

Marina Zabukovec¹, Vesna Vidmar², Dušanka Mičetić - Turk³

Celiakija v severovzhodni Sloveniji v obdobju 1999–2009

Celiac Disease in North-East Slovenia between 1999–2009

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: celiakija, kumulativna incidenca, otroci, genetika, histologija, serologija

IZHODIŠČA. Celiakija je sistemska, imunsko pogojena bolezen, ki nastane kot posledica uživanja glutena pri genetsko predisponiranih osebah. V zadnjem času je prišlo do sprememb v diagnostiki celiakije, predvsem zaradi odkritja seroloških testov. Doslej je bila na področju severovzhodne Slovenije opazna rast kumulativne incidence, prevladovala je tipična klinična slika. **METODE.** Vključitveni kriteriji za našo raziskavo so bili: rojen v severovzhodni Sloveniji med letoma 1999 in 2009, celiakija, diagnosticirana med letoma 1999 in 2009, za celiakijo značilna klinična slika, prisotnost seroloških označevalcev za celiakijo, biopsija sluznice ozkega črevesa in prisotnost značilnih histoloških sprememb. Retrospektivno smo pregledali vso klinično dokumentacijo o poteku bolezni in pridobili podatke o kliničnih značilnostih pri posameznih bolnikih. Kumulativno incidenco smo izračunali za vsako kohorto rojstev v severovzhodni Sloveniji. V diagnostičnem postopku je bil vsem preiskovancem odvzet vzorec venske krvi za določevanje seroloških označevalcev za celiakijo (antiendomizijska protitelesa in protitelesa proti tkivni transglutaminazi) in določitev zapisa za humana levkocitna antigena DQ2 in DQ8, pri vseh preiskovancih je bila opravljena biopsija sluznice ozkega črevesa. Histološke preparate smo ocenili glede na stopnjo atrofije črevesne sluznice. **REZULTATI.** V študijo smo vključili 72 bolnikov. Vsi bolniki so izpolnjevali večino diagnostičnih kriterijev. Vsi bolniki so nosilci vsaj enega od značilnih zapisov za celiakijo. Kumulativna incidenca do leta 2004 narašča, nato se ustali. Pri bolnikih je pogosteje prisotna tipična oblika celiakije. **ZAKLJUČKI.** Kumulativna incidenca celiakije v severovzhodni Sloveniji se je ustalila. Prevladuje tipična klinična slika s kronično drisko, distendiranim trebuhom in nenapredovanjem. Občutljivost seroloških testov pri določanju antiendomizijskih protiteles je slabša pri bolnikih z blažjo stopnjo atrofije sluznice ozkega črevesa. Večina bolnikov je nosilcev zapisa za humani levkocitni antigen DQ2.

ABSTRACT

KEY WORDS: celiac disease, cumulative incidence, children, genetics, histology, serology

BACKGROUND. Celiac disease is a systemic, immune-mediated disease, triggered by the ingestion of gluten-containing grains in susceptible individuals. Recently there have been changes in diagnosis of celiac disease, mainly due to the discovery of serological tests. Epidemiolo-

¹ Marina Zabukovec, dr. med., Odsek za gastroenterologijo in prehrano, Klinika za pediatrijo, Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor; marina.zabukovec@gmail.com

² Vesna Vidmar, dr. med., Odsek za gastroenterologijo in prehrano, Klinika za pediatrijo, Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor

³ Prim. prof. dr. Dušanka Mičetić - Turk, dr. med., Odsek za gastroenterologijo in prehrano, Klinika za pediatrijo, Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor

gical studies, done so far in northeastern Slovenia, showed that cumulative incidence was rising and typical presentation was dominant. METHODS. The inclusion criteria were: born in northeastern Slovenia between the years 1999 and 2009, diagnosis of celiac disease between 1999 and 2009, clinical features of celiac disease, presence of serological markers, intestinal biopsy and typical histological appearance of the jejunal mucosa. We performed a retrospective collection of clinical data for each patient. The cumulative incidence for each birth cohort was calculated. Serological markers (anti-endomisium antibodies and anti-transglutaminase antibodies) were determined in all patients, as was the presence of the human leukocyte antigen DQ2 or human leukocyte antigen DQ8. Intestinal biopsy was performed and the degree of villous atrophy determined using descriptive classification. RESULTS. The study included 72 patients. All of our patients fulfilled the majority of diagnostic criteria. All our patients carried one of the human leukocyte antigen DQ risk alleles. Cumulative incidence from 1999 to 2004 is increasing and from 2004 onwards cumulative incidence stabilize. Typical clinical presentation of celiac disease is dominant. CONCLUSIONS. Cumulative incidence of celiac disease in northeastern Slovenia has stabilized. Typical clinical presentation with chronic diarrhea, abdominal distention and failure to thrive is dominant. Results of serologic tests showed that sensitivity of anti-endomisium antibodies serologic tests is lower in patients that had minor lesion of intestinal mucosa at biopsy. Genetic tests showed that most of our patients carried the human leukocyte antigen DQ2 allele.

UVOD

Celiakija je sistemska, imunsko pogojena bolezen, ki nastane kot posledica uživanja glutena pri genetsko predisponiranih osebah. Gluten je prisoten v žitaricah, kot so pšenica, ječmen, rž in oves. Aktivne komponente glutena so v alkoholu topen protein gliadin v pšenici in drugi podobni, v alkoholu topni proteini, ki jih vsebujejo ječmen, rž in oves (1).

Skupna značilnost vseh bolnikov s celiakijo je njihova genetska predispozicija za razvoj bolezni. Da je bolezen genetsko pogojena, so pokazale številne raziskave družinskih članov in dvojčkov. Na podlagi teh raziskav je postalo jasno, da je prevalenca med dvojčki in tudi družinskimi člani takšna, da dejavni ki okolja ne morejo v celoti pojasniti nastanka bolezni in da morajo pomembno vlogo pri nastanku bolezni igrati tudi genetski dejavniki (2, 3).

Najbolj raziskana je povezava celiakije z nekaterimi aleli humanega levkocitnega antigena (HLA), kodiranimi na šestem kromosomu (4). Te HLA-molekule so izražene na antigen predstavitevni celicah, večinoma so to makrofagi, dendritične celice in limfociti B. Glavna naloga HLA-molekul je veza in predstavitev peptidnih fragmentov

T-celicam. HLA-molekule razreda II predstavljajo peptide T-celicam pomagalkam, medtem ko HLA-molekule razreda I predstavljajo peptidne antigene citotoksičnim T-celicam (1). Za HLA-sistem je značilen polimorfizem, različne HLA-molekule predstavljajo različne peptide. T-celice pomagalkalke v črevesni sluznici bolnikov s celiakijo edinstveno prepoznavajo peptide glutena, vezane na molekule HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 (5).

Najpogostejši predisponirajoči genetski dejavnik za celiakijo v Evropi je heterodimer HLA-DQ2, posebej tisti, ki je zapisan z aleli za α - in β -verigo, DRA1*05 in DQB1*02. Okoli 90% bolnikov s celiakijo nosi ta zapis, so pa, v redkih primerih, s celiakijo povezani tudi drugi HLA-aleli. Heterodimer HLA-DQ8, ki je zapisan z DQA1*03 in DQB1*0302, nosi 5–12% bolnikov (6). Bolnike s celiakijo, ki ne nosijo zapisa za HLA-DQ2 ali HLA-DQ8, srečamo le izjemoma. Zapis HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 nosi več kot 30% celotne populacije v Zahodni Evropi in tudi v Sloveniji (4). Ta podatek kaže na to, da je ta zapis nujen, a ne zadosten razlog za razvoj celiakije. Natančnejše genetske analize so pokazale, da je v predispozicijo za razvoj celiakije verjetno vključenih več genov na različnih kromo-

somih in da gre za kompleksno genetsko predispozicijo (6).

Kaskada patofizioloških dogodkov pri bolnikih s celiakijo se začne s spremenjeno barierno funkcijo ozkega črevesa. Natančni mehanizmi, kako glutenski peptidi dosežejo lamino proprijo, še niso poznani. V lamini propriji tkivna transglutaminaza (tTG) deamidira gliadinske peptide in s tem močno poveča njihovo afiniteto za molekule HLA II, izražene na membranah določenih antigen predstavitevnic celic. Interakcija med gliadinskimi peptidi in molekulami HLA II aktivira celice T-pomagalke ozkega črevesa. Le-te so ključne celice v nastanku in razvoju črevesnega vnetja, značilnega za celiakijo (1).

Predvsem zaradi razmeroma velike prevalence bolezni, ki pa lahko poteka tudi s hudo klinično simptomatiko ali razvije hude zaplete, je treba bolnike s celiakijo aktivno iskati.

Diagnozo celiakije usmerja predvsem klinična slika, vendar dokončna diagnoza vedno temelji na dokazovanju prisotnosti specifičnega povratnega imunskega odgovora in dokazovanju značilnih histoloških sprememb sluznice ozkega črevesa.

Zlati standard v diagnostiki celiakije še zmeraj predstavlja biopsija sluznice ozkega črevesa. Spremembe, ki jih uživanje glutena povzroči pri bolnikih s celiakijo, pogosto označujemo z izrazom atrofija sluznice ozkega črevesa. Najznačilnejše histološke spremembe, ki jih pri celiakiji opazimo, so: popolna ali delna atrofija črevesnih resic, podaljšanje Lieberkühnovih kript in povečanje števila intraepiteljskih limfocitov (IEL). Pri opredelitvi sprememb sluznice ozkega črevesa različni avtorji uporabljajo različne delitve. Najpogosteje uporabljena pa je še zmeraj klasifikacija po Marshu, predstavljena leta 1992, ki spremembe črevesne sluznice pri bolnikih s celiakijo deli v štiri različne stopnje (7). Nekateri avtorji predlagajo poenostavitev te klasifikacije, saj so mnenja, da je vsaka klasifikacija, ki predvideva večje število stopenj, lahko povod za več diagnostičnih nesporazumov in tudi zmot (8). Po zadnjih objavljenih merilih Evropskega združenja za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano (angl. *European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*, ESPGHAN), lahko pri otrocih, starejših od dveh let, s prvo

biopsijo z gotovostjo postavimo diagnozo celiakije. Dodatne biopsije niso potrebne, če imajo otroci simptome in znake, značilne za celiakijo, pozitivne serološke teste, značilne histološke spremembe ozkega črevesa in izboljšanje klinične slike ter negativne serološke teste po prehodu na brezglutensko dieto (9). Spremembe smernic v diagnostiki celiakije gredo celo v smeri postavljanja diagnoze bolezni le na podlagi prisotnosti seroloških in genetskih označevalcev, v kolikor je pri otrocih prisotna klinična slika, tipična za bolezen. Serološki označevalci celiakije so specifična protitelesa, ki jih najdemo v serumu bolnikov s celiakijo. Sem sodijo antigliadinska protitelesa (AGA) razredov IgG in IgA, ki se danes zaradi slabe občutljivosti in specifičnosti skoraj ne uporabljajo več, antiendomizijska protitelesa (EMA) razreda IgA in protitelesa proti tTG. EMA so pri bolnikih s celiakijo prvič opisali leta 1984 in jih kmalu uvedli v klinično uporabo (10). Protitelesa proti tTG so bila prvič opisana leta 1997, njihovo dokazovanje je skupaj z dokazovanjem prisotnosti antiendomizijskih protiteles danes osnova diagnostike celiakije (11). Tkivna transglutaminaza pravzaprav predstavlja avtoantigen za antiendomizijska protitelesa.

S pomočjo dokazovanja specifičnih protiteles lahko odkrijemo celiakijo tudi pri bolnikih, kjer bolezen ne poteka s tipičnimi kliničnimi znaki, temveč se kaže z atipičnimi znaki.

- Tipična klinična slika: starost do dveh let, diareja, meteorizem, kolike, neješčnost, zaostajanje, bruhanje, zaprtje, anemija.
- Atipična klinična slika: starost nad dvema leti, rezistentna anemija, nizka rast, kožne spremembe (*dermatitis herpetiformis Duhring*), jetrne bolezni, bolezni ščitnice, pomanjkanje imunoglobulinov, aftozni stomatitis, nevrološke bolezni (ataksija, polinevropatija), depresija, nespecifični artritis, artralgija, osteopenija, osteoporoza, neplodnost, zapoznena puberteta, neredni menstrualni cikel (12, 13).

Bolniki z avtoimunskimi obolenji, posebej z endokrinimi avtoimunskimi boleznimi, imajo povečano tveganje za pojav celiakije. Konkomitantno pojavljanje teh bolezni v veliki meri razloži enak HLA-DQ-zapis. Pri bolni-

kih s celiakijo 5-krat pogosteje vidimo diabetes tip I, Gravesovo bolezen, avtoimunski hipotiroiditis, Addisonovo bolezen, hipopituitarizem, Syögrenov sindrom, Downov sindrom, Turnerjev sindrom, Williamsov sindrom, alopecijo areato, miokarditis, IgA-nefropatijo, vaskulitise, itd. (13).

Kljub temu da je v predispozicijo za razvoj celiakije verjetno vključenih več genov na različnih kromosomih, ima določanje zapisa HLA-DQ2 in HLA-DQ8 v diagnostiki celiakije zelo pomembno vlogo. Razvoj genetskih metod je namreč omogočil rutinsko uporabo genetskih preiskav v diagnostiki celiakije. Pri tem so nam na voljo številni komercialni pripravki. Z njimi s pomočjo metode pomnoževanja nukleinske kisline (angl. *polymerase chain reaction*, PCR) določimo alele gena DQB1. Metoda ima velik pomen v diagnostiki celiakije, predvsem zaradi svoje visoke negativne napovedne vrednosti, saj so bolniki, ki ne nosijo za celiakijo značilnega zapisa, izjemno redki (4).

V letu 2005 so prvič objavili podatke o hitrem testu, ki omogoča dokaz protiteles proti tkivni transglutaminazi. S to metodo izkoriščamo tkivno transglutaminazo v eritrocitih za odkrivanje protiteles razreda IgA v kapilarnem vzorcu krvi. Test je hiter, saj rezultate odčitamo že v petih do desetih minutah. Izkušnje s testom so do sedaj dobre (4). Dosludna brezglutenska dieta še vedno predstavlja temelj v zdravljenju celiakije (1).

EPIDEMIOLOGIJA CELIAKIJE

V epidemioloških raziskavah so avtorji uporabili različne načine prikaza pojavljanja celiakije. V člankih, objavljenih v 50. letih, so pogostost celiakije prikazovali predvsem z incidenco, ki pomeni stopnjo, s katero se pojavljajo novi bolniki s celiakijo v nekem obdobju. Danes pa se najpogosteje za prikaz pogostosti pojavljanja celiakije uporabljata kumulativna incidenca in prevalenca. Kumulativna incidenca predstavlja delež populacije, ki razvije celiakijo v nekem časovnem obdobju. Prevalenca pa predstavlja delež populacije, ki ima celiakijo v nekem določenem obdobju (14). Ugotoviti, kako pogosto se bolezen pojavlja, z določanjem njene incidence in prevalence je na videz lahka naloga. Bistveno je,

da imamo pravilno število oseb že diagnosticiranih s to boleznijo ali pravilno število na novo diagnosticiranih in da poznamo velikost populacije v času opazovanja oz. da poznamo število vseh oseb s tveganjem za razvoj bolezni v populaciji na začetku obdobja opazovanja. Za oceno incidence določene bolezni je nujno treba poznati čas začetka te bolezni. Razvoj celiakije je navadno postopen, bolezen lahko, pred postavitvijo diagnoze, dalj časa poteka v neprepoznavni obliki in je zato težko določiti točen čas začetka. Prav zaradi tega je računanje incidence v primeru celiakije dvomljive verodostojnosti. Večina študij tako za mere pogostosti pojavov uporablja prevalenco ali kumulativno incidenco. Ker velja celiakija za dosmrtno bolezen, z nizko smrtnostjo pred odraslo dobo, je prevalenca celiakije praktično enaka kumulativni incidenci do odrasle dobe. Podatki, potrebni za izračun le-teh, pa se pridobijo z retrospektivnim pregledom kliničnih dokumentacij pri posameznih bolnikih z že postavljeno diagnozo celiakije. Pri opravljanju raziskav na tak način pa se navadno srečamo s številnimi težavami. Potrebna je natančna določitev diagnostičnih kriterijev. Prednost celiakije je v tem, da je diagnoza postavljena na osnovi histopatologije, kar zagotavlja veliko mero objektivnosti in verodostojnosti. Težave pa nastanejo, kadar je treba določiti, koliko biopsij je potrebnih. Klasični kriteriji ESPGHAN so zahtevali tri opravljene biopsije za potrditev diagnoze. Kasneje pa se je izkazalo, da tudi manj zahtevni kriteriji vodijo do enakih rezultatov. Tako se sedaj večinoma uporabljajo omenjeni najnovejši ESPGHAN-kriteriji. Klasična merila ESPGHAN se danes uporablja - jo le v primeru dvoma o prvotno postavljeni diagnozi (15).

Tako kot je pomembno, da izberemo primerne diagnostične kriterije, je pomembno tudi, da natančno določimo kriterije, katere osebe bomo vključili v raziskavo. V raziskavah o celiakiji pa na tem mestu velikokrat naletimo na težave. Številne študije, kjer so s presejalnimi testi preiskovali prisotnost protiteles, značilnih za celiakijo, pri visokoogroženi populaciji (družinski člani bolnikov s celiakijo, sladkorni bolniki) kot tudi pri naključni populaciji, so potrdile obstoj velike skupine oseb s celiakijo, ki imajo le nekaj

ali pa so popolnoma brez simptomov (16–18). Leta 1992 je Logan objavil idejo celiakije kot ledene gore, kjer le-ta predstavlja le majhen del bolnikov s potrjeno diagnozo celiakije, veliko večje področje pod vodno črto pa predstavlja ogromen delež nediagnosticiranih primerov v določeni populaciji in času. Zelo pomembno je tudi, da izberemo primerno populacijo in da smo pozorni pri načinu predstavljanja rezultatov. Težko namreč primerjamo izračunane prevalence in kumulativne incidence med kohortama, kjer ena vključuje primere, rojene npr. leta 1980, druga pa primere, rojene npr. leta 1990, saj so v prvi kohorti osebe starejše za 10 let. Prav tako pa lahko nastanejo težave tudi pri računanju povprečne starosti. V skoraj vseh primerih je povprečna starost otrok s celiakijo nekje med enim in tremi leti in le majhno število oseb, diagnosticiranih v kasnejšem obdobju, bi tako povzročilo nesorazmeren dvig povprečne starosti. Še bolj zavajajoč rezultat pa bi dobili, če bi se v tem času hkrati znižalo število diagnosticiranih zgodaj, v obdobju od enega do treh let. Druga past pri interpretaciji rezultatov lahko nastane, kadar povzamemo, da je porast povprečne starosti ob diagnozi celiakije posledica napredka v načinu diagnosticiranja in ne, kot je tudi možno, padca incidence. Problem interpretacije predstavljajo tudi majhno število primerov in široki intervali zaupanja. V primeru 10 oseb, vključenih v raziskavo, nam 95 % interval zaupanja pove, da je možno število (pravo število) lahko tudi za polovico manjše ali pa skoraj dvakrat večje. Kljub temu imajo raziskave epidemiologije celiakije veliko prednost v primerjavi z drugimi, npr. raziskavami epidemiologije kronične vnetne črevesne bolezni. Imajo namreč to prednost, da ima celiakija jasno postavljene in objektivne diagnostične kriterije (15).

EPIDEMIOLOGIJA CELIAKIJ V EVROPI

Vse od leta 1950 so bile opravljene številne epidemiološke študije celiakije v otroški dobi. Rezultati študij se med seboj razlikujejo. Ena najstarejših objavljenih študij, iz leta 1950, je opisovala kumulativno incidenco za omenjeno obdobje za Anglijo in Wales 1/8.000, med-

tem ko je bila izračunana incidenca za Škotsko nižja, 1/4.000 (19). Diagnoza je v tem obdobju temeljila na prisotnosti tipične klinične simptomatike (kronična diareja, meteorizem, nenapredovanje), potrjena pa je bila z zapletenimi, velikokrat nespecifičnimi testi.

Zavedanje o obstoju bolezni je močno porastlo po letu 1960 s pojavom specifičnih testov za malabsorpcijo in dostopnostjo biopsije za otroke. Posledično so v tem času številne študije poročale o porastu kumulativne incidence celiakije, ki je v sredini 70. let dosegla vrh z vrednostmi 1/400–450. O tem so poročale raziskave iz Irske, Škotske in Švice (20–22). Ta porast kumulativne incidence je povzročil spremembe v prehranjevanju otrok, in to na podlagi hipoteze, da bi lahko kasnejša izpostavitve dojenčka glutenski prehrani preprečila začetek razvoja bolezni. Prvič po 25 letih so v Veliki Britaniji in na Irskem poročali o padcu kumulativne incidence (23, 24). Seveda je bil ta padec posledica kasnejšega izpostavljanja dojenčka glutenu in je bil zmoten. Kasnejše raziskave so namreč pokazale, da je zmanjšanju števila dojenčkov s tipično simptomatiko sledil porast števila atipičnih oblik celiakije, pri katerih so se simptomi pojavljali kasneje v otroštvu ali celo v odrasli dobi (25). Odkritje specifičnih protiteles pri bolnikih s celiakijo je omogočila manjšo invazivnost diagnostičnih postopkov, hkrati pa njihova visoka občutljivost in specifičnost ni zmanjšala zanesljivosti diagnostike celiakije. Prav tako je neinvazivnost seroloških testov omogočila širše raziskave, raziskave zdrave populacije. Ti presejalni testi so pokazali bolj homogeno razporeditev celiakije znotraj držav Evrope. Pokazali so tudi, da je celiakija ena najpogostejših kroničnih bolezni nasploh. Rezultati presejalne študije v Italiji, ki je zajela več kot 17.000 šolskih otrok, so ocenili prevalenco celiakije na 1/184 prebivalcev in razmerje med diagnosticiranimi in nediagnosticiranimi primeri celiakije na 1 : 7, kar pomeni, da ostane večina primerov s celiakijo neodkritih, če jih aktivno ne iščemo (26). Tako je v zadnjih letih postalo očitno, da primeri s klinično manifestno obliko celiakije predstavljajo le majhen delež celotne populacije s celiakijo.

EPIDEMIOLOGIJA CELIAKIJE V SLOVENIJI

Leta 1990 se je na 23. sestanku ESPGHAN v Amsterdamu oblikovala delovna skupina, ki je dobila nalogo, da izpelje multicentrično študijo o pogostosti prepoznavnih primerov celiakije v Evropi. Prvotni rezultati te študije so bili predstavljeni leto dni kasneje, na 24. sestanku ESPGHAN v Londonu, še eno leto kasneje pa so v Bruslju predstavili končne rezultate, ki so tudi objavljeni v knjigi Epidemiologija celiakije (27). V to multicentrično študijo je bil vključen tudi Univerzitetni klinični center (UKC) Maribor. Incidenca celiakije v severovzhodni (SV) Sloveniji je bila doslej analizirana za obdobje od leta 1975 do leta 1999. V obdobju od leta 1975 do leta 1989 je bil ugotovljen porast kumulativne incidence celiakije v otroški dobi od 0,65 do 1,73, medtem ko je bila starost otrok ob postavljeni diagnozi nižja od dveh let. Prevladovali so tipična klinična simptomatika, in sicer kronična driska, distendiran trebuh in nenapredovanje. V obdobju od leta 1989 do leta 1999 je bil ugotovljen še dodatni porast kumulativne incidence na 1,81. Prav tako je bil ugotovljen porast starosti ob diagnozi, medtem ko se najpomembnejši simptomi niso spremenili (28, 29). Naša raziskava je tako nadaljevanje multicentrične študije, ki se je začela leta 1990. V raziskavi smo želeli prikazati primerjavo naših rezultatov z rezultati prejšnjih raziskav kot tudi z rezultati raziskav v drugih evropskih državah, prav tako smo želeli prikazati rezultate diagnostičnih metod in genetske značilnosti bolnikov s celiakijo v severovzhodni Sloveniji.

NAMEN

Namen naše raziskave je bil oceniti kumulativno incidenco celiakije v otroški dobi v severovzhodni Sloveniji za obdobje od leta 1999 do leta 2009. Pri bolnikih, vključenih v raziskavo, smo želeli ugotoviti starost ob postavitvi diagnoze celiakije ter klinične značilnosti ob prvi prezentaciji bolezni. Želeli smo ugotoviti, ali se pri naših bolnikih pogosteje pojavlja tipična ali atipična oblika bolezni. Zanimalo nas je, ali je občutljivost seroloških testov slabša pri bolnikih z blažjo stopnjo atro-

fije sluznice ozkega črevesa. Poleg tega smo želeli ugotoviti, koliko naših bolnikov s spremembami ozkega črevesa, značilnimi za celiakijo, in s pozitivno serologijo, je nosilec za celiakijo značilnih zapisov za HLA-gene.

METODE

Zasnova raziskave

Raziskavo smo izvedli na Kliniki za pediatrijo UKC Maribor, na Odseku za gastroenterologijo in prehrano. Za raziskovalno obdobje od leta 1999 do leta 2009 smo s pomočjo Statističnega urada Republike Slovenije zbrali demografske podatke o številu prebivalcev za področje SV Slovenije. Podatke o številu živorojenih otrok med letoma 1999 in 2009 smo pridobili na Ginekološko-porodniškem oddelku Splošne bolnišnice Celje, Ginekološko-porodniškem oddelku Splošne bolnišnice dr. Jožeta Potrča Ptuj in v Rodnišnici Maribor.

V študijo SV Slovenije smo zajeli vse otroke, rojene na območju mariborske regije, ki zajema 2.169,6 km² in šteje 310.743 prebivalcev, ter območje celjske regije, ki zajema 2.383,9 km² in kjer živi 253.574 prebivalcev (29).

V raziskavo smo vključili vse bolnike s postavljeno diagnozo celiakije v zemljepisnem območju severovzhodne Slovenije. Vključitveni kriteriji za našo raziskavo so bili:

- rojen v SV Sloveniji med letoma 1999 in 2009,
- klinična slika,
- prisotnost seroloških označevalcev za celiakijo,
- biopsija sluznice tankega črevesja in prisotnost značilnih histoloških sprememb in
- celiakija, diagnosticirana med letoma 1999 in 2009.

Pri načrtovanju raziskave smo upoštevali načela Helsinške deklaracije o biomedicinskih raziskavah na človeku in načela slovenskega Kodeksa medicinske deontologije.

Klinične metode

Retrospektivno smo pregledali vso klinično dokumentacijo o poteku bolezni in pridobili podatke o kliničnih značilnostih pri posameznih bolnikih. Natančno smo opredelili vse

simptome in znake, ki so povezani s celiakijo. Zbirali smo podatke o glavnih oziroma vodilnih simptomih v začetku bolezni in starosti ob pojavu le-teh. Simptomi so bili razdeljeni v dve skupini: tipični (diareja, meteorizem, ponavljajoče se trebušne kolike, neješčnost, bruhanje, zaprtost, izguba podkožnega maščevja, zastoj v rasti, anemija) ter atipični (nizka rast, kožne spremembe, jetrne bolezni, bolezni ščitnice, pomanjkanje imunoglobulinov, brez simptomov). Anemijo smo definirali kot vrednost hemoglobina pod 110 g/l. Prav tako smo zbirali podatke o starosti ob prvi postavitvi diagnoze. V anamnestične podatke smo vključili podatke o družinski anamnezi ter pojavu avtoimunskih bolezni v družini.

Na Pediatrični kliniki UKC Maribor se biopsije ozkega črevesa opravlja od leta 1976, od takrat se tudi vodi vsakoletni seznam novo diagnosticiranih bolnikov. Tako so podatki vseh prvih sprejemov zaradi celiakije natančno registrirani in menimo, da nam je uspelo zajeti vse diagnosticirane primere celiakije.

Vsem preiskovancem smo odvzeli vzorec venske krvi za določevanje seroloških označevalcev za celiakijo (EMA, tTG) in določitev zapisa za HLA-DQ2 in HLA-DQ8, vsem preiskovancem smo opravili biopsijo sluznice ozkega črevesa.

Biopsija sluznice ozkega črevesa

Biopsijo sluznice ozkega črevesa smo opravili endoskopsko, odvzetih je bilo štiri do pet biopotov iz predela dvanajstnika. V večini tujih raziskav se uporablja klasifikacija po Marshu, ki spremembe črevesne sluznice pri celiakiji deli v štiri stopnje. Številni avtorji pa so mnenja, da je primernejša poenostavljena klasifikacija z manj stopnjami (4). Leta 2005 je bila predlagana klasifikacija, ki je določala tri stopnje sprememb sluznice tankega črevesa pri bolnikih s celiakijo (8). Te stopnje so delna, zmerna in popolna atrofijska. Leta 2007 je bila opravljena raziskava, kjer je šest strokovnjakov na področju patologije pregledalo 60 različnih vzorcev biopsije ozkega črevesa. Rezultati so pokazali, da je predlagana tristopenjska klasifikacija dala natančnejše rezultate, saj so se le-ti med strokovnjaki patologji veliko manj razlikovali kot pri klasifikaciji po Marshu. Histološke prepa-

rate smo tako ocenili po modificirani Marshevi klasifikaciji oz. klasifikaciji po Villana - ciju iz leta 2007 (31).

Laboratorijske metode

Za analizo prisotnosti serumskih protiteles smo uporabili svež ali zamrznjen serum. Analize smo izvedli na Oddelku za laboratorijsko diagnostiko UKC Maribor. Vzorce krvi, odvzete z venko punkcijo, smo najprej pustili koagulirati in jih nato centrifugirali pri 3.000 g. Pri vseh preiskovancih smo izključili morebitno pomanjkanje imunoglobulinov A.

Antiendomizijska protitelesa

Antiendomizijska protitelesa razreda IgA smo dokazovali z metodo indirektno imunofluorescence. V naši raziskavi smo uporabili preparat *Antiendomysium* (Eurospital, Trst, Italija), kjer smo kot antigensko osnovo uporabili distalni del opičjih požiralnikov.

Protitelesa proti tkivni transglutaminazi

Protitelesa proti tkivni transglutaminazi razreda IgA smo določali s pomočjo metode ELISA (angl. *enzyme linked immunosorbent assay*). V naši raziskavi smo protitelesa določali s komercialnim pripravkom Eu-tTG IgA® (Eurospital, Trst, Italija).

Genetske metode

Za analizo prisotnosti zapisa za HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 smo uporabili genomsko DNA, izolirano iz levkocitov periferne venske krvi. Preiskavo smo rutinsko izvajali v Laboratoriju za medicinsko genetiko UKC Maribor.

Za določanje prisotnosti zapisa za HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 smo uporabili metodo PCR. Preiskavo smo opravili s pomočjo komercialnega pripravka OLERUP DQ Low Resolution Kit® (GenoVision, QUIAGEN Vertriebs GmbH, Dunaj, Avstrija).

Statistične metode

Za statistično analizo posameznih dejavnikov smo izračunali porazdelitve v odstotkih za opisne spremenljivke in srednje vrednosti ter standardne odklone za numerične spremenljivke. Kumulativno incidenco, tj. število primerov celiakije na 1.000 živorojenih otrok,

smo izračunali za vsako kohorto rojstev v SV Sloveniji. Vplive posameznih dejavnikov na pojav bolezni smo analizirali na podlagi χ -kvadrat testa (Pearson). Statistično analizo smo izdelali s programskim paketom SPSS 15.0. P-vrednost pod 0,05 je predstavljala statistično pomembnost.

REZULTATI

V obdobju 1999–2009 se je v mariborski regiji rodilo 41.018 otrok, v celjski regiji smo zabeležili 20.640 rojstev. Kriterije za vključitev v našo raziskavo je izpolnjevalo 72 otrok, od tega 30 moških (41,7 %) in 42 žensk (58,3 %). Povprečna starost ob prvi diagnozi je večja od dveh let, znaša $2,54 \pm 2,02$ let. Ob postavitvi diagnoze je bilo 42 bolnikov starih ≤ 2 leti (58,3 %). Starost ob prvi diagnozi je višja pri ženskah kot pri moških (tabela 1).

Kumulativna incidenca

Kumulativna incidenca v mariborski regiji od leta 1999 do leta 2004 narašča, nato se ustali in leta 2009 znaša 1,02. Porast kumulativne incidence celiakije opazamo v opazovanem obdobju v celjski regiji, kjer leta 2009 znaša 1,46 (tabela 2, slika 1).

Klinična slika

Pri bolnikih s celiakijo v SV Sloveniji pogosteje opazamo tipično klinično sliko bolezni, ki je prisotna pri 58 % preiskovancev.

Tabela 1. Struktura preiskovancev s celiakijo po spolu in dopolnjena leta starosti ob prvi diagnozi od leta 1999 do 2009.

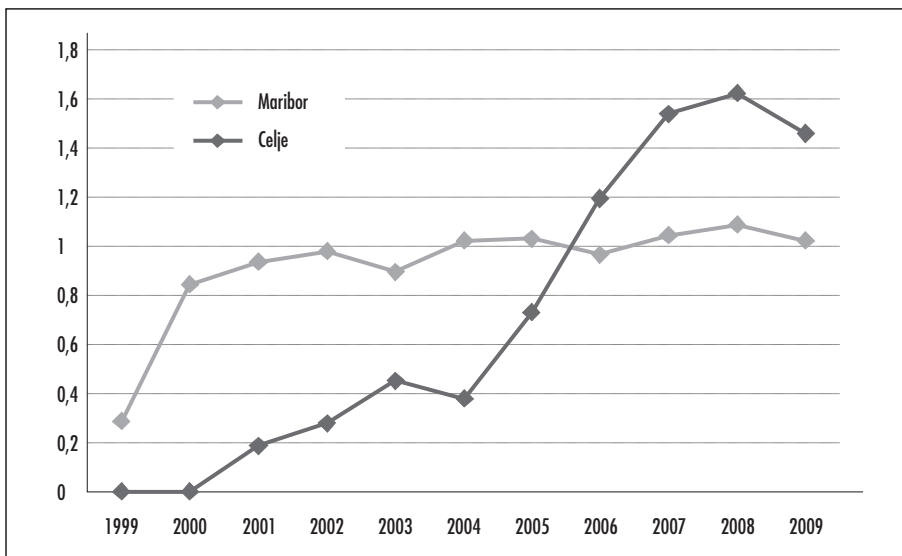
| Spol | Število | Starost ob prvi diagnozi (leta) |
|--------|---------|---------------------------------|
| Moški | 30 | $1,96 \pm 2,11$ |
| Ženske | 42 | $2,60 \pm 2,01$ |
| Skupno | 72 | $2,54 \pm 2,02$ |

Ob prvi postavitvi diagnoze so imeli naši preiskovanci najpogosteje težave zaradi trebušnih kolik (33 % preiskovancev), kronične driske (31 % preiskovancev), meteorizma (26 % preiskovancev), neješčnosti (19 % preiskovancev), zaprtosti (18 % preiskovancev) in zastoja v rasti (17 % preiskovancev), nekoliko redkeje so se pojavljali bruhanje, anemija. Pri nekaterih otrocih smo opazili atipično klinično sliko, sicer v manjšem odstotku. Nekaj preiskovancev je bilo ob postavitvi diagnoze brez težav, gre za družinske člane (tabela 3). Pri preiskovancih z atipično obliko smo opazili tudi rezistentno anemijo, kožne spremembe, nizko rast, boleznj ščitnice (slika 2).

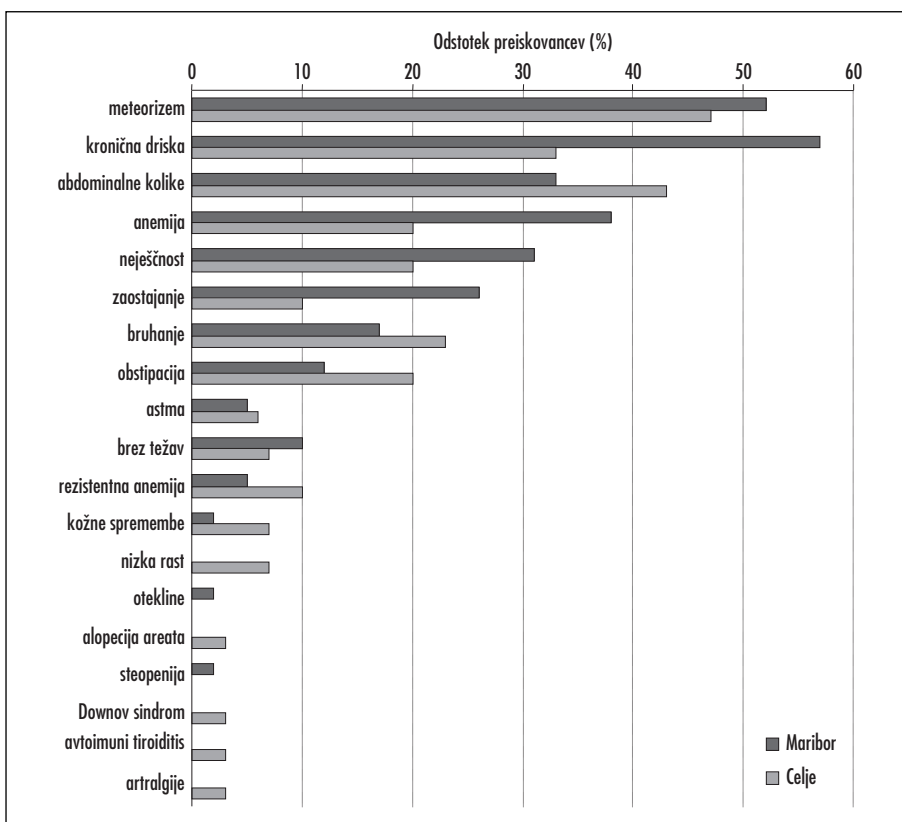
Klinična slika je pri bolnikih s celiakijo lahko zelo pestra. Polovica preiskovancev (50 %) je imela težave zaradi meteorizma. Pogosta težava je bila tudi kronična driska, ki je bila med preiskovanci iz mariborske regije prisotna pri 57 %, med preiskovanci iz celjske regije je bila prisotna pri 33 % bolnikov. Trebušne kolike je imelo 33 % preiskovancev iz mariborske in 43 % preiskovancev iz celjske regije.

Tabela 2. Kumulativna incidenca celiakije za kohorte rojstev v severovzhodni Sloveniji v letih 1999–2009. Leto – leto rojstva, ŽR – število živorojenih otrok, N – število otrok, pri katerih se je razvila celiakija, KIC – kumulativna incidenca celiakije.

| LETO | Maribor | | | Celje | | |
|------|---------|-------|------|-------|-------|------|
| | N | ŽR | KIC | N | ŽR | KIC |
| 1999 | 1 | 3.468 | 0,28 | 0 | 1.840 | 0 |
| 2000 | 5 | 3.634 | 0,84 | 0 | 1.815 | 0 |
| 2001 | 4 | 3.596 | 0,93 | 1 | 1.753 | 0,18 |
| 2002 | 4 | 3.596 | 0,98 | 1 | 1.817 | 0,28 |
| 2003 | 2 | 3.661 | 0,89 | 2 | 1.660 | 0,45 |
| 2004 | 6 | 3.619 | 1,02 | 0 | 1.719 | 0,37 |
| 2005 | 4 | 3.709 | 1,03 | 5 | 1.747 | 0,73 |
| 2006 | 2 | 3.731 | 0,96 | 8 | 1.918 | 1,19 |
| 2007 | 6 | 3.654 | 1,04 | 8 | 2.015 | 1,53 |
| 2008 | 6 | 4.184 | 1,09 | 5 | 2.237 | 1,62 |
| 2009 | 2 | 4.116 | 1,02 | 0 | 2.119 | 1,46 |



Slika 1. Kumulativna incidenca celiakije v mariborski in celjski regiji.



Slika 2. Klinična slika bolnikov s celiakijo v severovzhodni Sloveniji.

Tabela 3. Pogostost simptomov pri bolnikih s celiakijo ob postavitvi diagnoze.

| Simptomi | % |
|---------------------|----|
| trebušne kolike | 33 |
| kronična driska | 31 |
| meteorizem | 26 |
| neješčnost | 19 |
| zaprtost | 18 |
| zastoj v rasti | 17 |
| bruhanje | 17 |
| brez težav | 8 |
| rezistentna anemija | 6 |
| anemija | 3 |

30,5 % preiskovancev je imelo anemijo. Pri 26 % naših preiskovancev smo opazili neješčnost, z bruhanjem ali zaprtostjo je imelo težave 26 % preiskovancev. Zastoj v rasti smo opazili pri 19 % preiskovancev, rezistentno anemijo pri 7 % preiskovancev. Redkeje se je pojavljala astma (5,5 % preiskovancev), kožne spremembe (4 % preiskovancev) in nizka rast (3 % preiskovancev). Pri enem preiskovancu smo opazili otekline, prav tako je po en preiskovanec imel alopecijo areato, osteopenijo, artralgije, en preiskovanec pa je imel Downov sindrom in avtoimunski tiroiditis. Brez težav je bilo 8 % preiskovancev (slika 2).

Družinske anamneze so pri več kot polovici brez posebnosti. Pri 13 % preiskovancev je potrjena celiakija pri bližnjih sorodnikih (starši, sorojenci), pri 5,5 % preiskovancev je potrjena celiakija pri starih starših, bratrančih ali sestričnih. 14 % preiskovancev ima v ožjem sorodstvu bolnika z astmo ali znano alergijo. Mati enega preiskovanca ima ulcerozni kolitis, oče enega preiskovanca ima Crohnovo bolezen, stari starš enega preiskovanca ima multiplo sklerozo in en sladkorno bolezen tipa I.

Biopsija sluznice ozkega črevesa

Biopsijo sluznice ozkega črevesa smo opravili pri 69 bolnikih. Vsi preiskovanci so imeli vidne spremembe črevesa, značilne za celiakijo. Pri 54 preiskovancih (78 %) je bila prisotna popolna atrofija sluznice ozkega črevesa, 6 preiskovancev je imelo delno atrofijo in 9 preiskovancev zmerno atrofijo sluznice ozkega črevesa (slika 3).

Serološki testi

Test dokazovanja prisotnosti tTG smo opravili pri 70 od 72 bolnikov. Pri 66 preiskovancih (94,3 %) smo potrdili prisotnost protiteles proti tTG, pri štirih preiskovancih je bil test negativen. Vsi, pri katerih je bil test negativen, so bili mlajši od dveh let. Prisotnost EMA smo dokazovali pri vseh 72 preiskovancih. Pozitivne rezultate smo dobili pri 65 preiskovancih (90,3 %). Pri 7 preiskovancih so bili testi negativni, od tega je bilo pet preiskovancev z negativnim testom mlajših od dveh let. Protitelesa EMA razreda IgA so bila značilno pogosteje povišana pri preiskovancih, pri katerih je bila prisotna popolna atrofija sluznice ozkega črevesa ($p = 0,015$). Vrednosti protiteles tTG razreda IgA niso bile značilno višje pri preiskovancih, pri katerih je bila prisotna popolna atrofija sluznice ozkega črevesa ($p > 0,05$).

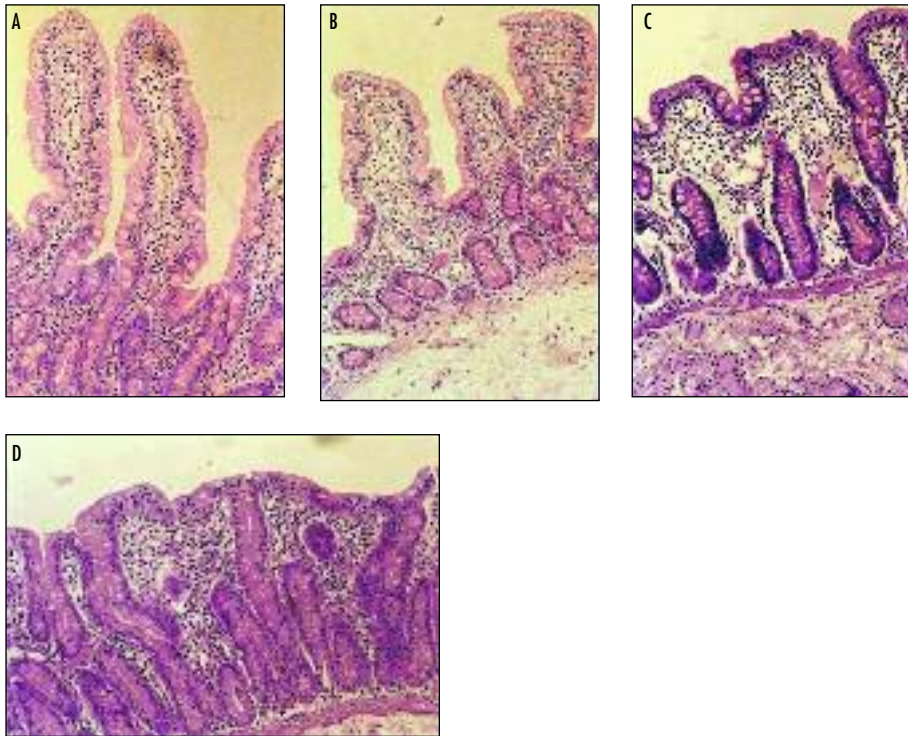
Genetski testi

64 bolnikov (93 %) nosi zapis za HLA-DQ2, od tega jih je 7 nosilcev zapisa za HLA-DQ2 in tudi zapisa za HLA-DQ8. Vseh pet preiskovancev, pri katerih so bili genetski testi za ta zapis negativni, je nosilcev drugega značilnega zapisa za celiakijo HLA-DQ8 (tabela 4).

Med preiskovanci, pri katerih je bila prisotna popolna atrofija sluznice ozkega črevesa, in med preiskovanci z zmerno oz. delno atrofijo sluznice ozkega črevesa ni bilo zna-

Tabela 4. Prisotnost za celiakijo značilnih zapisov pri naših bolnikih s celiakijo. DQ2 in DQ8 – molekuli iz skupine humanih levkocitnih antigenov.

| | DQ2 pozitivni DQ8 negativni | DQ2 negativni DQ8 pozitivni | DQ2 pozitivni DQ8 pozitivni | DQ2 negativni DQ8 negativni |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Število bolnikov | 57 | 5 | 7 | 0 |
| % bolnikov | 83 | 7 | 10 | 0 |



Slika 3. Stopnje atrofije sluznice ozkega črevesa. A – normalna sluznica, B – delna atrofija sluznice ozkega črevesa, C – zmerna atrofija sluznice ozkega črevesa, D – popolna atrofija sluznice ozkega črevesa (4).

čilnih razlik v prisotnosti zapisa za HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 ($p = 0,072$).

Med skupino preiskovancev z zapisom za HLA-DQ2 in skupino preiskovancev z zapisom za HLA-DQ8 ni bilo značilnih razlik v vrednosti protiteles EMA-razreda IgA ($p > 0,05$). Prav tako ni bilo značilnih razlik med skupino preiskovancev z zapisom za HLA-DQ2 in skupino preiskovancev z zapisom za HLA-DQ8 v vrednosti protiteles tTG-razreda IgA ($p > 0,05$).

RAZPRAVA

V raziskavo smo vključili vse bolnike s postavljenimi diagnozo celiakije v zemljepisnem območju SV Slovenije, ki so izpolnjevali naše vključitvene kriterije. Skupno smo na Kliniki za pediatrijo UKC Maribor odkrili 72 bolnikov, ki so omenjene vključitvene kriterije izpolnjevali. Povprečna starost naših bolnikov ob prvi diagnozi je višja od dveh let. V opravljeni raziskavi v osemdesetih letih 20. stolet-

ja je bila starost otrok ob postavljeni diagnozi v SV Sloveniji nižja od dveh let, v obdobju od leta 1989 do leta 1999 pa je bil ugotovljen porast starosti ob diagnozi nad dve leti (27–29). V SV Sloveniji se povprečna starost ob postavitvi diagnoze v zadnjih dvajsetih letih ni preveč spremenila, ostaja višja od dveh let (znaša 2,54 let). Do podobnih rezultatov prihajajo tudi drugod po Evropi. Zanimiva so poročila s Finske, kjer so ugotovili, da je bilo v šestdesetih letih 20. stoletja 80–90% vseh novoodkritih primerov celiakije pred drugim letom starosti, v osemdesetih pa je bilo prav nasprotno: novoodkritih bolnikov s celiakijo, starih do dveh let, so ugotovili le 7%, med drugim in sedmim letom starosti 32%, kar 66% pa je bilo ugotovljenih v starosti nad sedem let (32). Tudi na Švedskem opažajo velik porast povprečne starosti ob postavitvi diagnoze; v sedemdesetih in osemdesetih letih 20. stoletja je bila povprečna starost novoodkritih primerov 1,1 leto, leta 1997

pa kar 3,7 leta (33). V Španiji porast povprečne starosti ob diagnozi ni tako velik, v osemdesetih letih 20. stoletja je bila povprečna starost 3,11 let, v devetdesetih letih pa 3,66 let (34).

V eni od prvih epidemioloških študij celiakije v Evropi so prikazani podatki o incidenci celiakije, ki je bila v Angliji in Walesu 1/8.000 in na Škotskem 1/4.000 (18). Diagnoza je takrat temeljila na prisotnosti tipične klinične simptomatike in laboratorijskih metodah za dokazovanje malabsorpcije. Uporaba peroralne biopsije ozke črevesa in kasneje kriterijev združenja ESPGHAN za diagnosticiranje celiakije je pomembno vplivala na kumulativno incidenco celiakije, ki je do sredine 70. let značilno narasla, najvišjo incidenco so ugotavljali na Irskem (1/514) in v Avstriji (1/419) (20, 35). Temu je sledil padec incidence, padajoč trend je bil najbolj izrazit v Veliki Britaniji in na Irskem (23, 24). V 80. letih je bil padec ugotovljen tudi v Nemčiji, na Madžarskem, v Španiji in na Portugalskem (36). Na Finskem so ugotavljali upad incidence pri otrocih, mlajših od dveh let, ter porast incidence kasneje v otroštvu (37). Na Švedskem je kumulativna incidenca celiakije sredi 80. let narasla z 1/1.000 na 1/250 le v nekaj letih, nato pa sredi 90. let padla na 1,7/1.000 (33). Kumulativna incidenca celiakije v severovzhodni Sloveniji je bila doslej analizirana za obdobje od leta 1975 do leta 1998. Leta 1975 je znašala 1/2.000, nato opazujemo porast kumulativne incidence na 1/780 otrok leta 1989, ter še dodaten porast na 1/550 otrok leta 1998 v Mariboru oziroma 1/750 v Celju (27-29).

V Mariboru kumulativna incidenca celiakije leta 2009 znaša 1/980 otrok, v Celju 1/680 otrok. Kumulativna incidenca celiakije v SV Sloveniji se je tako ustalila, saj so vrednosti v celjski regiji ostale skoraj enake, medtem ko v mariborski regiji opazamo celo blag upad kumulativne incidence. Rezultati naše raziskave kažejo, da tudi Slovenija sledi trendu upadanja kumulativne incidence, ki je bil v drugih deželah Evrope opazen konec 20. stoletja. Vzrok, zakaj je ta trend v Sloveniji opazen toliko pozneje, ni znan. Nekaj lahko prispeva heterogenost razporeditve celiakije znotraj držav Evrope. Prehrana otrok se v analiziranem obdobju ni bistveno spreminjala. Od leta 1985 v Sloveniji priporočamo uvajanje žitaric v prehrano otrok po

šestem mesecu starosti, s promocijo dojenja in UNICEF-ovim projektom Novorojenčkom prijazne bolnišnice pa je trend dojenja v Sloveniji v stalnem porastu in vse več je otrok, ki so dojeni več kot šest mesecev (28, 29). Morda je doktrina o prehrani dojenčka potrebovala dalj časa, da jo je širša javnost sprejela in bomo tudi v Sloveniji v prihodnosti zaradi kasnejšega uvajanja glutena v prehrano otrok pričala porastu incidence celiakije pri starejših otrocih in v odrasli dobi.

Odkritje specifičnih protiteles pri bolnikih s celiakijo je omogočilo manjšo invazivnost diagnostičnih postopkov ter širše raziskave, presejanje zdrave populacije. Rezultati presejalne študije v Italiji so ocenili razmerje med diagnosticiranimi in nediagnosticiranimi na 1 : 5 do 1 : 13, prevalenco celiakije pa na 1/184 prebivalcev (26). Če predvidevamo, da je tudi v Sloveniji razmerje med diagnosticiranimi in nediagnosticiranimi bolniki podobno, lahko ocenimo prevalenco celiakije v Sloveniji na 1/140-100, kar je primerljivo s podatki iz drugih držav (38-40). Pri bolnikih s celiakijo v SV Sloveniji pogosteje opazamo tipično klinično sliko bolezni s kronično drisko, distendiranim trebuhom, izgubo teže in nenapredovanjem, ki je ob prvi prezentaciji bolezni prisotna pri 58 % otrok. Podobni rezultati prihajajo tudi iz nekaterih evropskih držav (Španija, Švedska in Nizozemska), medtem ko iz drugih držav poročajo o pogostejšem pojavljanju atipične klinične slike v zadnjih letih (34, 41, 42). V Sloveniji so v obdobju od leta 1975 do 1989 prevladovali klasični simptomi, kar se tudi v obdobju od leta 1989 do 1998 ni spremenilo (27-29). Prevladovanje tipične klinične slike pri nas lahko morda pripišemo slabšemu prepoznavanju atipičnih oblik bolezni na primarnem nivoju, kjer pediatri bolnike s tipičnimi simptomi prepoznajo, bolnike z atipično celiakijo, pri katerih so prisotni ekstraintestinalni simptomi, pa spregledajo.

Vsi bolniki, pri katerih smo biopsijo opravili, so imeli vidne spremembe črevesa, značilne za celiakijo. Kar pri 54 bolnikih (78 %) je bila prisotna popolna atrofija sluznice ozkega črevesa.

V serumu bolnikov s celiakijo lahko odkrijemo prisotnost različnih protiteles, ki jih imenujemo serološki označevalci celiakije.

Dandanes so v diagnostiki celiakije najpomembnejša protitelesa tTG (4). V veliki večini se pri bolnikih s celiakijo še določa EMA-protitelesa, je pa zadnje tri do štiri leta opaziti tendenco k opuščanju rutinskega določanja EMA-protiteles. Vzrokov za to je več, med njimi so predvsem visoka cena, časovno zahtevni protokoli določanja prisotnosti protiteles, ki so tako neprimerni za uporabo v presejalnih študijah, in pa slaba občutljivost pri bolnikih s celiakijo, mlajših od dveh let (43).

Naši rezultati so potrdili pomembno diagnostično vrednost seroloških testov pri bolnikih s celiakijo. Na podlagi rezultatov pri naših bolnikih lahko vidimo, da sta testa za določanje prisotnosti t-TG-protiteles in EMA-protiteles pri starejših od dveh let zelo občutljiva in specifična. Razvidna pa je slabša občutljivost za določanje EMA- in tudi t-TG-protiteles pri otrocih, mlajših od dveh let. Leta 2008 so v Italiji izvedli raziskavo s 359 otroki, od tega jih je bilo 100 mlajših od dveh let. Pri vseh je bila diagnoza postavljena na podlagi za celiakijo značilnih sprememb sluznice ozkega črevesa in izboljšanja klinične simptomatike po uvedbi brezglutenske diete. Rezultati seroloških testov pa so pokazali nekoliko slabšo občutljivost pri določanju protiteles EMA in tTG pri mlajših od dveh let v primerjavi z otroki, starimi dve leti ali več (44).

Rezultati primerjav med stopnjo atrofije sluznice ozkega črevesa in prisotnostjo pozitivnih seroloških označevalcev niso v celoti potrdili naših domnev, da je občutljivost seroloških testov slabša pri bolnikih z blažjo stopnjo atrofije sluznice ozkega črevesa. Protitelesa EMA so bila značilno pogostejše povisšana pri otrocih, pri katerih je bila prisotna popolna atrofija sluznice ozkega črevesa, medtem ko vrednosti protiteles tTG ne.

Domnevo smo postavili na podlagi preteklih raziskav, ki so potrdile slabšo občutljivost seroloških testov pri bolnikih z blažjimi spremembami sluznice ozkega črevesa, tako pri določanju EMA- kot tudi tTG-protiteles (45, 46). Naši rezultati se v primeru določanja EMA-protiteles ujemajo z nekaterimi raziskavami, opravljenimi v tujini. Rezultati primerjav med stopnjo atrofije sluznice ozkega črevesa in prisotnostjo tTG-protiteles pa v našem primeru kažejo visoko negativno napovedno vrednost in tudi možno diagno-

stično pomembnost tega serološkega testa ter so tako v nasprotju z nekaterimi objavljenimi raziskavami. Le-te zagovarjajo biopsijo sluznice ozkega črevesa kot zlati standard v diagnostiki celiakije, saj je dobro znano, da občutljivost in specifičnost seroloških testov nista zagotovi. Z negativnimi serološkimi testi tako ne moremo zanesljivo ovreči diagnoze celiakije. Pri bolnikih s sumljivo klinično simptomatiko je še vedno treba opraviti biopsijo sluznice ozkega črevesa (47). Spet druge raziskave pa se ujemajo z našimi izsledki in hkrati poudarjajo manj pomembno vlogo biopsije sluznice ozkega črevesa v diagnostiki celiakije. Znano je namreč, da obstajajo številni bolniki s celiakijo, pri katerih se od glutena odvisni simptomi in protitelesa, značilna za celiakijo, pojavijo še pred razvojem atrofičnih sprememb sluznice ozkega črevesa (48).

Razvoj in napredki molekularne biologije so močno pripomogli k prepoznavi genetske podlage bolezni. Zelo dobro je poznana povezava z nekaterimi HLA-aleli. Številne študije so dokazale, da je več kot 90 % bolnikov nosilcev alelov HLA-DQ2, v primerjavi z zdravimi kontrolami, pri katerih je ta zapis prisoten le v 20–30 % (49). Večina preostalih bolnikov pa je nosilec zapisa HLA-DQ8. Zaradi močne povezave med prisotnostjo omenjenih HLA-alelov in diagnozo celiakije je določanje teh alelov v diagnostiki celiakije izrednega pomena (7). Tudi v naši raziskavi smo pri bolnikih določali prisotnost značilnih zapisov za celiakijo. Kar 93 % naših bolnikov je nosilec zapisa HLA-DQ2, 7 % bolnikov, pri katerih so bili genetski testi za ta zapis negativni, pa je nosilec drugega značilnega zapisa za celiakijo, HLA-DQ8. Ker pa nosi zapis HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 zapis več kot 30 % celotne populacije v zahodni Evropi in tudi v Sloveniji, ima metoda v diagnostiki celiakije izredni pomen predvsem zaradi visoke negativne napovedne vrednosti (7).

Navkljub napredkom v diagnostiki celiakije in navkljub ugotovitvam, ki smo jih dokazali tudi v naši raziskavi, da imajo tako serološki kot tudi genetski testi v diagnostiki celiakije pomembno vlogo, ostaja biopsija sluznice še vedno zlati standard v diagnostiki. Negativni serološki testi nas tako ne smejo odvrniti od izvedbe biopsije ozkega črevesa pri bolni-

ku, pri katerem je postavljen sum na celiakijo na podlagi klinične simptomatike.

Številne raziskave so potrdile, da je za diagnozo celiakije pri bolnikih, pri katerih obstaja klinični sum za obstoj te bolezni, zadostna določitev EMA- ali tTG-protiteles, ki ji sledi potrditev z opravljeno biopsijo sluznice ozkega črevesa, primeren, učinkovit, zadosten in ekonomsko sprejemljiv način diagnosticiranja, tudi na primarni ravni. Dobro bi bilo tudi, da bi se pri bolnikih s stanji, ki so pogosto povezana z razvojem celiakije, izvedla presejalna testiranja. Ta stanja so: sorodniki v prvem kolenu, dermatitis herpetiformis, nepojasnjena sideropenična anemija, avtoimunski tiroiditis, sladkorna bolezen tipa 1, hipoplazija zobne sklenine, avtoimuni hepatitis, patološki jetrni testi, nizka rast, zaostala puberteta, Downov sindrom in nepojasnjena osteoporozna (47). Ta presejalna testiranja so vsekakor bolj priporočljiva od masovnih presejalnih testiranj zdrave populacije, četudi celiakija zadostuje pogojem presejalnih testiranj vsaj iz naslednjih razlogov: gre za zelo pogosto bolezen, obstajajo razmeroma enostavni, dostopni in natančni testi za potrditev diagnoze, zdravljenje bolezni je poznano in učinkovito, breme zapletov, ki nastanejo pri nezdravljeni celiakiji, je veliko. Kljub vsemu temu pa so še vedno neznani učinkovitost, dostopnost in stroški masovnih testiranj. Poleg tega pa tudi ni dokazov, da bi ta masovna testiranja zmanjšala morbiditeto in mortaliteto (47).

V nalogi smo se osredotočili na SV del Slovenije. Podatki iz drugih slovenskih regij so zelo skopi, zaradi česar naših podatkov nimamo s čim primerjati, prav tako pa ne moremo

posplošiti rezultatov na vso državo. Šibka točka naše raziskave je tudi to, da nimamo kohorte zdravih preiskovancev, s katerimi bi lahko dobljene rezultate primerjali.

V prihodnosti bi bilo dobro razširiti raziskavo na področje celotne Slovenije. Zanimivo bi bilo opazovati, ali obstajajo v pojavnosti bolezni razlike med posameznimi regijami. Prav tako bi bilo v bodoče raziskave dobro vključiti tudi starejšo populacijo. Dobro je namreč znano, da se veliko primerov celiakije diagnosticira šele v pozni starosti. S tem bi pridobili natančnejše podatke o dejanski pogostosti bolezni na naših tleh. Zanimive so tudi študije na področju genetike, ki so odkrile veliko drugih ne-HLA-genov, vpletenih v patogenezo celiakije. Razširjene raziskave na področju genetike bi lahko tudi na naših tleh pripomogle k boljšemu poznavanju mehanizmov same bolezni, k poznavanju etiopatogeneze celiakije, in morebiti tudi k odkritju novih načinov zdravljenja.

ZAKLJUČEK

Kumulativna incidenca celiakije v Sloveniji se je ustalila, še več, opazamo celo blag trend upadanja kumulativne incidence v mariborski regiji. Prav tako smo ugotovili, da je pri bolnikih s celiakijo v severovzhodni Sloveniji še vedno pogostejše prisotna tipična klinična slika bolezni s kronično drisko, distendiranim trebuhom in nenapredovanjem. Rezultati seroloških testov kažejo, da je občutljivost seroloških testov slabša pri bolnikih z blažjo stopnjo atrofije sluznice ozkega črevesa. Genetske analize kažejo, da je večina bolnikov nosilcev zapisa za HLA-DQ2.

LITERATURA

1. Schuppan D, Yvonne J, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*. 2009; 137 (6): 1912-33.
2. Greco L, Romino R, Coto J, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut*. 2002; 50 (5): 624-8.
3. Dolinšek J, Urlep D, Karell K, et al. The prevalence of coeliac disease among family members of celiac disease patients. *Wien Klin Wochenschr*. 2004; 116 Suppl 2: 8-12.
4. Dolinšek J, Urlep-Žužej D, Mičetič-Turk D. Sodobni principi diagnostike celiakije. *Zdrav Vestn*. 2006; 75: 89-97.

5. Sollid ML, Lie AB. Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005; 3 (9): 843-51.
6. van Heel DA, Hunt K, Greco L, et al. Genetics in coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005; 19 (3): 323-39.
7. Marsh MN. The mucosal pathology of gluten sensitivity. In: Marsh MN, ed. *Coeliac disease.* Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1992. p. 136-91.
8. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *J Clin Pathol.* 2005; 58 (6): 573-4.
9. Revised criteria for the diagnosis of celiac disease (CD). Proposed by the ESPGHAN [internet]. *Medicalcriteria.com*; c2005-2009 [citirano 2009 Feb 24]. Dosegljivo na: www.medicalcriteria.com
10. Chorzelski TP, Beutner EA, Sulej J, et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol.* 1984; 111 (4): 395-402.
11. Dietrich W, Ehnis T, Bauer M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. *Nat Med.* 1997; 3 (7): 797-801.
12. Nejad RM, Rostami K, et al. Atypical presentation is dominant and typical for coeliac disease. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2009; 18 (3): 285-91.
13. Mustalahti K, Lohiniemi S, Collin P, et al. Gluten-free diet and quality of life in patients with screen-detected coeliac disease. *Eff Clin Pract.* 2002; 5: 105-13.
14. Zaletel-Kragelj L, Eržen I, Premik M. Proučevanje zdravja prebivalstva. In: Zaletel-Kragelj L, Eržen I, Premik M, eds. *Uvod v javno zdravje.* Ljubljana: Medicinska fakulteta, Katedra za javno zdravje; 2007. p. 108-67.
15. Logan RFA. Problems and pitfalls in epidemiological studies of coeliac disease. In: Auricchio S, Visakorpi JK, et al. *Common food intolerances 1: Epidemiology of coeliac disease.* Basel: Karger; 1992. p. 25-44.
16. Swinson CM, Levi AJ. Is coeliac disease underdiagnosed? *Br Med J.* 1980; 281 (625): 1258-60.
17. Logan RFA, Tucker G, Rifkind EA, et al. Changes in clinical features of coeliac disease in adults in Edinburgh and the Lothians 1960-1979. *Br Med J.* 1981; 286 (6359): 95-7.
18. Szabo IRK, Szabados K, Pusztai J, et al. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *Br Med J.* 2007; 335 (7632): 1244-7.
19. Davidson LS, Fountain JR. Incidence of sprue syndrome; with some observation on the natural history. *Br Med J.* 1950; 1 (4663): 1157-61.
20. Myolette M, Egan-Mitchell B, McCarthy CF, et al. Incidence of coeliac disease in the West of Ireland. *Br Med J.* 1973; 1 (5855): 703-5.
21. Logan RF, Rifkind EA, Busuttill A, et al. Prevalence and incidence of coeliac disease in Edinburgh and the Lothian region of Scotland. *Gastroenterology.* 1986; 90 (2): 334-42.
22. van Stirum J, Baerlocher K, Fanconi A, et al. The incidence of coeliac disease in children in Switzerland. *Helv Paediatr Acta.* 1982; 37 (5): 421-30.
23. Littlewood JM, Crollick AJ, Richards IDG. Childhood coeliac disease is disappearing. *Lancet.* 1980; 2 (8208-9): 1359-60.
24. Dossetor JF, Gibson AA, McNeish AS. Childhood coeliac disease is disappearing. *Lancet.* 1981; 1 (8215): 322-3.
25. Stevens FM, Egan-Mitchell B, Cryan E, et al. Decreasing incidence of coeliac disease. *Arch Dis Child.* 1987; 62 (5): 465-8.
26. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta paediatr Suppl.* 1996; 412: 29-35.
27. Mičetič-Turk D. Epidemiologija celiakije v severovzhodni Sloveniji in drugih delih Evrope. *Slov Pediatr.* 1994; 1: 30-3.
28. Mičetič-Turk D, Kos M, Miksič, et al. Celiakija v otroški dobi: letno poročilo raziskovalnega projekta v letu 1997. Maribor, Ljubljana: Splošna bolnišnica Maribor in Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije; 1997.
29. Mičetič-Turk D, Kos M, Miksič, et al. Celiakija v otroški dobi: Letno poročilo raziskovalnega projekta v letu 1998. Maribor, Ljubljana: Splošna bolnišnica Maribor in Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije; 1998.
30. Spremljanje in presoja prostorskih vplivov sektorskih politik [internet]. Ljubljana: Projekt CRP V5-0310 2006-2008; [citirano 2010 Feb 19]. Dosegljivo na: <http://tia.uirs.si/regije.asp>
31. Corazza GR, Villanacci V, Zambell C, et al. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007; 5 (7): 838-43.
32. Mäki M. Changing features of coeliac disease. In: Lohenemi S, Collin P, Maki M, eds. *Changing features of coeliac disease.* Tampere. 1998: 1-6.
33. Ivarsson A, Persson LA, Nyström L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr.* 2000; 89 (2): 165-71.
34. Lopez-Rodriguez MJ, Canal Macias ML, Lavado Garcia JM, et al. Epidemiological changes in diagnosed coeliac disease in a population of Spanish children. *Acta Paediatr.* 2003; 92 (2): 165-9.
35. Rossipal E. On the incidence of coeliac disease in Austria. A study comprising a nine year period. In: McConnell RB, ed. *The genetic of coeliac disease.* Lancaster: MTP Press; 1981. p. 23-7.

36. Cerf-Bensussan N, Cellier C, Heyman M, et al. Coeliac disease: An update on facts and questions based on the 10th International symposium on coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003; 37 (4): 412–21.
37. Mäki M, Holm K. Incidence and prevalence of coeliac disease in Tampere: coeliac disease is not disappearing. *Acta Paediatr Scand.* 1990; 79 (10): 980–2.
38. Gee SJ. On the coeliac affection. *St Bart Hosp Rep.* 1888; 24: 17–20.
39. Mäki M. Changing features of coeliac disease. In: Changing features of coeliac disease. Tampere. 1998: 1–6.
40. Greco L, Mäki M, Di Donato F, et al. Epidemiology of coeliac disease in Europe and the Mediterranean area. In: Auricchio S, Visakorpi JK, eds. *Common food intolerances 1: Epidemiology of coeliac disease.* Basel: Karger; 1992. p. 25–44.
41. Ascher H, Krantz I, Kristiansson B. Increasing incidence of coeliac disease in Sweden. *Arch Dis Child.* 1991; 66 (5): 608–11.
42. Hill I, Bhatnager S, Cameron DJS, et al. Working group on coeliac disease. In: Report of the working groups 2000. World congress of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition; 2000 Aug 5–9; Boston, Massachusetts, USA. p. 31–47.
43. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology.* 2001; 120 (3): 636–51.
44. Tosco A, Maglio M, Paparo F. Anti-gliadin, anti-endomysium and antitissue transglutaminase antibodies in the serum of celiac children younger than two years. *Dig Liver Dis.* 2008; 40: A64.
45. Rostom A, Dube C, Cranney A, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease. A systematic review. *Gastroenterology.* 2005; 128 (4 Suppl 1): S38–46.
46. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, et al. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol.* 2004; 94 (4): 888–94.
47. Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet.* 2009; 373 (9673): 1480–93.
48. Auricchio R, Granata V, Borrelli M, et al. Italian paediatricians approach to coeliac disease diagnosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009; 49 (3): 374–6.
49. Gudjónsdóttir AH, Nilsson S, Nalvai TA, et al. Association between genotypes and phenotypes in coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009; 49 (2): 165–9.

Prispelo 15. 7. 2010