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. J Pediatr 2000;137:263-5.

113. Biagi F, Campanella J, Soriani A, Vailati A, Corazza GR. Prevalence of coeliac disease in Italian patients affected by Addison's disease. Scand J Gastroenterol 2006;41(3):302-5.

114. Betterle C, Lazzarotto F, Spadaccino AC, i sur. Celiac disease in North Italian patients with autoimmune Addison's disease. Eur J Endocrinol 200654(2):275-9.

115. Csizmadia CGDS, Mearin ML, Oren A, i sur. Accuracy and cost-effectivness of a new strategy to screen for celiac disease in children with Down syndrome. J Pediatr 2000;137:756-61.

117. Uibo O, Teesalu K, Metsküla K, i sur. Screening for celiac disease in Down's syndrome patients revealed cases of subtotal villous atrophy without typical foe celiac disease HLA-DQ and tissue transglutaminase antibodies. World J Gastroenterol 2006;12(9):1430-4.

118. Bonamico M, Pasquino AM, Mariani P, i sur. Prevalence and Clinical Picture of Celiac Disease in Turner Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:5495-8.

119. Giannotti A, Tiberio G, Castro M, i sur. Celiac disease in Williams syndrome. J Med Genet 2001;38:767-8.

120. Klemola T. Immunohistochemical findings in the intestine of IgA deficiency persons: number of intraepithelial T lymphocytes is increased. J Pediatr

Gastroenterol Nutr 1988;7:537-43.

121. De Laat PCJ, Weemaes CMR, Gonera R, i sur. Clinical manfestations in selective IgA deficiency in childhood. Acta Paediatr Scand 1991;80:798-804.

122. Lenhardt A, Plebani A, Marchetti F, i sur. Role of human-tissue transglutaminase IgG and anti-gliadin IgG antibodies in the diagnosis of coeliac disease in patients with selective immunoglobulin A deficiency. Dig Liver Dis 2004;36(11):730-4.

123. Meini A, Pillan NM, Villanacci V, Monafo V, Ugazio AG, Plebani A. Prevalence and diagnosis of celiac disease in IgA-deficient children. Ann Allergy Asthma Immunol 1996;77:333-6.

124. Maggiore G, Caprai S. The liver in celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;37:117-9.

125. Lo Iacono O, Petta S, Venezia G, i sur. Anti-tissue transglutaminase antibodies in patients with abnormal liver tests: is it always coeliac disease? Am J Gastroenterol. 2005 Nov;100(11):2472-7

126. Freeman HJ. Hepatobiliary and pancreatic disorders in celiac disease. World J Gastroenterol 200614;12(10):1503-8.

127. Germenis AE, Yiannaki EE, Zachou K, i sur. Prevalence and clinical significance of immunoglobulin A antibodies against tissue transglutaminase in patients with diverse chronic liver diseases. Clin Diagn Lab Immunol 2005;12(8):941-8.

128. Arslan N, Buyukgebiz B, Ozturk Y, Ozer E. The prevalence of liver function abnormalities in pediatric celiac disease patients and its relation with intestinal biopsy findings Acta Gastroenterol Belg 2005;68(4):424-7.

129. Volta U, Rodrigo L, Granito A, i sur. Celiac disease in autoimmune

cholestatic liver disorders. Am J Gastroenterol 2002;97(10):2609-13.

130. Calella F, Paoli B, Maddali Bongo S, i sur. Prevalence of coeliac disease (CD) in Sjögren's syndorme (SS) and rheumatiod arthritis. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P117

131. Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, i sur. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. Lancet 2001;358:356-61.

132. West J, Logan RFA, Smith CJ, Hubbard RB, Card TR. Malignancy and mortality in people with celiac disease: population based cohort study. BMJ 2004;329:716-9.

133. Brousse N, Meijer JW. Malignant complications of coeliac disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):401-12.

134. Al-toma A, Verbeek WHM, Hadithi M, von Blomberg BME, Mulder CJJ. Survival in refractory coeliac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma: retrospective evaluation of single-centre experience. Gut 2007;56:1373-8.

135. Daum S, Cellier C, Mulder CJ. Refractory coeliac disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):413-24.

136. Holmes GKT, Prior P, Lane MR, i sur. Malignancy in coeliac disease: the effect of the gluten free diet. Gut 1989;30:333-8.

137. Mearin ML, Catassi C, Brousse N, i sur. Biomed Study Group on Coeliac Disease and Non-Hodgkin Lymphoma. European multi-centre study on coeliac disease and non-Hodgkin lymphoma. Eur J Gastroenterol Hepatol 2006;18(2):187-94.

138. Mearin ML, Ivarsson A, Dickey W. Coeliac disease: is it time for mass

screening? Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):441-52.

139. Mearin ML. Coeliac disease and non-Hodgkin's lymphoma. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, str. 34.

140. European (Biomed) working group X. on coeliac disease and non-Hodgkin Lymphoma X. European multicentre study on coeliac disease and non-Hodgkin lymphoma. U: Book of abstracts of the 36th annual meeting of ESPGHAN. Prag: European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition; 2003, str. 3.

141. Catassi C, Fabiani E, Corrao G, i sur. Risk of Non-Hodgkin lymphoma in celiac disease. JAMA 2002;287:1413-9.

142. Howdle PD, Jalal PK, Houlston RS, Holmes GKT. Coeliac disease-associated primary small bowel malignancy in the UK. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P124.

143. Schuppan D, Dennis MD, Kelly CP. Celiac disease: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and nutritional management. Nutr Clin Care 2005;8:54-69.

144. Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, i sur. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2006;291(4):G621-9.

144. Al-toma A, Verbeek WHM, Mulder CJJ. Update on the management of refractory coeliac disease. J Gastrointestin Liver Dis 2007;16(1):57-63.

145. Sollid LM, Khosla C. Future therapeutic options for celiac disease. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2005;2(3):140-7

147. Kolaček S, Jadrešin O, Petković I, Mišak Z, Sonicki Z, Booth IW. Gluten-free

diet has a beneficial effect on chromosome instability in lymphocytes of children with coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004;38:177-80.

148. Green PH, Rostami K, Marsh MN. Diagnosis of coeliac disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):389-400.

149. Rashid M. Diagnosing celiac disease with a positive serological test and without an intestinal biopsy. Pediatrics 2005;116:1054-5.

150. Mäki M. Changing features of coeliac disease. U: Lohiniemi S, Collin P, Mäki M, ur. Changing features of coeliac disease. Tampere: The Finnish Coeliac Society, 1998:1-3.

151. Mäki M, Koskimies S, Visakorpi JK. Latent coeliac disease. U: Kumar PJ, Walker-Smith JA, ur. Coeliac Disease 100 years. Samuel Gee 1888-1988 Coeliac Symposium. London: St Bartholomew's Hospital, 1988;245.

152. Dickson BC, Streutker CJ, Chetty R. Coeliac disease: an update for pathologists. J Clin Pathol 2006;59:1008-16.

153. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex and the small intestine. A molecular and immunobiological approach to the spectrum of gluten sensitivity (‘celiac sprue’). Gastroenterology 1992;102:330-54.

154. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999;11:1185–94.

155. Corazza GR, Villanacci V. Some considerations on the histological diagnosis. J Clin Pathol 2005;58:573-4.

156. Hayat M, Cairns A, Dixon MF, O'Mahony S. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: what is normal? J Clin Pathol 2002;55(5):393-4.

157. Russo PA, Chartrand LJ, Seidman E. Comparative analysis of serologic screening tests for the initial diagnosis of celiac disease. Pediatrics 1999;104(1 Pt 1):75-8.

158. Tesei N, Sugai E, Vazquez H, et al. Antibodies to human recombinant tissue transglutaminase may detect coeliac disease patients undiagnosed by endomysial antibodies. Aliment Pharmacol Ther 2003;17(11):1415-23.

159. Stern M. Standardization of screening tests: sensitivity, specificity and reproducibility of serum antibody determninations. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, str. 31.

160. Feighery C. The problem of anti-EMA negative patients. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, str. 32.

161. Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). Aliment Pharmacol Ther 2006;24:47-54.

162. Corrao G, Corazza G, Andreani M, i sur. Serological screening of coeliac disease: choosing the optimal procedure according to various prevalence values. Gut 1994;35:771-5.

163. Burgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, i sur. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. Arch Dis Child 1991;66:941-7.

164. Cataldo F, Marino V, Ventura A, i sur. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: An Italian multicentre study. Gut 1998;42:362-5.

165. Reeves GEM, Squance ML, Duggan AE, i sur. Diagnostic accuracy of coeliac serological tests: a prospective study. Eur J Gastroenterol Hepatol

2006;18:493-501.

166. SIGNEP working group, Baldas V, Martellossi S. Serological screening of celiac disease: choosing the best test under two years. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005;40(5):639.

167. Westerberg DP, Gill JM, Dave B, DiPrinzio MJ, Quisel A, Foy A. New strategies for diagnosis and management of celiac disease. J Am Osteopath Assoc 2006;106:145-51.

168. Feighery L, Collins C, Feighery C, Mahmud N, Coughlan G, Willoughby R, Jackson J. Anti-transglutaminase antibodies and the serological diagnosis of coeliac disease. Br J Biomed Sci 2003;60(1):14-8.

169. Bazzigaluppi E, Roggero P, Parma B, Brambillasca MF, Meroni F, Mora S, Bosi E, Barera G. Antibodies to recombinant human tissue-transglutaminase in coeliac disease: diagnostic effectiveness and decline pattern after gluten-free diet. Dig Liver Dis 2006;38(2):98-102

170. Dietrich W, Laag E, Schöpper H, i sur. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. Gastroenterology 1998;115:1317-21.

171. Žižić V, Brumen V, Kolaček S, i sur. Tkivna transglutaminaza (tTG) – endomizijski autoantigen celijakije. Biochemia medica 2001;11:21-6.

172. Zintzaras E, Germenis AE. Performance of antibodies against tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease: meta-analysis. Clin Vaccine Immunol 2006;13(2):187-92

173. Agardh D, Borulf S, Lernmark A, Ivarsson SA. Tissue transglutaminase immunoglobulin isotypes in children with untreated and treated celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;36:77-82.

174. Dahlbom I, Olsson M, Hansson T, Kazemi Foroz N, Sjöholm AG, Truedsson L. IgG anti-tissue (tTG) antibodies as a marker for IgA-deficient celiac disease patients. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P67.

175. Korponay-Szabo IR, Dahlbom I, Laurila K, i sur. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. Gut 2003;52:1567-71.

176. Freeman HJ. Strongly positive tissue transglutaminase antibody assays without celiac disease. Can J Gastroenterol 2004;18(1):25-8.

177. Hansson T, Dahlbom I, Rogberg S, et al. Recombinant human tissue transglutaminase for diagnosis and follow-up of childhood coeliac disease. Pediatr Res 2002;51(6):700-5.

178. Hadithi M, Crusius B, von Blomberg M, Bloemena E, Stehouwer C, Pena AS. A prospective study to determine the valuse of HLA-DQ typing and serological tests in diagnosis and screening for celiac disease. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P12.

179. Moodie SJ, Fraser JS, King AL, kondeatis E, Ellis HJ, Ciclitira PJ. The HLA association of UK coeliacs without the disease associated HLA-DQ2 genotype. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P20.

180. Crusius JBA, Uyar MT, Goerres MS, Meijer JWR, Wahab PJ, Mulder GJ, Peña AS. HLA-DQ2 and DQ8 in the pathogenesis of villous atrophy in a Dutch cohort of celiac patients. Gut 2001;49(Suppl III):A2597

181. Sategna-Guidetti C, Grosso S, Bruno M, Grosso SB. Reliability of

immunologic markers of celiac sprue in the assessment of mucosal recovery after gluten withdrawal. J Clin Gastroenterol 1996;23(2):101-4.

181. Vranešić Đ. Histološke i ultrastrukturne promjene sluznice jejunuma kod glutenske enteropatije. Pediatr Croat 1995;39:203-12.

183. Žižić V, Kolaček S, Brumen V. Važnost određivanja antiglijadinskih i endomizijalnih protutijela u postupku dijagnostike celijakije. Paediatr Croat 2000;44:9-15.

184. Žižić, V. Značaj određivanja antiglijadinskih i endomizijalnih antitijela u postupku dijagnostike celijakije. Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1997. 128 str. Magistarski rad.

185. van Heel DA, West J. Recent advances in coeliac disease. Gut 2006;55:1037-1046.

186. Telega G. Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch Pediatr Adolesc Med 2008;162(2):164-8.

187. Collin P, Huhtala H, Virta L, Kekkonen L, Reunala T. Diagnosis of celiac disease in clinical practice, physician's alertness to the condition essential. J Clin Gastroenterol 2007;41:152-6.

188. Solaymani-Dodaran M, West J, Logan RFA. Long-term mortality in people with celiac disease diagnosed in childhood compared with adulthood: a population-based cohort study. Am J Gastroenterol 2007;102:864-70

189. Challacombe DN, Mecrow IK, Elliot K, Clarke FJ, Wheeler EE. Changing infant feeding practices and declining incidence of coeliac disease in West Somerset. Arc Dis Child 1997;77:206-9.

190. Littlewood JM, Crollick AJ, Richards IDG. Childhood coeliac disease is disappearing. Lancet 1980;2:1359-60.

191. Ascher H, Holm K, Kristiansson B, Maki M. Different features of coeliac diesease in the neighbouring countries. Arch Dis Child 1993; 69:375-80.

192. Cranney A, Zarkadas M, Graham ID, i sur. The Canadian Celiac Health Survey. Dig Dis Sci. 2007 Apr;52(4):1087-95. Epub 2007 Feb 22

193. Peters U, Askling J, Gridley G, Ekbom A, Linet M. Causes of death in patients with celiac disease in a population-based Swedish cohort. Arch Intern Med 2003;163(13):1566-72.

194. Logan RF, Rifkind EA, Turner ID, Ferguson A. Mortality in celiac disease. Gastroenterology 1989;97:265-71.

195. Cottone M, Termini A, Oliva L, i sur. Mortality and causes of death in celiac disease in a Mediterranean area. Dig Dis Sci 1999;44(12):2538-41.

196. Green PH, Fleischauer AT, Bhagat G, Goyal R, Jabri B, Neugut AI. Risk of malignancy in patients with celiac disease. Am J Med 2003;115(3):191-5.

197. Silano M, Volta U, Mecchia AM, Dessì M, Di Benedetto R, De Vincenzi M. Delayed diagnosis of coeliac disease increases cancer risk. BMC Gastroenterology 2007;7:8 doi:10.1186/1471-230X-7-8

198. Ventura A, Magazzu G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. Gastroenterology 1999;117(2):297-303.

199. Shamir R, Hernell O, Leshno M. Cost-effectiveness analysis of screening for celiac disease in the adult population. Med Decis Making 2006;26:282-93.

200. Marsh MN. The natural history og gluten sensitivity: defining, refining and re-defining. QJM 1995;88:9-13.

201. Kaukinen K, Collin P, Maki M. Latent coeliac disease or coeliac disease

beyond villous atrophy? Gut 2007;56:1339-40.

202. Bhatnagar S, Tandon N. Diagnosis of celiac disease. Indian J Pediatr 2006;73:703-9.

203. Veress B, Franzen L, Bodin L, Borch K. Duodenal intraepithelial lymphocyte-count revisted. Scand J Gastroenterol 2004;39:138-44.

204. Jarvinen TT, Kaukinen K, Laurila K, i sur. Intraepithelial lymphocytes in celiac disease. Am J Gastroenterol 2003;98(6):1332-7.

205. Jarvinen TT, Collin P, Rasmussen M, i sur. Villous tip intraepithelial lymphocytes as markers of early-stage coeliac disease. Scand J Gastroenterol 2004;39(5):428-33.

206. Goldstein NS, Underhill J. Morphologic features suggestive of gluten sensitivity in architecturally normal duodenal biopsy specimens. Am J Clin Pathol. 2001 Jul;116(1):63-71.

207. Gandolfi L, Catassi C, Garcia S, Modelli IC, Campos D Jr, Pratesi R. Antiendomysial antibody test reliability in children with frequent diarrhea and malnutrition: is it celiac disease? J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001;33(4):483-7.

208. Vahedi K, Mascart-Lemone F, Mary JY, i sur. Are anti-transglutaminase (tTG) and anti-endomysial (AEM) antibodies reliable markers of a strict diet complicance in adult celiacs on a gluten free diet. U: Book of abstracts of the 10th international symposium on coeliac disease. Pariz; 2002, P107.

209. Vader W, Stepniak D, Kooy Y, i sur. The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:12390-5.

210. Ellis HJ, Ciclitira PJ. In vitro is less challenging to celiac children. J Pediatr

Gastroenterol Nutr 2005;40:122-4.

211. Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Lorincz M, Goracz G, Szabados K, Balogh M. Prospective significance of antiendomysim antibody positivity in subsequently verified celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1997;25:56-63.

212. Guandalini S, Ventura A, Ansaldi N, i sur. Diagnosis of coeliac disease: time for a change? Arch Dis Child 1989;64:1320-5.

213. Bonamico M, Sabbatella L, Di Tola M, i sur. Antiendomysial antibody detection in biopsy culture allows avoidance of gluten challenge in celiac children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005;40(2):165-9.

214. Hopper AD, Cross SS, Hurlstone DP, i sur. Pre-endoscopy serological testing for coeliac disease: evaluation of a clinical desicion tool. BMJ 2007;334(7596):729 BMJ doi: 10.1136/bmj.39133.668681.BE (published 23 March 2007)

215. Barker CC, Mitton C, Jevon G, Mock T. Can tissue transglutaminase antibody titers replace small-bowel biopsy to diagnose celiac disease in select pediatric populations? Pediatrics 2005;115(5):1341-6

216. Matysiak-Budnik T, Malamut G, Patey-Mariaud de Serre N, i sur. Long-term follow-up of 61 celiac patients diagnosed in childhood: evolution toward latency is possible on a normal diet. Gut 2007;56(10):1379-86.

P R I L O G

UPITNIK ZA SAKUPLJANJE PODATAKA O BOLESNICIMA S CELIJAKIJOM

Opći podaci o bolesniku

1.	Redni broj	
2.	Spol	M Ž
3.	Datum rođenja	

Osobna anamneza

4.	Porođajna masa i dužina	_____ g; _____ cm
5.	Mlijeko - dojenje, koliko dugo - umjetno - koje, kada uvedeno - KM - kakvo, kada uvedeno	
6.	Dohrana (kakva, kada, kako je podnošena)	voće: kada _____, komplikacije _____, povrće: kada _____, komplikacije _____, meso: kada _____, komplikacije _____,
7.	Uvođenje glutena, kada, u kojem obliku	keksi, kada _____; kruh, kada _____; griz, kada _____; brašno, kada _____

8.	Napredovanje na tjelesnoj masi	1. dobro 2. slabo 3. gubi na težini
9.	Alergije - da, ne, koje	
10.	Dosadašnje bolesti – koje	
11.	Dosadašnje crijevne infekcije	1. DA, koje_____; 2. NE

Podaci o celijakiji

12.	Dob u kojoj se bolest javila	
13.	Dob kada je učinjena 1. biopsija sluznice tankog crijeva	
14.	Vodeći simptomi:	
	- kronični proljev	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- gubitak na tj. masi	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- usporeno napredovanje	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- sporiji psihomotorni razvoj	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- napetost, nadutost trbuha	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- bljedoća	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- bol u trbuhu	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- rekurentna pojava afti u ustima	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- edemi	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- povraćanje	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- bol u zglobovima	1. DA 2. NE 3. nepoznato

	- epilepsija	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- hipoplazija cakline	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- kronični umor	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- anemija	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- niski rast	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- prisutnost intolerancije laktoze	1. DA 2. NE 3. nepoznato
	- anoreksija	1. DA 2. NE 3. nepoznato
15.	Prateće bolesti (zaokružiti):	IgA deficijencija, diabetes mellitus, Down sy, kr. bolest jetre, Sjörgen sy, , alergije IgA nefropatija, shizofrenija, epilepsija, ostalo _____

Dijagnostička obrada

12.	Prva biopsija tankog crijeva	Dob nalaz
13.	Antiglijadinska antitijela u akutnom stanju	Dob nalaz
14.	Totalni IgA	
15.	Bezglutenska prehrana	dob kada je uvedena _____ duljina provođenja _____

16.	Postoji li pozitivan klinički odgovor na bezglutensku preharnu	DA, opis: _____ NE
17.	Druga biopsija tankog crijeva	- dob bolesnika: - nalaz:
18.	Antiglijadinska antitijela za vrijeme dijete	- dob bolesnika: - nalaz:
19.	Opterećenje glijadinom (navesti kako i simptome)	- koliko dugo prije 3. biopsije _____ Kako _____ Simptomi _____
20.	Treća biopsija tankog crijeva	- dob bolesnika: - nalaz:
21.	Antiglijadinska antitijela	- dob bolesnika: - nalaz:
22.	Nakon treće biopsije - daljnje kontrole antiglijadinskih antitijela	1. redovite kontrole u amb. DA NE, kada zadnji puta _____ 2. antiglijadinska antitijela DA NE (rezultati _____)

Liječenje

12.	Pridržavanje bezglutenske prehrane:	1. DA 2. NE 3. neredovito
13.	Ostale napomene	

Datum: _____ Podatke prikupio: _____

Ž I V O T O P I S

Rođena sam 31. srpnja 1966. godine u Zagrebu gdje sam završila osnovnu i srednju školu. Studij medicine pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 1985. i diplomirala 1990. godine. Stručni ispit za liječnike, nakon obaveznog pripravničkog staža odrađenog u Općoj bolnici „Sv. Duh“, položila sam 1992. godine. Od 1992. do 1996. godine radila sam u Medicinskom centru za ljudska prava pri Medicinskom fakultetu u Zagrebu, a 1997. godine započela sam specijalizaciju iz pedijatrije u Klinici za dječje bolesti Zagreb. Specijalistički ispit položila sam 2002. godine i od tada radim u Referentnom centru za dječju gastroenterologiju i prehranu u Klinici za dječje bolesti Zagreb. U srpnju 2007. položila sam subspecijalistički ispit iz područja pedijatrijske gastroenterologije.

U školskoj godini 1992/93. upisala sam poslijediplmski studij „Ultrazvuk u kliničkoj medicini, smjer gastroenterologija i hepatologija“ pri Medicinskon fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i položila sve ispite prve godine. U školskoj godini 1997/98. upisala sam poslijediplomski studij „Zaštita majke i djeteta“ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu koji sam završila 1999. godine. Iste godine obranila sam i magistarski rad pod naslovom „Epidemiologija celijakije u djece Međimurske županije“. Jedan sam od autora u ukupno 15 objavljenih stručnih i znanstvenih radova (od toga 9 citiranih u CC-u).