

**UNIVERZITA VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA A FARMÁCIE
V KOŠICIACH**

DIAGNOSTIKA CELIAKIE

Diplomová práca

Študijný program: farmácia

Študijný odbor: farmácia

Pracovisko (katedra/ústav): Katedra chémie, biochémie a biofyziky

Školiteľ záverečnej práce: RNDr. Marcela Valko-Rokytovská, PhD.

Konzultant: RNDr. Aneta Salayová, PhD.

Košice 2020

Martina Azariová



Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno a priezvisko autora: Martina Azariová
Študijný program: farmácia (Jednoodborové štúdium, magisterský I.II. st., denná forma)
Typ záverečnej práce: Diplomová práca - I. a II. stupeň
Jazyk záverečnej práce: slovenský

Názov záverečnej práce:

Diagnostika celiakie

Názov v sekundárnom jazyku:

Diagnostics of celiac disease

Anotácia:

Spracovať literárny prehľad o možnostiach diagnostiky celiakie a reálne výsledky pacientov z praktickej ambulancie štatisticky vyhodnotiť.

Školiteľ: RNDr. Marcela Valko-Rokytovská, PhD.

Konzultant: RNDr. Aneta Salayová, PhD.

Školiace pracovisko: ÚBioCh - Ústav biochémie

Vedúci pracoviska: Doc. MVDr. Zuzana Kostecká, PhD.

Dátum schválenia: 28.09.2018

podpis školiteľa záverečnej práce

podpis študenta

PodĎakovanie

Srdečne ďakujem mojej školiteľke **RNDr. Marcele Valko-Rokytovskej, PhD.** za odborné vedenie, metodickú pomoc a cenné rady pri vypracovaní mojej diplomovej práce. Zároveň ďakujem **MUDr. Etele Sokolovej** za poskytnutie materiálov pre praktickú časť mojej práce a rovnako ďakujem všetkým dobrovoľníkom za ich ochotu a spoluprácu.

Abstrakt

Celiakia je multifaktorové, chronické, zápalové, autoimunitné ochorenie prejavujúce sa širokou škálou symptómov. Vyskytuje sa v rôznych formách a viaceré z nich nedisponujú anamnézou charakteristickou pre klasickú celiakiu. Z toho dôvodu je dôležitá včasná a komplexná diagnostika.

V diplomovej práci boli vytýčené tri ciele. Prvým cieľom diplomovej práce bolo zostaviť a štatisticky vyhodnotiť súbor výsledkov krvných testov pacientov s celiakiou. Výsledky poukázali, že viaceré významné a vysoko špecifické parametre, ako napríklad vitamíny skupiny B alebo protilátky proti endomýziu, na Slovensku nie sú zaradené do štandardnej diagnostiky. Z protilátok sa stanovujú najmä protilátky proti gliadínu pre triedu IgG, IgA a protilátky proti tkanivovej *transglutamináze* pre triedu IgA. Významné a smerodajné parametre v diagnostike celiakie predstavujú aj pečňové *transaminázy alanínaminotransferáza* a *aspartátaminotransferáza*, rovnako aj šírka distribúcie červených krviniek, objem červených krviniek, hemoglobín a železo. Druhým cieľom práce bolo štúdium metabolického profilu moču pacientov s celiakiou na základe kvalitatívneho a kvantitatívneho stanovenia kyseliny močovej, tryptofánu a jeho vybraných metabolitov, tyrozínových metabolitov pomocou metódy UHPLC, ako jednou z možností neinvazívnej diagnostiky. Výsledky poukázali na signifikantne zvýšené koncentrácie tyrozínových metabolitov kyseliny homogentisovej a kyseliny 3,4-dihydroxyfenylactovej ($p < 0,001$), zvýšené vylučovanie kyseliny kynurénovej ($p < 0,01$) a kyseliny močovej ($p < 0,001$) v moči celiatikov v porovnaní s kontrolnou skupinou. Tretím cieľom práce bolo prostredníctvom dotazníkovej metódy zistiť reálne prejavy celiakie, diagnostické postupy na Slovensku a poskytnúť tak komplexný pohľad na diagnostiku z pohľadu pacienta.

V tejto štúdií sme poukázali na význam, smerodajnosť a frekvenciu stanovenia jednotlivých krvných parametrov pri celiakii, a tiež na možnosť využitia UHPLC analýzy ako neinvazívnej metódy pri diagnostike celiakie. Analýza výsledkov dotazníka poskytla komplexný pohľad na reálnu diagnostiku celiakie na Slovensku, na jej symptómy z pohľadu pacienta a rovnako vytvorili profil pacienta pred a počas diagnostiky celiakie.

Kľúčové slová: celiakia, diagnostika, krv, moč, metabolomika, UHPLC, dotazník

Abstract

Celiac disease is multifactorial, chronic, inflammatory autoimmune disease manifested by wide range of symptoms. It occurs in various forms, and many of them do not have symptoms typical for classic form of celiac disease. Therefore, early and comprehensive diagnosis is important.

Three goals were set in the thesis. The first aim of the thesis was to compile a set of results of blood tests of patients with celiac disease and to evaluate them statistically. The results showed that several important and highly specific parameters, such as B-group vitamins or endomysium antibodies, are not included in standard diagnostics in Slovakia. Among the antibodies, antibodies against gliadin for the IgG and IgA class and antibodies against tissue *transglutaminase* for the IgA class are determined in particular. Liver transaminases *alanineaminotransferase* and *aspartateaminotransferase*, as well as the distribution of red blood cells, red blood cell volume, hemoglobin and iron, have also proved to be important and guiding parameters. The second aim of the study was the urinary metabolomic profile of celiac patients based on qualitative and quantitative determination of uric acid, tryptophan and its selected metabolites and tyrosine metabolites using ultra-high-performance liquid chromatography as one of the non-invasive diagnostics. The results showed significantly increased concentrations of tyrosine metabolites of homogentisic acid and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid ($p < 0.001$), increased excretion of kynurenic acid ($p < 0.01$) and uric acid ($p < 0.001$) in urine of celiac patients compared to the control group. The third aim of the thesis was to find out the real manifestations of celiac disease, diagnostic methods in Slovakia and to provide a comprehensive view of the diagnosis from the patient's point of view.

In this study we pointed out the importance, dependency and frequency of individual blood parameter determination in celiac disease, as well as the possibility of using UHPLC analysis as a non-invasive method in the diagnosis of celiac disease. The results of the questionnaire provided a comprehensive view of the real diagnosis of celiac disease in Slovakia, its symptoms from the perspective of the patient and also created a patient profile before and during the diagnosis of celiac disease.

Key words: celiac disease, diagnostics, blood, urine, metabolomics, UHPLC, questionnaire

Obsah

1	ÚVOD	10
2	SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY DOMA A V ZAHRANIČÍ	11
2.1	CELIAKIA	11
2.2	FORMY CELIAKIE	11
2.3	ETIOLOGIA A PATOGENÉZA	12
2.4	KLASIFIKÁCIA CELIAKIE	13
	<i>Modifikovaná Marshová klasifikácia celiakie</i>	13
2.5	DIAGNOSTIKA CELIAKIE POMOCOU GASTROINTESTINÁLNYCH SYMPTOMOV	13
2.6	DIAGNOSTIKA CELIAKIE POMOCOU EXTRAINTESTINÁLNYCH SYMPTOMOV	14
2.6.1	<i>Hematologické symptómy celiakie</i>	14
2.6.2	<i>Diagnostika celiakie pomocou musculoskeletálnych symptómov</i>	18
2.6.3	<i>Diagnostika celiakie pomocou kožných symptómov</i>	19
2.6.4	<i>Diagnostika celiakie pomocou neurologických a behaviorálnych symptómov</i>	19
2.6.5	<i>Orgánovo-špecifické extraintestinálne symptómy celiakie ako forma diagnostiky</i>	22
2.7	DIAGNOSTICKÉ POSTUPY PRI CELIAKII NA SLOVENSKU	24
2.8	METABOLOMIKA V DIAGNOSTIKE CELIAKIE	27
3	CIEĽ PRÁCE	29
4	METODIKA PRÁCE A METÓDY SKÚMANIA	30
4.1	VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV KRVNÝCH TESTOV PACIENTOV S CELIAKIOM	30
4.2	METODIKA ANALÝZY VZORIEK MOČU PACIENTOV S CELIAKIOM	30
4.2.1	<i>Vzorky moču</i>	30
4.2.2	<i>Použité chemikálie a reagensy</i>	31
4.2.3	<i>Prístrojová charakteristika a podmienky analýzy</i>	31
4.2.4	<i>Predanalytická úprava vzoriek moču</i>	31
4.2.5	<i>Validácia metodiky</i>	32
4.3	DOTAZNÍKOVÁ METÓDA	33
4.4	ŠTATISTICKÁ ANALÝZA	33
5	VÝSLEDKY PRÁCE	34
5.1	STANOVENIE VÝZNAMNÝCH PARAMETROV V KRVI CELIATIKOV	34
5.2	METABOLOMICKÝ PROFIL MOČU CELIATIKOV POMOCOU UHPLC	40
5.3	VÝSLEDKY DOTAZNÍKOVEJ METÓDY ZAMERANEJ NA SÚČASNÚ DIAGNOSTIKU CELIAKIE	43
6	DISKUSIA	48
7	ZÁVER	54
8	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	55
9	PRÍLOHY	60

Zoznam tabuliek a ilustrácií

Tabuľka č. 1, Modifikovaná Marshová klasifikácia histologických nálezov v celiakii	13
Tabuľka č. 2, Chromatografické a validačné parametre metabolitov získané detekciou DAD	32
Tabuľka č. 3, Chromatografické a validačné parametre metabolitov získané detekciou FLD	32
Tabuľka č. 4, Súhrn stanovovaných parametrov v krvi celiatikov	34
Tabuľka č. 5, Štatistické vyhodnotenie nepárového t-testu metabolitov v moči dobrovoľníkov s diagnostikovanou celiakiou oproti zdravej kontrolnej skupine	42
Obrázok č.1, Duodenálna sliznica vykazujúca infiltráciu mononukleárných buniek s atrofiou klkov	18
Obrázok č. 2, Manifestácia celiakie v ústnej dutine, a) aftózne vredy, b) poruchy zubnej skloviny	24
Obrázok č. 3, Chromatogram súboru močov dobrovoľníkov A) zdravej kontrolnej skupiny B) s celiakiou detegovaný pomocou DAD	41
Obrázok č. 4, Chromatogram súboru močov dobrovoľníkov A) zdravej kontrolnej skupiny B) s celiakiou detegovaný pomocou FLD	41
Obrázok č. 5, Grafické znázornenie nameraných koncentrácií jednotlivých metabolitov v moči pacientov s celiakiou vs. zdravá kontrola v $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu	43
Graf č. 1, Grafické znázornenie hodnôt enzýmových aktivít ALT, AST u celiatikov	35
Graf č. 2, Grafické znázornenie hodnôt koncentrácie CRP v krvi celiatikov	36
Graf č. 3, Grafické znázornenie hodnôt koncentrácie IgA, IgG a IgM v krvi celiatikov	37
Graf č. 4, Grafické znázornenie koncentrácie železa ($\mu\text{mol}/\text{l}$) a hemoglobínu (g/l), celkového objemu erytrocytov ($10^6/\text{L}$) a šírky distribúcie červených krviniek	38
Graf č. 5, Grafické znázornenie indexov pozitivity (IP) pre AGAA, AGAG a enzýmovej aktivity pre anti-TTG (U/ml)	39
Graf č. 6, Grafické znázornenie prvej otázky v dotazníku	44
Graf č. 7, Grafické znázornenie druhej otázky v dotazníku	45
Graf č. 8, Grafické znázornenie tretej otázky v dotazníku	45
Graf č. 9, Grafické znázornenie štvrtej otázky v dotazníku	46
Graf č. 10, Grafické znázornenie piatej otázky v dotazníku	47

Zoznam skratiek a značiek

3-IAA	Kyselina 3-indoloctová
5-HIAA	Kyselina 5-hydroxyindoloctová
Anti-TTG	Protilátky proti tkanivovej transglutamináze
Anti-TTG-IgA	Protilátky proti tkanivovej transglutamináze pre triedu IgA
AGA	Protilátky proti gliadínu
AGAA	Protilátky proti gliadínu pre triedu IgA
AGAG	Protilátky proti gliadínu pre triedu IgG
AMS	α -amyláza
ARA	Protilátky proti retikulínu
ALP	Alkalická fosfatáza
ALT	Alanínaminotransferáza
AST	Aspartátaminotransferáza
Ca	Vápnik
Cl	Chlór
CRP	C-reaktívny proteín
CT	Počítačová tomografia
DAD	Detektor diódového poľa
DOPAC	Kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová
DH	Duhringová herpetiformná dermatitída
EMA	Protilátky proti endomýziu
ESPGHAN	Európska pediatrika spoločnosť pre gastroenterológiu, hepatológiu a výživu
Fe	Železo
FLD	Fluorescenčný detektor
GA	Gluténová ataxia
GIT	Gastrointestinálny trakt
GGT	γ -glutamyltransferáza
Hb	Hemoglobín
HMG	Kyselina homogentisová
HLA	Ľudský leukocytový antigén
HLA-DQ2	Ľudský leukocytový antigén DQ2
HLA-DQ8	Ľudský leukocytový antigén DQ8

IEL	Intraepiteliálne lymfocyty
IFN-γ	Interferón γ
IgA	Imunoglobulín A
IgE	Imunoglobulín E
IgG	Imunoglobulín G
IgM	Imunoglobulín M
IL-6	Interleukín 6
IP	Index positivity
IS	Indoxylsulfát
K	Draslík
KYNA	Kyselina kynurénová
KM	Kyselina močová
LOD	Limit detekcie
LOQ	Limit kvantifikácie
Mg	Horčík
MR	Magnetická rezonancia
Na	Sodík
NAFLD	Nealkoholické ochorenie pečene
NCGS	Neceliakálna gluténová senzitivita
RA	Reumatoidná artritída
RBC	Objem červených krviniek
RCDII	Refraktérna celiakia typu II
RDW	Šírka distribúcie červených krviniek
RF	Reumatoidný faktor
TAFI	Trombínom aktivovaný inhibítor fibrinolýzy
TAG	Triacylglyceroly
TG2	Tkanivová transglutamináza
TG3	Epidermálna transglutamináza
TRYCAT	Tryptofánový katabolit
TRP	Tryptofán
UHPLC	Ultra-vysokoúčinná kvapalinová chromatografia

1 Úvod

V súčasnosti celiakia patrí medzi rýchlo sa rozrastajúce chronické autoimunitné ochorenie v populácii ľudí všetkých vekových kategórií. Najčastejšie je spájaná s gastrointestinálnymi ťažkosťami, ako je hnačka, zápcha a abdominálna bolesť. U pacientov, ktorí vykazujú ťažkosti iného charakteru, napríklad kožné ekzémy, neurologické a muskuloskeletálne prejavy, alebo sú asymptomatickí, je diagnostika komplikovanejšia a celiakia tak spočiatku býva zamieňaná za iné ochorenia.

V tejto práci sa zameriavame na prehľad možných symptómov, ktoré napomáhajú špecifikovať a správne diagnostikovať celiakiu, rovnako aj na porovnanie výsledkov reálnych diagnostických metód celiakie na Slovensku, vrátane metabolomiky a jej potenciálneho významu v neinvasívnej diagnostike.

2 Súčasný stav riešenej problematiky doma a v zahraničí

2.1 Celiakia

Celiakia, inak nazývaná aj gluténsenzitívna enteropatia, prípadne celiakálna sprue, je imunitou sprostredkované chronické, celoživotné a v neliečenej forme aj život ohrozujúce, systémové ochorenie. Z lekárskeho hľadiska je charakterizované neznášanlivosťou gluténu, spojené s kombináciou rôznych klinických príznakov za prítomnosti špecifických protilátok, HLA-DQ2 alebo HLA-DQ8 haplotypov a typickým histologickým obrazom poškodenej sliznice tenkého čreva. Poškodením sa rozumie atrofia, pri ktorej dochádza k vymiznutiu klkov a hyperplázii krypt sliznice tenkého čreva (Frühauf a kol. 2016).

2.2 Formy celiakie

V súčasnej dobe rozoznávame viaceré formy celiakie.

Pri **typickej (klasickej) forme** celiakie sa vzorka odobratá zo sliznice tenkého čreva na mikroskopickom obraze javí ako úplne atrofovaná, kedy došlo k úplnému vymiznutiu klkov. U pacientov sa často vyskytuje malabsorpčný syndróm, ktorý vedie k anémii zo straty železa a výraznému úbytku na váhe. Časté sú u týchto pacientov hnačky, mastná stolica alebo naopak, zápcha. Ďalšia forma celiakie je **atypická (subklinická)**, pretože sa nevyznačuje typickými klinickými prejavmi, napriek tomu pozorujeme typický nález na sliznici tenkého čreva (Rimárová a kol. 2011). Zároveň sledujeme prítomnosť symptómov, ako je anémia spôsobená nedostatkom železa, osteoporóza alebo osteopénia, neplodnosť, nízky vzrast, poruchy menštruácie, depresia, epilepsia a iné (Admou a kol. 2012). **Tichá forma** celiakie môže byť definovaná ako porucha bez klinických symptómov, pri ktorej má jedinec na sliznici tenkého čreva lézie špecifické pre celiakiu (Mustalathi 2003). Je nadmerne zastúpená u detí s diabetes mellitus 1. typu rovnako ako u ich súrodencov. Títo jedinci by preto mali byť testovaní a sledovaní na prítomnosť protilátok proti *transglutamináze* (anti-TTG) a celiakie (Hansson a kol. 2014). Pojem **latentná celiakia** je forma, pri ktorej pacient konzumujúci stravu bohatú na lepok má normálny nález na sliznici tenkého čreva. Poškodenie sliznice sa prejaví po dlhšom čase až po niekoľkých rokoch. (Rimárová a kol. 2011). Mnohí autori **potenciálnu formu** celiakie nerozlišujú, prípadne ju radia k latentnej alebo tichej forme. Pri tejto forme pacient disponuje protilátkami v krvi charakteristickými pre celiakiu, ale sliznica tenkého čreva je postihnutá minimálne. Neskôr dochádza k rozvinutiu typickej formy celiakie, preto je dôležité z hľadiska diagnostiky týchto pacientov pravidelne monitorovať, aj keď sa javia ako

bezpríznakoví (Rimárová a kol. 2011). Existuje aj tzv. **refraktérna forma** celiakie, kedy pacient s celiakiou svojím zdravotným stavom neodpovedá na terapiu bezgluténovou diétou (Admou a kol. 2012). Patrí medzi komplikácie celiakie (Malamut a Cellier 2015). **Duhringová herpetiformná dermatitída (DH)** je samostatná jednotka. Ide o kožný extraintestinálny prejav celiakie, ktorý sa prejavuje pľuzgiermi v typických miestach, ako sú lakty, kolena a zadok. Priaznivo na ňu pôsobí liečivo Dapson, ktoré sa radí medzi antileprotiká a má sulfónový charakter. Nález na sliznici čreva je charakteristický pre celiakiu, pričom postihnutá črevná sliznica je vo väčšine prípadov mozaikovitá (Kohout 2006). Toto ochorenie sa diagnostikuje imunofluorescenčnou biopsiou, ktorá vykazuje patogénne zrnité imunoglobulínové (IgA) usadeniny v papilárnej dermis. Imunopatogenéza DH vychádza z hypotézy, že dané ochorenie sa vyvíja z latentnej alebo manifestnej celiakie v čreve a pokračuje ukladaním imunitného komplexu vysoko avidných protilátok proti epidermálnej *transglutamináze* (TG3) spolu s TG3 enzýmom v papilárnej dermis (Reunala a kol. 2018).

2.3 Etiológia a patogenéza

Celiakiu predstavuje multifaktorová etiológia so silným genetickým pozadím, ktorá zahŕňa ako ľudský leukocytový antigén (HLA), tak aj iné gény. Je všeobecne známe, že celiakia sa vyskytuje u geneticky predisponovaných jedincov nesúcich haplotypy DQ2 a DQ8 (HLA-DQ2, HLA-DQ8), čo je podmienka síce potrebná, ale nie dostatočná na vývoj choroby, pretože tieto molekuly sú široko roztrúsené v populácii, avšak nie všetci jedinci týmto ochorením trpia. Molekuly HLA-DQ2 a HLA-DQ8 slúžia ako hlavné prvky pre gluténovo špecifické CD4⁺ T-lymfocyty, ale na vyvolanie chronického zápalu tenkého čreva je nevyhnutná zmena v imunitnej odpovedi. Určením genetickej náchylnosti sa pacienti môžu vyhnúť biopsii tenkého čreva, kontinuálnemu sérologickému testovaniu a iniciácii bezlepkovej diéty, najmä u jedincov vo vysokorizikových skupinách, ako sú príbuzní pacientov s celiakiou, pacienti s inzulín-dependentným diabetes mellitus, tyreoiditídou, Downovým, Turnerovým alebo Williamsovým syndrómom, či selektívnou deficienciou IgA, prípadne anémiou z nedostatku železa. Tkanivová *transglutamináza* (TG2) je cieľovou molekulou pre IgA autoprotilátky a zohráva kľúčovú úlohu v patogenéze celiakie. Reaktivita daných autoprotilátok na TG2 je špecifický a citlivý marker, ktorý napomáha k diagnostike a sledovaniu celiakie (De Re a kol. 2017).

2.4 Klasifikácia celiakie

Modifikovaná Marshová klasifikácia celiakie

Z histologického hľadiska bola celiakia klasifikovaná Marshom do 5 kategórií, pričom posledná kategória bola zrušená. Marshová klasifikácia bola neskôr modifikovaná Oberhuberom (Bézayová 2014). Táto klasifikácia je uvedená v tabuľke č. 1.

Tabuľka č. 1, Modifikovaná Marshová klasifikácia histologických nálezov v celiakii (Oberhuber).

Marshov typ	IEL/100 enterocytov-jejunum	IEL/100 enterocytov-duodenum	Hyperplázia krýpt	Klky
0	<40	<30	Normálna	Normálne
1	>40	>30	Normálna	Normálne
2	>40	>30	Zvýšená	Normálne
3a	>40	>30	Zvýšená	Mierna atrofia
3b	>40	>30	Zvýšená	Výrazná atrofia
3c	>40	>30	Zvýšená	Kompletná atrofia

IEL/100 enterocytov = intraepiteliálne lymfocyty na 100 enterocytov

Zdroj: Firman 2018

2.5 Diagnostika celiakie pomocou gastrointestinálnych symptómov

Gastrointestinálne prejavy sú zriedkavejšie u starších pacientov. Viac ako polovica dospelých jedincov trpí okrem gastrointestinálnych symptómov aj úbytkom hmotnosti. Najčastejším symptómom je hnačka. V poradí podľa klesajúcej frekvencie výskytu symptómov nasleduje nadúvanie, aftózna stomatitída, striedavé črevné návyky, zápcha a gastroezofageálna refluxná choroba. Menej časté gastrointestinálne prejavy sú vracanie a chronická bolesť brucha. Hoci gastrointestinálne prejavy sú pomerne bežné v normálnej populácii, existuje len slabá korelácia medzi nimi a nedagnostikovanou celiakiou. Na rozdiel od dospelých jedincov je abdominálna bolesť brucha bežným prejavom celiakie u detí. U veľmi malých detí sa tiež zvyšuje pravdepodobnosť úplnej atrofie klkov tenkého čreva (Hujuel a kol. 2018).

2.6 Diagnostika celiakie pomocou extraintestinálnych symptómov

2.6.1 Hematologické symptómy celiakie

Anémia

Anémia je druhým najčastejším extraintestinálnym prejavom celiakie u dospelých jedincov. Je menej častá u detí. Najčastejšou príčinou anémie u týchto pacientov je nedostatok železa (Leffler a kol. 2015). Nedostatok železa u pacientov s celiakiou je výsledkom zhoršenej absorpcie železa. V niektorých prípadoch môže dochádzať k okultnému krvácaniu v gastrointestinálnom trakte (GIT), čo vedie k jeho stratám (Halfdanarson a kol. 2007). Okultné krvácanie môže byť vyvolané ochoreniami, ktoré mnohokrát komplikujú celiakiu ako ulcerózna porucha tenkého čreva, benígne vredy slizníc, tzv. negranulomatózna ulceratívna jejunitída alebo malígne vredy (Freeman 2015). V závislosti od stupňa atrofie klkov bolo okultné krvácanie v GIT zistené u 25 % až 54 % pacientov s celiakiou (Halfdanarson a kol. 2007).

Ďalšou príčinou vzniku anémie môže byť nedostatok folátu resp. kyseliny listovej alebo vitamínu B₁₂ (Leffler a kol. 2015). Kyselina listová, základný prvok aminokyselín a nukleových kyselín, je potrebná pre správnu hematopoézu a vývoj nervového systému. Primárne sa absorbuje v jejunu. Malabsorpcia pri celiakii spôsobí zníženú hladinu kyseliny listovej v krvi, následkom toho vzniká makrocytárna alebo megaloblastická anémia. Príliš veľký deficit kyseliny listovej sa v krvnom nátere prejaví znížením leukocytov a trombocytov, prípadne až pancytopéniou. Pri diagnostike sa stanovuje sérový folát a hladiny folátov červených krviniek. Sérový folát je závislý od kyseliny listovej a zvyšuje sa u pacientov s deficienciou vitamínu B₁₂. Ako diagnostický marker môže slúžiť aj homocysteín, ktorého koncentrácie sú zvýšené u celiatikov.

Vitamín B₁₂, inak nazývaný aj kobalamín, je nevyhnutným kofaktorom a koenzýmom vo viacerých biochemických cestách. Príčiny nedostatku vitamínu B₁₂ u celiatikov nie sú doposiaľ úplne objasnené, môžu zahŕňať zníženú žalúdočnú kyselinu, nadmerné baktérie, autoimunitnú gastritídu alebo jemnú dysfunkciu distálneho tenkého čreva. Z diagnostického hľadiska meranie hladín vitamínu B₁₂ môže byť zavádzajúce a ťažko interpretovateľné, obzvlášť vtedy, ak sa hodnoty pohybujú v nižších hladinách normálneho rozsahu, alebo existuje súčasný deficit kyseliny listovej. Zvýšené hladiny sérovej kyseliny metylmalónovej môžu zlepšiť presnosť diagnostiky za týchto okolností (Halfdanarson a kol. 2007).

Na mechanizme vzniku anémie sa podieľa aj zápal. Na patogenéze celiakie sa výrazne podieľajú cytotoxické a zápalové mechanizmy, v ktorých podstatnú úlohu zohrávajú prozápalové cytokíny ako interferón- γ (IFN- γ) a interleukín 6 (IL6). Tieto cytokíny sú mediátormi hypoferémie pri zápaloch a zároveň indukujú syntézu regulačného hormónu železa, hepcidínu. Ak sa zvýši syntéza hepcidínu, dôjde k zvýšeniu degradácie feroportínu a inhibícii uvoľňovania železa z makrofágov a enterocytov. Následne vznikajú abnormality v homeostáze železa vedúce k anémii, pri chronických ochoreniach ako celiakia (Kruzliak a Bhagat 2012).

Malabsorpcia rôznych mikroživín potrebných pre hematopoézu môže spôsobiť anémiu u celiatikov. Tak ako u dospelých, aj u detí s celiakiou bol popísaný nedostatok medi, čo vyústilo až k anémii a trombocytopénii. Deficit vitamínu B6, kyseliny pantoténovej alebo riboflavínu, tiež patrí medzi etiologické príčiny vzniku anémie u celiatikov (Halfdanarson a kol. 2007).

Trombocytopénia a trombocytóza

U pacientov s celiakiou možno pozorovať abnormálny počet krvných doštičiek, avšak trombocytóza je u týchto jedincov častejším javom ako trombocytopénia (Baydoun a kol. 2012). Trombocytopénia môže mať autoimunitný charakter, existujú prípady, kedy sa objavila u celiatikov v súvislosti s keratokonjunktivitídou alebo choroidopatiou (Kruzliak a Bhagat 2012). V súčasnosti existuje súvislosť medzi celiakiou a idiopatickou trombocytopénickou purpurou. V dôsledku podobných autoimunitných mechanizmov sa v niektorých publikáciách celiakia uvádza ako rizikový faktor pre idiopatickú trombocytopénickú purpu (Sarbay a kol. 2017).

Etiológia trombocytózy v súvislosti s celiakiou nie je doposiaľ známa. Predpokladá sa, že vzniká ako sekundárne ochorenie v dôsledku zvýšených zápalových mediátorov, autoimunitných procesov, anémie z nedostatku železa alebo funkčného hyposplenizmu. Trombocytóza môže mať veľký význam v diagnostike celiakie, odráža zvýšenú aktivitu ochorenia (Kruzliak a Bhagat 2012).

Koagulopatia

Ak sa celiakia nelieči, indukovaná malabsorpcia môže viesť k nedostatku vitamínu K, následkom čoho sa znižujú koagulačné faktory závislé od tohto vitamínu. Toto zníženie môže spôsobiť predĺženie koagulačných testov alebo parametrov, ako je protrombínový

čas, medzinárodný normalizovaný pomer a aktivovaný tromboplastínový čas. Príležitostným prvým príznakom u pacientov s celiakiou môže byť hemoragická porucha. Malabsorpcia vitamínu K je menej častá u celiatikov, ktorí nevykazujú malabsorpciu iných živín (Kruzliak a Bhagat 2012).

Leukopénia a neutropénia

Veľmi zriedkavo sa u celiatikov vyskytuje leukopénia, ktorej etiológia vyplýva z nedostatku kyseliny listovej a medi. V súčasnosti existujú zmienky o prítomnosti febrilnej neutropénie u pacientov s celiakiou, avšak s doposiaľ neznámou etiológiou (Baydoun a kol. 2012).

Venózný a arteriálny tromboembolizmus

Ďalším hematologickým symptómom celiakie sa uvádza venózný a arteriálny tromboembolizmus. Celkovo u pacientov s chronickým zápalovým ochorením čriev sú hlásené zvýšené hladiny trombínom aktivovaného inhibítora fibrinolýzy, ktoré sa ukázali ako rizikový faktor pre venózný tromboembolizmus. Znížené hladiny antikoagulačných faktorov závislých od vitamínu K, proteínu C, ktorý v komplexe so svojím kofaktorom proteínom S má schopnosť proteolyticky inaktivovať koagulačné faktory V a VIII, boli navrhnuté ako kauzatívny faktor pri trombóze súvisiacej s celiakiou. Zriedkavo sa v kazuistikách vyskytuje arteriálny tromboembolizmus v spojení s celiakiou a v súčasnosti mechanizmus vzniku ostáva stále nejasný (Halfdanarson a kol. 2007).

Dysfunkcia sleziny

Hypersplenizmus sa spája klasicky so splenomegáliou, anémiou, leukopéniou a/alebo trombocytopéniou, prípadne hyperpláziou kostnej drene. Výrazné zlepšenie nastáva po splenektómii. Hyposplenizmus súvisí s poruchou dvoch hlavných funkcií sleziny, a to filtráciou dysfunkčných červených krviniek a v boji s infekciou. Diagnostika funkcie sleziny spočíva v hematologických testoch, ktoré skúmajú kontrastnou mikroskopiou abnormality membrán periférnych červených krviniek, hlavne Howell-Jolly teliesok a poskladaných/rozložených erytrocytov. Metóda počítania Howell-Jolly teliesok je používaná na koreláciu hyposplenizmu a celiakie, nie je taká citlivá ako metóda počítania erytrocytov, ktorá sa javí ako presný neinvazívny spôsob diagnostiky, ale jej technická zložitosť obmedzuje využitie v klinickej praxi (Baydoun a kol. 2012).

Ďalšia skupina diagnostických postupov zahŕňa využitie systémovej injekcie špecifických rádiofarmák, ktoré sa podrobujú skúške na slezine. Hypersplenizmus a hyposplenizmus môžu koexistovať, ale u pacientov s celiakiou sa prevažne vyskytuje hyposplenizmus. Výskyt hyposplenizmu pri celiakii sa pohybuje od 14 % do 77 % u dospelých pacientov. U detí je incidencia oveľa nižšia (Baydoun a kol. 2012).

Deficiencia IgA

Prevalencia deficitu imunoglobulínu A (IgA) u celiatikov je 10 až 15-násobne vyššia ako u bežnej populácie. Približne 2 % až 3 % pacientov s celiakiou trpí deficitom IgA a naopak, až 8 % jedincov s deficitom IgA trpí celiakiou. Pacienti so selektívnym nedostatkom IgA majú 10 až 20-násobne zvýšené riziko vzniku celiakie. Klinický obraz celiatikov so selektívnou deficienciou IgA je odlišný od pacientov s celiakiou s normálnou hladinou IgA, čo dokazuje zvýšenú incidenciu tichej formy celiakie. V súčasnej dobe sa na diagnostiku celiakie používajú protilátky proti gliadínu (AGA), retikulínu (ARA), endomýziu (EMA). Tieto sérologické markery sú vysoko citlivé a špecifické pre celiakiu, najmä pre testy protilátok na základe IgA. Väčšina existujúcich serologických metód deteguje iba protilátky IgA, jeho nedostatok môže spôsobiť falošne negatívne výsledky. Základným serologickým testom, ktorý dokáže detegovať IgG protilátky súvisiace s celiakiou, je AGA test, ktorý má obmedzenú špecificitu, a preto nemôže spoľahlivo a jednoznačne stanoviť diagnózu. Vyhodnotenie protilátok proti *transglutamináze* pre triedu IgG môže byť užitočné pri diagnostike celiakie u pacientov s deficitom IgA. Títo pacienti sú náchylní k iným zápalovým ochoreniam čriev alebo chronickým parazitárnym infekciám, napr. giardióza, ktorá by sa mohla javiť ako celiakia (Kruzliak a Bhagat 2012).

Lymfóm

U pacientov s refraktérnou celiakiou typu II (RCDII) sa biele krvinky v stene tenkého čreva delia a množia v nadmernom počte. Približne u polovice týchto pacientov sa vyvinie veľmi zriedkavá a agresívna forma lymfómu, nazývaná T-bunkový lymfóm asociovaný s enteropatiou. Ak T-bunky detegujú glutén, dochádza k produkcii cytokínov, ktoré stimulujú iné imunitné bunky. Následne vzniká extrémna a bolestivá zápalová reakcia typická pre celiakiu, v niektorých zriedkavých prípadoch vedie k vzniku rakoviny. Je vedecky dokázané, že nástup tejto zriedkavej formy lymfómu závisí od cytokínu interleukínu 15, ktorý spôsobuje proliferáciu malígnych buniek. Najnovšie výskumy

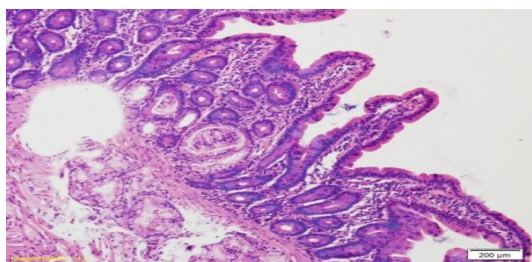
dokazujú, že aj tri ďalšie cytokíny (tumor nekrotizujúci faktor, interleukín 2 a interleukín 21) môžu vyvolať proliferáciu maligných buniek. Tieto zistenia slúžia na ďalšie objasnenia ako imunitný systém reaguje na lepok, a ako môže stimulovať rast rakovinových buniek u pacientov s RCDII (Sandoiu 2017).

2.6.2 Diagnostika celiakie pomocou musculoskeletálnych symptómov

Reumatoidná artritída

Reumatoidná artritída (RA), tak ako aj celiakia, patria do rodiny autoimunitných ochorení a zdieľajú viaceré aspekty. Z hľadiska epidemiológie zdieľajú porovnateľné vplyvy životného prostredia, protilátky a nedávny nárast prípadov. Líšia sa vo svojich špecifických prediktívnych a diagnostických biomarkeroch. Na úrovni klinických prejavov vykazuje celiakia extraintestinálne reumatické prejavy a RA vykazuje gastrointestinálne, kedy u pacientov s RA existuje patologický nález na tenkom čreve. Patofyziologicky sú obe ochorenia sprostredkované endogénnymi enzýmami v cieľových orgánoch (Lerner a Matthias 2015). Pohľad na duodenálnu sliznicu s atrofiou klkov je zobrazený na obrázku č.1.

Obrázok č. 1, Duodenálna sliznica vykazujúca infiltráciu mononukleárných buniek s atrofiou klkov



Zdroj: Warjri a kol. 2015

Metabolické ochorenia kostí

Medzi extraintestinálne prejavy celiakie patria aj metabolické ochorenia kostí, ako napríklad nedostatok kostnej hmoty, osteoporóza, osteopénia, osteomalácia alebo sekundárny hyperparatyroidizmus. Atrofia sliznice pri celiakii zhorší absorpciu vápnika, aby sa zamedzilo hypokalcémii, zvýši sa hladina parathormónu, vzniká sekundárny hyperparatyroidizmus a dochádza k stimulácii degradácie kostí pôsobením osteoklastov.

Následne sa vápnik získava z kostrového rezervoára, tento stav prestavby môže viesť k osteopénii alebo osteoporóze, zmene kostrovej mikroštruktúry a zvýšeniu rizika zlomenín. Hypersekrécia prozápalových cytokínov prispieva k osteoklastickej resorpcii kostí (Zanchetta a kol. 2016).

2.6.3 Diagnostika celiakie pomocou kožných symptómov

Ekzém a psoriáza

Priame patogénne spojenie medzi celiakiou a ekzémom alebo psoriázou nie je doposiaľ známe. Je vedecky dokázané, že pacienti s celiakiou majú mierne zvýšené riziko vzniku psoriázy. Ak sa už psoriáza rozvinie u celiatikov, po nasadení bezlepkovej diéty sa toto kožné ochorenie zlepši. (Leffler a kol. 2015). Ďalším kožným prejavom celiakie je aj Duhringová herpetiformná dermatitída, ktorá je popísaná vyššie (Kapitola 2.2).

Nešpecifické kožné prejavy

Pacienti s celiakiou hlásia okrem ekzému a psoriázy aj rôzne nešpecifické problémy vrátane suchej kože, ľahkých podliatin, krehkých nechťov a rednutia vlasov. Zinok, železo a vitamíny rozpustné v tukoch sú u pacientov s novodiagnostikovanou celiakiou najčastejšie deficientné a ich opakované dopĺňanie môže urýchliť klinické zlepšenie. Alopecia areata môže byť samostatne koexistujúcim ochorením u pacientov s celiakiou (Leffler a kol. 2015).

2.6.4 Diagnostika celiakie pomocou neurologických a behaviorálnych symptómov

Autizmus

Prípadové štúdie naznačujú, že existuje súvislosť medzi celiakiou a poruchami autistického spektra. U týchto pacientov boli zistené protilátky proti gliadínu, ale iné celiakio-špecifické protilátky sa u nich nenašli (Leffler a kol. 2015).

V štúdiu Wahab a kol. (2019) zistili, že celiakia v kombinácii s rizikovými alelami HLA-DQ2 a HLA-DQ8 je spojená s úzkosťou, vzdorom a behaviorálnymi problémami (Wahab a kol. 2019).

Gluténová ataxia

Gluténová ataxia (GA) je jedným z najbežnejších neurologických prejavov porúch súvisiacich s gluténom. Definovaná bola pôvodne ako idiopatická sporadická ataxia v prítomnosti cirkulujúcich antigliadínových protilátok IgA a/ alebo IgG. V súčasnosti boli identifikované novšie špecifickejšie sérologické markery, ale zatiaľ nie sú dostupné. Prejavuje sa na chôdzi a ataxiou dolných končatín. Až 40 % pacientov s GA ma enteropatiu na duodenálnej biopsii. Gastrointestinálne príznaky nebývajú významné a rovnako nie sú vhodným markerom prítomnosti enteropatie. Až 60 % pacientov s GA má známky mozgovej atrofie pri zobrazovaní magnetickou rezonanciou (MR), ale všetci pacienti majú spektroskopické abnormality ovplyvňujúce vermis (Hadjivassiliou a kol. 2015).

Schizofrénia

V kontrolovanom klinickom skúšaní u adolescentov so schizofréniou, ktorí boli umiestnení v nemocničnom zariadení, došlo ku zmenám príznakov neurologických porúch po nasadení bezlepkovej diéty. V testovaní, ktoré bolo uskutočnené v roku 1981, boli pacienti vystavení pravidelnému príjmu gluténu, po ktorom nedošlo k zhoršeniu klinického stavu. Tretie testovanie uskutočnené v roku 1982 porovnávalo bezgluténovú a gluténovú stravu u psychiatrických pacientov a nezistilo žiadne rozdiely v rade psychologických testov. Ďalšie testovanie porovnávalo sérologické vyšetrenia pacientov so schizofréniou a zdravých jedincov a výsledkom bolo, že 5,5 % osôb so schizofréniou malo zvýšené hladiny IgA anti-TG2 protilátok oproti 0,8 % zdravých jedincov. Zaujímavé je, že 23 % pacientov so schizofréniou bolo pozitívnych na anti-gliadínové protilátky v porovnaní s 3 % zdravej vzorky. Prevalencia celiakie u pacientov so schizofréniou bola podobná ako u všeobecnej populácie. V nastávajúcej štúdií na rovnakej skupine pacientov bolo zvýšenie protilátok anti-TG2 u pacientov so schizofréniou spojené najmä s prítomnosťou anti-TG6 protilátok. Iné štúdie ukázali vysokú prevalenciu protilátok proti TG a gliadínu (Leffler a kol. 2015).

Depresia

S celiakiou sa spájajú poruchy ako úzkosť, depresia alebo hyperaktivita. Príčina a rozsah týchto asociácií nie sú v súčasnosti úplne objasnené. Súčasné dôkazy nepodporujú rutinné testovanie na celiakiu u jedincov s danými poruchami. U pacientov s celiakiou sa

často vyskytujú príznaky súvisiace s periférnou neuropatiou. Podľa výsledkov výskumov z roku 2012 38,9 % pacientov s celiakiou splnilo kritéria pre periférnu neuropatiu v porovnaní s 20,5 % zdravej skupiny (Leffler a kol. 2015).

Pyridoxín (vitamín B₆) a kyselina listová (vitamín B₉) patria medzi dôležité faktory, ktoré významne ovplyvňujú náladu, neurotransmisiu a neurotransmitery. V niektorých štúdiách zameraných na depresiu u pacientov s celiakiou sa zistilo, že nedostatok kyseliny listovej, vitamínu B₁₂ a B₆, tryptofánu a vitamínu D v dôsledku malabsorpcie sa podstatne podieľa na vývoji psychiatrických symptómov. Predpokladá sa, že nízka denzita kostí u ľudí, ktorí nedodržiavajú diétu, je spôsobená nedostatkom vitamínu D. Práve nedostatok vitamínu D sa často spája s poruchami nálady a so zlou kognitívnou výkonnosťou. Preto vznikajú teórie, že vitamín D je prepojením medzi celiakiou a psychiatrickými poruchami, avšak na potvrdenie tejto teórie je potrebný širší výskum (Cossu a kol. 2017).

Existujú štúdie, ktoré odhaľujú, že ľudia so schizofréniou vykazujú vysoké hladiny iných protilátok (AGAG, AGAA), ktoré sú menej špecifické ako tie charakteristické pre celiakiu (Cossu a kol. 2017).

Epilepsia

Celiakia ako chronické zápalové ochorenie je úzko spojené s epilepsiou, ktorá môže zabrániť vzniku gastrointestinálnych prejavov choroby. Za najpravdepodobnejší patogénny základ týchto neurologických komorbíd môžeme považovať zápalový a autoimunitný proces. Je známe, že zápalové ochorenie čriev môže ovplyvniť kognitívne, fyziologické a behaviorálne funkcie mozgu (os črevá – mozog). Obojsmerná komunikačná cesta medzi centrálnym nervovým systémom a črevnými baktériami má významný vplyv na mozgové procesy, ako sú neurotransmisia, aktivácia stresových osí, neuroinflamácia, neurogenéza, modulovanie emócií, komplexné správanie a úzkosť. Najnovšie výskumy ukázali, že črevné mikroorganizmy majú dôležitú úlohu nielen pri udržiavaní zdravej a normálnej homeostázy, ale výrazne ovplyvňujú aj duševné zdravie jednotlivca počas stresovej reakcie, zápalu a autoimunitných procesov (Gobbi a kol. 2019).

2.6.5 Orgánovo-špecifické extraintestinálne symptómy celiakie ako forma diagnostiky

Pečeň

Bezgluténová strava je spojená so zmeneným príjmom makronutrientov a metabolickým syndrómom. Nealkoholické ochorenie pečene (NAFLD) je charakteristickým znakom metabolického syndrómu v pečeni. Na základe štúdie Tovoli a kol. (2018) bolo preukázané, že viac ako jedna tretina pacientov s celiakiou, ktorí dodržiajú bezlepkovú diétu, mala súbežne NAFLD, čo predstavuje trojnásobne zvýšené riziko v porovnaní s bežnou populáciou (Tovoli a kol. 2018).

Slezina

V posledných rokoch sa začalo polemizovať o spojení medzi celiakiou a šírkou distribúcie červených krviniek (RDW) ako diagnostickým markerom, ktorému však chýba špecifickosť. RDW je miera zmeny veľkosti v populácii červených krviniek (RBC), ktorú automatizované hematologické analyzátory uvádzajú ako súčasť štandardného kompletného krvného obrazu. RDW sa považuje za citlivý ukazovateľ výživových nedostatkov ovplyvňujúcich produkciu RBC a tvorbu heterogénnej populácie RBC, pričom sa mení objem buniek. Aj pri normálnych hodnotách hemoglobínu sa zvýšené hladiny RDW považujú za citlivý prediktor celiakie. V súvislosti s celiakiou sa RDW môže použiť aj na monitorovanie dietetickej účinnosti a dodržiavania predpísanej terapie, pretože hladina RDW by sa po nasadení bezlepkovej diéty mala normalizovať (Balaban a kol. 2015).

Pľúca

Pľúca sa veľmi zriedkavo podieľajú na celiakii, ale pľúcne prejavy môžu byť život ohrozujúce. Pľúcne stavy, ktoré sú pozorované pri celiakii majú najčastejšie infekčný charakter. Jedinečným ochorením pre celiakiu je tzv. Lane-Hamiltonov syndróm, ktorý je zriedkavým a málo študovaným stavom, pri ktorom celiakia predstavuje pľúcnu hemosiderózu, ktorá sa zvyčajne prejavuje dyspnoe a/alebo hemoptýzou. Rádiologické nálezy a bronchoskopia nie sú špecifické pre celiakiu. Etiológia pľúcnych prejavov celiakie nie je známa, ale predpokladá sa, že súvisí s krížovou reaktivitou medzi anti-TG2 protilátkami z čriev a pľúc (Leffler a kol. 2015).

Obličky

Súčasnne dostupné epidemiologické údaje naznačujú, že celiakia je spojená so zvýšeným rizikom glomerulonefritídy a terminálneho štádia renálnej choroby. U celiatikov je klinicky relevantné ochorenie obličiek veľmi zriedkavým problémom, s výnimkou frekvencie výskytu ťažkostí očakávaných u pacientov s diabetes mellitus typu I. V súčasnosti klinické smernice pre dospelých ani pre pediatrických pacientov neodporúčajú rutinné vyšetrenie obličiek u pacientov s celiakiou (Leffler a kol. 2015).

Srdce

Kardiomyopatia je najčastejšie dokumentovaným kardiovaskulárnym stavom sledovaným u pacientov s celiakiou. Zdá sa, že po vhodnej liečbe, vrátane bezlepkovej diéty, dôjde k úplnému vyliečeniu. Ak však celiakia zostane neliečená alebo nediagnostikovaná do neskoršieho štádia, poškodenie srdca nemusí byť úplne reverzibilné. V spojení s neliečenou celiakiou rozoznávame ďalšie kardiovaskulárne ochorenia ako trombóza, tromboembólia, ischemická choroba srdca, arytmia a cievna mozgová príhoda (Ciaccio a kol. 2017).

Pankreas

Celiakiu možno spájať s mnohými formami pankreatickej choroby, vrátane akútnej pankreatitídy, chronickej pankreatitídy a pankreatickej exokrinnej nedostatočnosti. V mnohých prípadových štúdiách bola celiakia opísaná ako príčina opakujúcej sa akútnej pankreatitídy, reagujúca na bezlepkovú diétu. U týchto jedincov etiológia recidivujúcej akútnej pankreatitídy súvisí so zápalom dvanástnika, ktorý má za následok čiastočnú alebo prechodnú obštrukciu sfinkterov, ktorú je možné vyriešiť pomocou sfinkterotómie. Merania aktivít fekálnej *elastázy* by sa mali zväžiť u každého pacienta s chronickou hnačkou, po vylúčení aktívnej celiakie a mikroskopickej kolitídy (Leffler a kol. 2015).

Reprodukčný systém

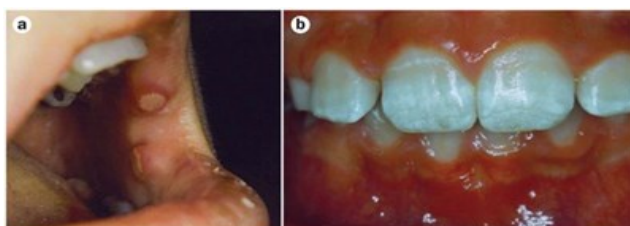
Dosah celiakie na reprodukčný systém je rozmanitý a kontroverzný. Výskumy poukazujú na fakt, že anti-TG2 protilátky môžu priamo interagovať s placentou a inhibovať tak funkciu placenty a prenos živín. Rovnako aj výživové nedostatky spôsobené malabsorpciou charakteristickou pre celiatikov môžu mať nepriaznivé účinky na

plodnosť a tehotenstvo. Momentálne nie je jednoznačne dokázaný vplyv celiakie na tehotenstvo, ale výskumy naznačujú, že ženy s celiakiou môžu mať zvýšené riziko potratu (Leffler a kol. 2015).

Ústna dutina

Celiakia manifestuje v ústnej dutine vo forme aftov, porúch skloviny, kazov (Obrázok č. 2), oneskoreného prerezávania zubov, atrofickej glositíde a uhlovej cheilitíde. Serologické vyšetrenie pacientov s minimálnymi prejavmi a pacientov s extraintestinálnymi a atypickými gastrointestinálnymi prejavmi by výrazne zlepšilo včasnú diagnózu. Dôkladným zubným vyšetrením ústnej dutiny so samostatným zameraním na tieto zmeny možno prispieť k včasnej diagnostike celiakie (Zivic a kol. 2019).

Obrázok č. 2, Manifestácia celiakie v ústnej dutine, a) aftózne vredy, b) poruchy zubnej skloviny



Zdroj: Leffler a kol. 2015

2.7 Diagnostické postupy pri celiakii na Slovensku

ESPGHAN (Európska pediatrika spoločnosť pre gastroenterológiu, hepatológiu a výživu) vypracovala revidované odporúčania, z ktorých vyplývajú nasledovné kritéria pre stanovenie diagnózy celiakie platné pre deti a dospelých:

1. anamnéza, sérologické testy, klinické príznaky a črevná biopsia sa zhodujú s diagnózou celiakie;
2. po nastavení a dodržiavaní bezlepkovej diéty dochádza k úprave sérologických testov a klinických prejavov;
3. pacient je starší ako 2 roky;
4. boli vylúčené iné ochorenia podobné celiakii.

Potvrdenie diagnózy celiakie musí byť založené na základe nálezov z laboratórnych vyšetrení, sérologických testov a endoskopie (Suchá a kol. 2015).

Laboratórne vyšetrenia

Každý pacient by mal mať laboratórne vyšetrený krvný obraz a protrombínový čas. Základné biochemické parametre môžu preukázať hypokalémiu, hypokalcémiu, hypomagnezémiu, taktiež sa môžu vyskytnúť aj znížené hladiny proteínov, albumínu, kyseliny listovej a vitamínu B₁₂, naopak, zvýšenie nastáva u *transamináz* ALT a AST. Pri rozbere koncentrácie feritínu a sérového železa je typická hyposiderémia. U pacienta s hnačkami sa odporúča urobiť aj parazitologické vyšetrenie stolice (Suchá a kol. 2015).

Sérologické testy

Ďalším krokom v diagnostike celiakie sú sérologické testy, ktorých úlohou je nielen napomôcť k diagnostike, ale slúžia aj ako kontrolný nástroj pri monitorovaní ochorenia vo fáze dodržiavania bezlepkovej diéty. Pri sérologických testoch je dôležité mať na pamäti, že aj pacient s celiakiou môže mať negatívne výsledky a naopak, pozitívne výsledky nie sú dostačujúce na jednoznačnú diagnostiku celiakie. Sérové protilátky majú polčas rozpadu 30 – 60 dní a z toho dôvodu je nutné aby pacient pred odberom dodržiaval diétu obsahujúcu glutén. Hladiny sérových protilátok po nasadení bezgluténovej diéty postupne klesajú (Suchá a kol. 2015).

Odporúča sa vyšetriť v prvom rade protilátky proti tkanivovej *transglutamináze* (Anti-TTG), súčasne s protilátkami proti endomýziu (EMA). Vo väčšine prípadov sú tieto vyšetrenia dostupné len pre protilátky triedy IgA. Je známe, že asi 10 % celiatikov trpí nedostatkom IgA, z tohto dôvodu by mohli vykazovať falošne negatívne výsledky. Aby sa predišlo tejto skutočnosti, odporúča sa urobiť vyšetrenie hladiny celkového IgA. Existujú aj pracoviská, ktoré poskytujú test na vyšetrenie Anti-TTG pre triedu IgG. Vyšetrenie protilátok proti gliadínu (AGA) je najčastejšie využívané aj napriek svojej nižšej špecificite a senzitivite, pretože poskytuje možnosť vyšetrenia protilátok v triede IgA a IgG. Anti-TTG-IgA bývajú falošne pozitívne pri pokročilých chorobách pečene a zlyhaní srdca. V takom prípade je nutné diagnózu potvrdiť aj histologicky (Pekárková a kol. 2009).

Endoskopia

Endoskopia je nevyhnutnosťou pre potvrdenie diagnózy celiakie. Na sliznici celiatikov je možné pozorovať rôzne zmeny, od makroskopicky intaktnej sliznice až po mozaikovitý vzhľad sliznice, skrátenie alebo absencia Kerkringových rias, prítomnosť vrúbkovaných rias, prípadne až viditeľnosť podslizničných ciev (Suchá a kol. 2015). Na

definitívne stanovenie diagnózy celiakie je nutné vykonať histologické vyšetrenie bioptickej vzorky z tenkého čreva. Aj pri rutinnej gastroskopii je možné odobrať vzorku sliznice, ale je nutné ju odobrať najmenej v duodéne, pod Vaterovou papilou. U malých detí s hmotnosťou do 10 kilogramov vykonávame odber tenkého čreva sacou kapsulou (Crosbyho alebo Watsonova kapsula). U detských pacientov s vyššou hmotnosťou je postup rovnaký ako u dospelých pacientov. V prípadoch s možnými nejasnosťami možno do diagnostického postupu zaradiť aj enteroskopiou, prípadne vyšetrenie kapsulovou endoskopiou (Pekárková a kol. 2009).

Histologické vyšetrenie vzoriek

Vzorky, ktoré sú odoslané na histologické vyšetrenie, sú následne hodnotené histologickým skórovaním (gradingom) podľa Marsha. Stav sliznice pri celiakii vyjadrený Marshovou klasifikáciou je uvedený v kapitole 2.4, tabuľka č. 1 (Pekárková a kol. 2009).

Genetické testy

Ak pri diagnostike dôjde k pochybnostiam a výsledky predchádzajúcich testov sú nejednoznačné, je možné vykonať tzv. genetické testy, ktorých podstatou je sledovanie prítomnosti predispozičných alel DQ2/DQ8, ich neprítomnosť vylučuje diagnózu celiakie na 99 % (Suchá a kol. 2015).

Rádiodiagnostické metódy

Rádiodiagnostické metódy slúžia ako doplnkové vyšetrenie, nepraktizujú sa rutinne, ale napomáhajú pri diferenciálnej diagnostike. Využíva sa hlavne denzitometrické vyšetrenie kostí a sonografia abdoménu (Suchá a kol. 2015).

Diferenciálna diagnostika

Diferenciálna diagnostika môže byť komplikovaná, hlavne u pacientov, u ktorých celiakia nie je sprevádzaná malnutríciou alebo maldigesciou. Je známe, že celiakia je asociovaná s radom iných ochorení. Napríklad mladá žena s častými gynekologickými ťažkosťami, problémami s otehotnením, prípadne až potratmi, môže mať skrytú celiakiu. U mladých ľudí s osteoporózou alebo častými zlomeninami je potrebné urobiť vyšetrenia na prítomnosť celiakie, taktiež aj u pacientov s Downovým a Turnerovým syndrómom alebo inými ochoreniami asociovanými s celiakiou (Klucho 2016).

2.8 Metabolomika v diagnostike celiakie

Metabolomika je definovaná ako komplexná analýza metabolitov v biologickej vzorke a patrí medzi novú technológiu so sľubnou budúcnosťou v diagnostickej praxi. Historicky sa veľmi malé množstvo metabolitov využívalo na diagnostiku komplexných metabolických chorôb, rovnako ako aj monogénnych porúch, ako sú vrodené chyby metabolizmu. Súčasné moderné metabolomické technológie presahujú rámec štandardných metód klinickej biochémie a sú schopné presnej analýzy stoviek až tisícov metabolitov. Vďaka tomu, metabolomika umožňuje podrobnú charakterizáciu metabolických fenotypov a umožňuje presnú identifikáciu na mnohých úrovniach, vrátane charakterizácie metabolických porúch, ktoré sú základom rôznych ochorení, rovnako tak umožňuje objavenie nových terapeutických cieľov (Clish 2015).

Dôvodom, pre ktorý sa čoraz častejšie lekári a vedci prikláňajú k stanovovaniu ochorení prostredníctvom metabolitov prítomných v moči, je ich veľké množstvo výhod, ktoré môžu poskytnúť, vrátane:

- Moč je vysoko prístupný typ vzorky, jeho odber je neinvazívny.
- Moč je sterilný, vylučovaný vo veľkých objemoch a vhodný na skladovanie.
- Moč má jednoduchšiu maticu a vyžaduje menšiu predúpravu vzoriek a priama analýza je ľahko prístupná (Burton a Ma 2019).

U pacientov postihnutých, okrem celiakie aj inými chronickými ochoreniami, ako napríklad diabetes mellitus typu II., Alzheimerová choroba, autizmus alebo psoriáza, možno pozorovať odlišný profil aminokyselín oproti profilu zdravých jedincov. Koncentrácie aminokyselín sa líšia aj v závislosti od veku pacienta. Napríklad, adolescenti s celiakiou a cukrovkou II. typu mali nižšie koncentrácie aminokyselín oproti zdravej kontrole, ale dospelí pacienti s rovnakými diagnózami ich mali zvýšené (Naluai a kol. 2018).

Je známe, že aminokyseliny ovplyvňujú bunkový metabolizmus a imunitu. Podľa štúdie Naluai a kol. (2018) existuje možné spojenie medzi extracelulárnou matrix a celiakiou. Práve extracelulárna matrix je zásobnou jednotkou pre niektoré aminokyseliny, ako napríklad prolín a hydroxyprolín, rovnako pre tie aminokyseliny, ktoré sú využívané ako zásoba energie pri hladovaní. Táto štúdia rovnako predpokladá, že aminokyseliny uvoľňované pri metabolizme gluténu sa podieľajú na signalizácii imunitného systému, a to nakoniec vedie k chronickému zápalu (Naluai a kol. 2018).

Tryptofán, esenciálna aminokyselina, predstavuje dôležitú úlohu v syntéze serotonínu a zároveň patrí medzi jeden z najdiskutovanejších faktorov, ktoré sa podieľajú na prepojení celiakie s psychiatrickými poruchami. Nedávne štúdie sa pokúsili vyhodnotiť význam tryptofánového katabolitu (TRYCAT) v prepojení celiakie a poruchami nálady pred a po nasadení bezlepkovej diéty. Sérové koncentrácie fenylalanínu, tyrozínu a tryptofánu boli podstatne nižšie u pacientov s celiakiou po bezlepkovej diéte, ale nie v spojení so symptómami pre depresívnu poruchu. Imunohistochemická analýza črevnej biopsie u pacientov s celiakiou potvrdila zvýšené hodnoty interleukínu 10, interferónu γ , indolamín 2,3-dioxygenázy a kynurenínu. Tieto výsledky viedli vedcov k záveru, že mechanizmy tryptofánového katabolizmu riadia imunitné odpovede pri celiakii (Cossu a kol. 2017).

V štúdií Stone a Darlington (2013) dokázali, že kynurenínová cesta tryptofánového metabolizmu je indukovaná imunologickou aktiváciou a stresom, a takisto potencuje účinky enviromentálnych faktorov na kogníciu a správanie. Aj napriek tomu, že mnohí z autorov identifikovali tryptofán ako centrálny faktor v patogeneze psychiatrických porúch v súvislosti s celiakiou, v súčasnosti tento fakt nevedol k žiadnym terapeutickým stratégiám, ktoré by mohli viesť k zlepšeniu zdravia pacientov (Cossu a kol. 2017).

Na základe štúdie Valles-Colomer a kol. (2019) bola identifikovaná mikrobiálna syntéza kyseliny 3,4-dihydroxyfenyloctovej (DOPAC) ako pozitívna korelácia s mentálnou kvalitou života a naznačila potenciálnu úlohu produkcie mikrobiálnej kyseliny γ -aminomaslovej pri depresii (Valles-Colomer a kol. 2019).

Berúc do úvahy, že oxidačný stres je zapojený do molekulárnych mechanizmov pri celiakii, si okrem bezlepkovej diéty vyžadujú pozornosť ako potenciálna doplnková terapia celiakie aj opatrenia zamerané na zníženie oxidačnej nerovnováhy, napríklad podávaním antioxidantov. Využitie kyseliny močovej pri diagnostike celiakie ako markera pre oxidačný stres a jej potenciálne terapeutické využitie ako antioxidantu, je v súčasnosti predmetom skúmania (Piatek-Guziewicz a kol. 2017).

3 Ciel' práce

Cieľom diplomovej práce bolo:

- spracovať všetky dostupné informácie týkajúce sa prejavov a možných foriem diagnostiky celiakie;
- zozbierať a štatisticky vyhodnotiť výsledky krvných testov dospelých pacientov s celiakiou v spolupráci s praktickým lekárom pre dospelých;
- využitie vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie ako neinvazívnej možnosti diagnostiky celiakie zo vzoriek moču získaných od dobrovoľníkov, porovnať so zdravými jedincami a štatisticky vyhodnotiť koncentrácie vybraných metabolitov;
- prostredníctvom dotazníka zistiť reálne prejavy, možnosti diagnostiky celiakie na Slovensku a výsledky štatisticky vyhodnotiť a porovnať s dostupnou literatúrou.

4 Metodika práce a metódy skúmania

Metodika experimentálnej časti diplomovej práce je rozdelená na tri časti.

4.1 Vyhodnotenie výsledkov krvných testov pacientov s celiakiou

Metodikou prvej praktickej časti diplomovej práce bolo zozbieranie anonymných výsledkov krvných testov od dospelých dobrovoľníkov z ambulancie praktického lekára pre dospelých v Košiciach. Výsledky krvných parametrov boli získané od mužov a žien s celiakiou vo veku 27 ± 4 , ktorí súhlasili s ich následným použitím a spracovaním anonymnou formou pre účely tejto diplomovej práce, pričom ich súhlas bol daný inou ako písomnou formou (ústne, prostredníctvom sociálnych sietí a pod.). Do výskumu boli zaradení aj pacienti s celiakiou, ktorých výsledky krvných parametrov nepreukázali odchýlky od fyziologických hodnôt. Zozbieraných bolo 51 výsledkov krvných testov (45 žien a 6 mužov), z ktorých jednotlivé parametre boli štatisticky vyhodnotené a porovnávané s dostupnou literatúrou. Parametre (ALT, AST, CRP, IgA, IgG, IgM, Fe, Hb, RBC, RDW, AGAA, AGAG, Anti-TTG), ktoré vykazovali výrazne odchýlky od fyziologických hodnôt a zohrávajú dôležitú úlohu z hľadiska diagnostiky, alebo naopak, nevykazovali očakávané výrazné zmeny hodnôt, sú znázornené graficky.

4.2 Metodika analýzy vzoriek moču pacientov s celiakiou

Metodikou druhej praktickej časti diplomovej práce bolo zozbieranie moču od dobrovoľníkov s diagnostikovanou celiakiou a zdravých dobrovoľníkov; kvalitatívne a kvantitatívne stanovenie vybraných metabolitov pomocou ultra-vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (UHPLC).

4.2.1 Vzorky moču

Získané vzorky boli od jedného muža a piatich žien vo veku od 20 do 25 rokov. Zdravú kontrolu predstavoval súbor 11 dobrovoľníkov rôzneho veku (od 20 do 35 rokov) a pohlavia bez prítomnosti chronických ochorení. Jednotlivé vzorky boli odobraté za štandardných podmienok (prvý ranný moč, stredný prúd). Moč bol pred analýzou testovaný diagnostickými prúžkami Dekaphan Leuco (Erba Lachema, Brno), pomocou ktorých boli stanovené: hustota, pH, dusitany, bielkoviny, glukóza, ketóny, urobilinogén, bilirubín a krv.

4.2.2 Použité chemikálie a reagensy

Kreatinín, kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová (DOPAC), kyselina homogentizová (HMG), tryptofán (TRP), indoxylsulfát (IS), kyselina 5-hydroxyindoloctová (5-HIAA), kyselina 3-indoloctová (3-IAA), kyselina kynurenová (KYNA), kyselina močová (KM) a kyselina mravčia boli zakúpené od firmy Sigma-Aldrich (USA). Metanol s HPLC kvalitou bol od firmy Fisher (Fisher Scientific UK Ltd, Loughborough, UK). Deionizovaná voda bola získaná z Centrálnej výroby vody pre UVLF v Košiciach. Použité zásobné roztoky kreatinínu, DOPAC, HMG, TRP, IS, 5-HIAA, 3-IAA, KYNA, KM boli pripravené v deionizovanej vode (1 mg/ml). Zásobný roztok kyseliny močovej o koncentrácii 1 mg/ml bol pripravený v metanole pre nízku rozpustnosť v deionizovanej vode.

4.2.3 Prístrojová charakteristika a podmienky analýzy

Kvalitatívne a kvantitatívne stanovenie metabolitov bolo uskutočnené pomocou UHPLC Dionex UltiMate 3000 RS (Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, USA). Jeho súčasťou je autosampler, inteligentná pumpa, detektor diódového poľa (DAD) a fluorescenčný detektor (FLD). Na analýzu bola použitá chromatografická kolóna Thermo Scientific AcclaimTM 120 C18 (Thermo Fisher Scientific, Germany) s dĺžkou 150 mm, vnútorným priemerom 3 mm, veľkosťou častíc 3 μm a veľkosťou pórov 120Å. Teplota kolóny bola regulovaná termostatom (37 °C) a presnosť nastavenia teploty bola $\pm 0,5$ °C. Namerané údaje boli vyhodnotené pomocou softvéru Chromeleon 7.2 Chromatography Data System.

DAD detekcia bola uskutočnená v rozsahu vlnových dĺžok 220, 230, 240, 280 nm. FLD detekcia bola uskutočnená pri excitačnej vlnovej dĺžke $\lambda_{\text{ex}} = 280$ nm a pri emisnej vlnovej dĺžke $\lambda_{\text{em}} = 350$ nm. Vzorky boli injektované v objeme 10 μL . Mobilná fáza bola zložená z vodnej fázy (obsahujúca 0,1 % kyseliny mravčiu, A) a metanol (B). Gradientové podmienky boli: 0 – 50 % B (0 – 20 min), 100 % A (20 – 25 min). Celkový čas analýzy bol 25 minút a rýchlosť prietoku 0,6 ml/min.

4.2.4 Predanalytická úprava vzoriek moču

Po odobratí boli vzorky moču uchovávané pri teplote -50°C. Pred samotnou analýzou boli rozmrazené a následne centrifugované (10 000 rpm, Eppendorf Centrifuge 5430, Germany), pri laboratórnej teplote 15 minút. Následne boli filtrované cez PVDF

(polyvinylidénfluorid) filtre s veľkosťou pórov 0,25 μm a zriedené mobilnou fázou A. Pre UHPLC analýzu bol použitý 15 % moč zriedený mobilnou fázou A.

4.2.5 Validácia metodiky

Prevedenie a realizácia metódy boli vyhodnotené z hľadiska presnosti, linearitu, limitu detekcie (LOD) a limitu kvantifikácie (LOQ). Pomocou série roztokov študovaných analytov so stúpajúcou koncentráciou v rozsahu 0,01 – 20 $\mu\text{g/ml}$ (pre KM: 50 – 400 $\mu\text{g/ml}$) boli získané kalibračné krivky. Každý analyt bol injektovaný dvakrát. Počet kalibračných bodov bol $n = 5$. Pomer signál/šum pre najnižší limit kvantifikácie (LOQ) bol 10 a pre najnižší limit detekcie (LOD) bol 3. Chromatografické a validačné parametre študovaných metabolitov získané detekciou DAD a FLD sú uvedené v tabuľke č. 2 a č. 3.

Tabuľka č. 2, Chromatografické a validačné parametre metabolitov získané detekciou DAD

Analyt	Retenčný čas (t_R , min)	Sklon	Korelačný koeficient (R^2)	Smerodajná odchýlka	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Výťažnosť (%)
Kreatinín	0,717	0,3889	0,9970	2,516	0,011	0,030	103,1
KM	1,720	0,0542	0,9848	2,070	60	180	100,8
HMG	4,750	0,2595	0,9962	10,224	0,010	0,030	102,6
DOPAC	6,917	0,6198	0,9997	0,080	13	40	97,9
KYNA	9,427	1,0333	0,9998	2,020	0,012	0,036	103,3

LOD – limit detekcie, LOQ – limit kvantifikácie, KM – kyselina močová, DOPAC – kyselina 3,4-dihydroxyfenoctová, KYNA – kyselina kynurenínová, HMG – kyselina homogentizová,

Zdroj: Vlastná tabuľka

Tabuľka č. 3, Chromatografické a validačné parametre metabolitov získané detekciou FLD

Analyt	Retenčný čas (t_R , min)	Sklon	Korelačný koeficient (R^2)	Smerodajná odchýlka	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Výťažnosť (%)
IS	6,752	183019,636	0,9993	3,922	0,015	0,045	101,8
Trp	7,485	241663,494	0,9990	4,980	0,012	0,035	99,0
5-HIAA	8,665	17127,705	0,9993	4,613	0,006	0,019	103,1
3-IAA	15,049	550159,407	0,9989	5,316	0,012	0,037	106,4

LOD – limit detekcie, LOQ – limit kvantifikácie, IS – indoxylsulfát, Trp – tryptofán, 5-HIAA – kyselina 5-hydroxyindolactová, 3-IAA – kyselina 3-indolactová

Zdroj: Vlastná tabuľka

4.3 Dotazníková metóda

Metodikou tretej praktickej časti bolo vypracovanie anonymného dotazníka, ktorý pozostával z piatich otázok zameraných na diagnostiku celiakie. Dotazník bol rozposlaný respondentom (pacientom) s diagnostikovanou celiakiou prostredníctvom sociálnej siete. Dotazník vyplnilo 216 respondentov (200 žien a 16 mužov) rôzneho veku. Frekvencia odpovedí bola vyhodnotená v percentách a graficky zaznamenaná. Výsledky boli následne porovnávané s dostupnou literatúrou.

4.4 Štatistická analýza

Výsledky všetkých troch častí experimentálnej časti diplomovej práce boli štatisticky vyhodnotené pomocou programu GraphPad PRISM pre Windows, verzia 5.0 (softvér GraphPad, Inc, La Jolla, CA). Výsledky krvných testov pacientov s celiakiou a dotazníková metóda boli vyhodnotené pomocou deskriptívnej štatistiky, ktorej základné parametre boli miera polohy (priemer, medián) a miera variability (variačné rozpätie a štandardná odchýlka). Údaje boli následne zobrazené do bodového grafu (výsledky krvných testov) a histogramu (dotazníková metóda).

Dáta získané z metabolomickej analýzy moču boli štatisticky vyhodnotené na základe testu normality Kolmogorov-Smirnov test a parametrického nepárového t-testu, ktorý sme zvolili na základe zistenej normálnej distribúcie dát. Hladina štatistickej významnosti bola $p < 0,05$.

5 Výsledky práce

5.1 Stanovenie významných parametrov v krvi celiatikov

V prvej praktickej časti diplomovej práce sme sa zamerali na výsledky krvných testov pacientov s celiakiou. Výsledky krvných testov od 51 pacientov (45 žien a 6 mužov) sa líšili v množstve stanovovaných parametrov vzhľadom na rozdielnu metodiku jednotlivých laboratórií, ktoré ich spracovali a vzhľadom na rozdielnu anamnézu pacienta. Súhrn stanovovaných parametrov a počet pacientov je uvedený v tabuľke č. 4.

Tabuľka č. 4, Súhrn stanovovaných parametrov v krvi celiatikov

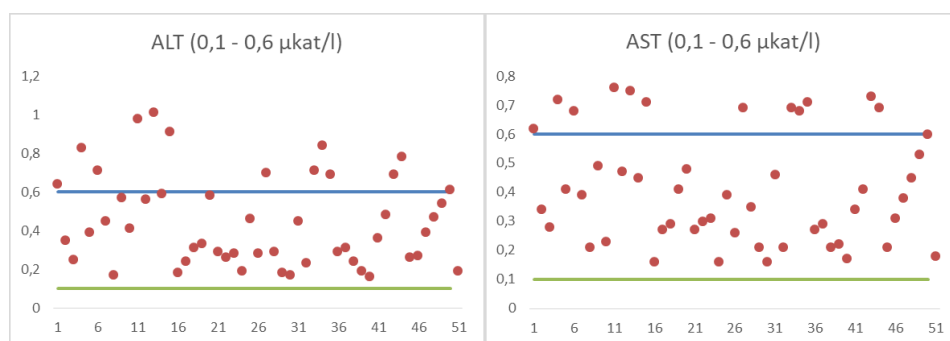
P	Glu	Urea	Kreat	KM	BIL	ALT	AST	AMS	ALP	GGT
n	51	22	26	24	32	51	51	35	39	40
FH	3,5-6,1 mmol/l	1,7-8,3 mmol/l	55,0- 115,0 umol/l	140,0 - 340,0 umol/l	5,0-25,0 umol/l	0,1-0,6 ukat/l	0,1-0,6 ukat/l	0,08-1,67 ukat/l	0,58- 1,74 ukat/l	0,06- 0,65 ukat/l
med	5,09	5,66	88,25	298,95	17,10	0,39	0,38	0,94	1,45	0,53
P	Na	K	Cl	Ca	CRP	Mg	Chol	Albumín	IgA	IgG
n	15	15	15	45	23	33	51	51	30	30
FH	135,0- 145,0 mmol/l	3,5-5,3 mmol/l	95,0- 108,0 mmol/l	2,1-2,6 mmol/l	1,0-8,0 mg/l	0,70- 0,91 mmol/l	3,8-5,2 mmol/l	35,0-52,0 g/l	1,04- 5,32 g/l	6,88- 15,45 g/l
med	139,0	4,10	101,0	2,41	13,5	0,85	4,67	48,20	2,15	13,21
P	IgM	Fe	AGAA	AGAG	TAG	Hb	RDW	Anti TTG	RBC	
n	30	51	51	51	51	51	32	51	30	
FH	0,33- 2,55 g/l	8,8-27,0 umol/l	0,8-1,2 IP	0,8-1,2 IP	0,67- 1,70 mmol/l	120,0- 180,0 g/l	11,5- 14,5 %	0,0-12,0 IU/ml	4,2- 5,4 x10e 12/L	
med	0,93	9,80	1,18	0,94	1,06	131,0	12,10	11,60	4,80	

n - počet pacientov, *P* - parameter, *FH* - fyziologická hodnota, *med* - median, *Glu* - glukóza, *Kreat* - kreatinín, *KM* - kyselina močová, *BIL* - bilirubín, *ALT* - alanínaminotransferáza, *AST* - aspartátaminotransferáza, *AMS* - α -amyláza, *ALP* - alkalická fosfatáza, *GGT* - γ -glutamyltransferáza, *Na* - Sodík, *K* - Draslík, *Cl* - Chloridy, *Ca* - Vápnik, *CRP* - C-reaktívny proteín, *Mg* - Horčík, *Chol* - Cholesterol, *IgA* - Imunoglobulín A, *IgG* - Imunoglobulín G, *IgM* - Imunoglobulín M, *Fe* - Železo, *AGAA* - protilátky proti gliadínu pre triedu IgA, *AGAG* - protilátky proti gliadínu pre triedu IgG, *TAG* - triacylglyceroly, *Hb* - hemoglobín, *RDW* - šírka distribúcie červených krviniek, *RBC* - objem červených krviniek, *Anti* - *TTG* - protilátky proti tkanivovej transglutamináze

Zdroj: Vlastná tabuľka

Z hľadiska diagnostiky medzi významné parametre celiakie patria pečeňové *transaminázy alanínaminotransferáza (ALT)* a *aspartátaminotransferáza (AST)*, ktorých fyziologické hodnoty sú v rozmedzí 0,1 – 0,6 $\mu\text{kat/l}$. U pacientov bola stanovená aj enzýmová aktivita *alkalickej fosfatázy (ALP)*, *α -amylázy (AMS)* a *γ -glutamyltransferázy (GGT)*. ALT a AST boli stanovované u všetkých 51 pacientov, na rozdiel od enzýmových aktivít ALP, AMS a GGT, ktoré boli stanovené len u 40 pacientov. Z dôvodu vyššieho počtu pacientov, ktorých hodnoty ALT a AST boli vyššie ako fyziologická hodnota, uvádzame ich grafické znázornenie (Graf č. 1). V prípade enzýmov ALP, AMS a GGT sme nezaznamenali výrazné odchýlky v porovnaní s fyziologickým rozmedzím. Z grafu možno vyčítať, že väčšina pacientov mala hodnoty ALT a AST vo fyziologickom rozmedzí. U šiestich pacientov boli hodnoty ALT pri hornej hranici t.j. 0,6 $\mu\text{kat/l}$. Najvyššia hodnota enzýmovej aktivity bola 1,01 $\mu\text{kat/l}$. Znížené hodnoty ALT neboli preukázané. Väčšina pacientov mali hodnoty koncentrácie AST vo fyziologickom rozmedzí, dvaja pacienti mali hraničné hodnoty t. j. 0,6 a 0,62 $\mu\text{kat/l}$. Jedenásť pacientov malo zvýšenú koncentráciu AST, pričom najvyššia dosahovala hodnotu 0,76 $\mu\text{kat/l}$. Znížené hodnoty AST neboli preukázané.

Graf č. 1, Grafické znázornenie hodnôt enzýmových aktivít ALT, AST u celiatikov. Os x predstavuje počet pacientov, os y predstavuje enzýmovú aktivitu ALT, AST ($\mu\text{kat/l}$). Zelená čiara znázorňuje dolnú hranicu a modrá hornú hranicu fyziologických hodnôt

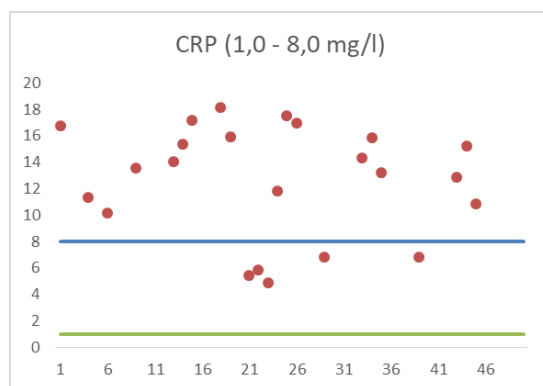


Zdroj: Vlastný graf

U 23 pacientov z celkového počtu 51 bol stanovený C-reaktívny proteín (CRP), ktorého fyziologické rozmedzie hodnôt koncentrácie v súlade s metodikou laboratórií je 1,0 – 8,0 mg/l. Hodnoty piatich pacientov sa nachádzali vo fyziologickom rozmedzí. Osemnásť pacientov malo zvýšené hodnoty C-reaktívneho proteínu. Najvyššia hodnota

bola 17,5 mg/l. Hodnoty pod fyziologickou hranicou neboli detegované. Grafické znázornenie hodnôt je uvedené na grafe č. 2.

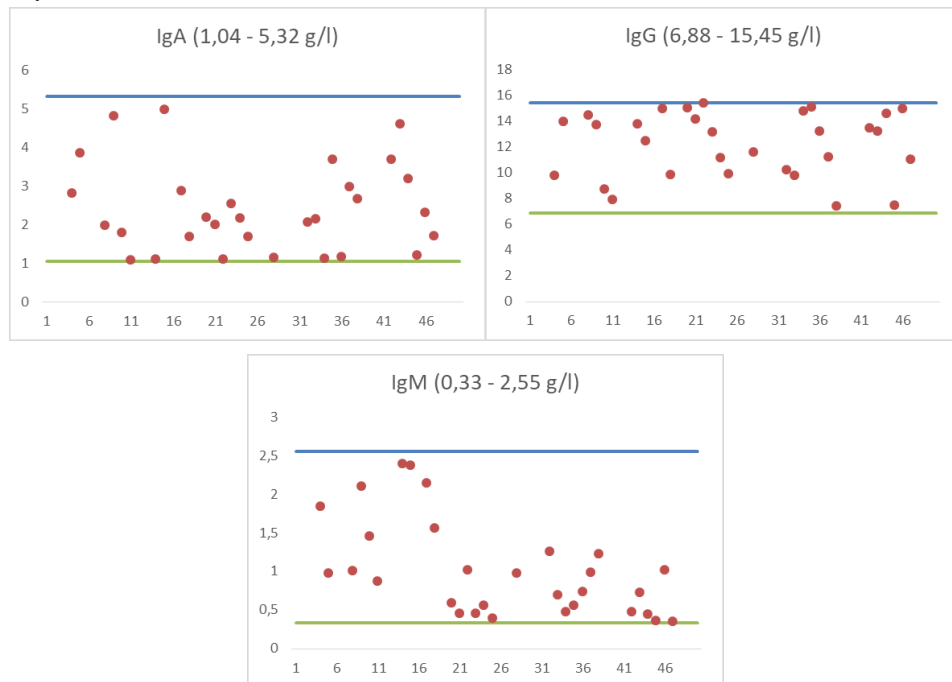
Graf č. 2, Grafické znázornenie hodnôt koncentrácie CRP v krvi celiatikov. Os x predstavuje počet pacientov, os y predstavuje koncentráciu C-reaktívneho proteínu (mg/l) v krvi. Zelená čiara znázorňuje dolnú hranicu a modrá čiara hornú hranicu fyziologických hodnôt



Zdroj: Vlastný graf

V krvi 30 pacientov boli sledované hodnoty imunoglobulínu A (IgA), imunoglobulínu G (IgG) a imunoglobulínu M (IgM). Parametre boli stanovované v jednotkách koncentrácie g/l. V súlade s metodikou laboratórií je fyziologické rozhranie pre IgA 1,04 – 5,32 g/l, pre IgG 6,88 – 15,45 g/l a pre IgM 0,33 – 2,55 g/l. Na základe grafického znázornenia (Graf č. 3) je vidieť, že hodnoty koncentrácie prislúchajúce IgA neprekročili hornú hranicu fyziologických hodnôt. U šiestich pacientov bola koncentrácia IgA na dolnej hranici fyziologických hodnôt. Hodnoty koncentrácie IgG sa nachádzali vo fyziologickom rozmedzí, ale u šiestich pacientov sa výrazne približovali k hornej hranici (15,45 g/l) fyziologických hodnôt. Koncentrácia IgM bola u všetkých 30 pacientov vo fyziologickom rozmedzí, pričom u troch pacientov bola na dolnej hranici (0,33 g/l) a u dvoch pacientov sa približovala k hornej hranici (2,55 g/l).

Graf č. 3, Grafické znázornenie hodnôt koncentrácie IgA, IgG a IgM v krvi celiatikov. Os x znázorňuje počet pacientov. Os y znázorňuje koncentráciu Ig (g/l) v krvi celiatikov. Modrá čiara predstavuje hornú hranicu a zelená čiara predstavuje dolnú hranicu fyziologických hodnôt



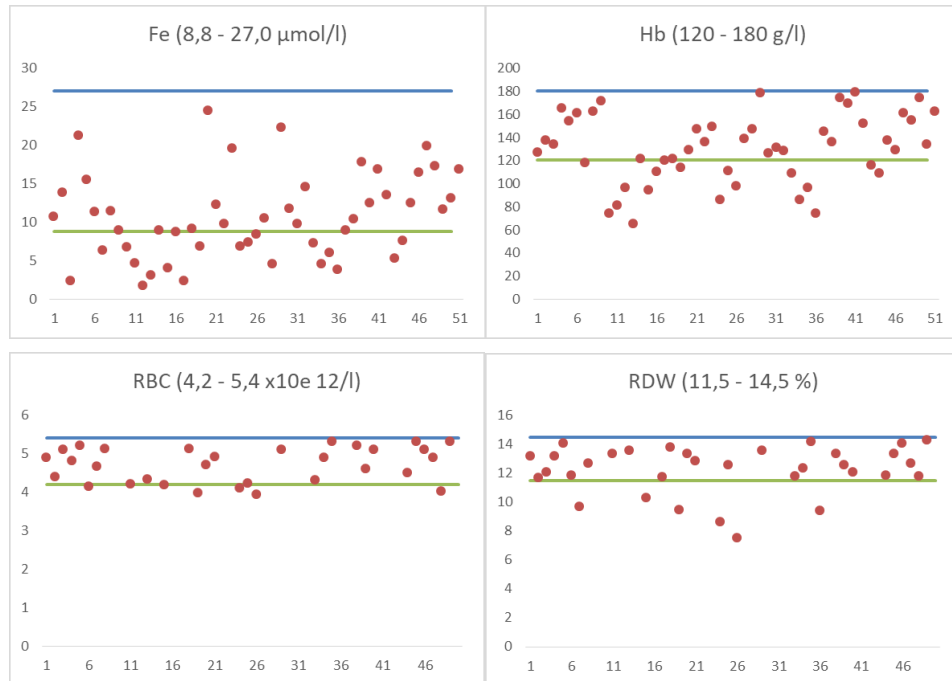
Zdroj: Vlastný graf

Medzi najdôležitejšie parametre v diagnostike celiakie patria železo (Fe) a hemoglobín (Hb), ktoré boli stanovené u všetkých 51 pacientov. V súlade s metodikou laboratórií je fyziologické rozhranie pre Fe 8,8 – 27,0 $\mu\text{mol/l}$ a Hb 120 – 180 g/l. Z grafu č. 4 vyplýva, že 18 pacientov mali hodnoty koncentrácie Fe výrazne znížené a 6 pacientov mali hodnoty na dolnej hranici (8,8 $\mu\text{mol/l}$). Horná hranica fyziologických hodnôt pre železo nebola prekročená ani u jedného pacienta. Ostatní pacienti mali hodnoty koncentrácie Fe v norme. Koncentrácia Hb bola u 16 pacientov výrazne znížená a u štyroch sa pohybovala na dolnej hranici (120 g/l). U ostatných pacientov bola koncentrácia v norme, z toho u dvoch sa pohybovala pri hornej hranici (180 g/l).

Ďalšími významnými parametrami v diagnostike celiakie sú celkový objem erytrocytov (RBC) a šírka distribúcie červených krviniek (RDW). Aj napriek významnosti týchto dvoch markerov, bola RDW stanovená len u 32 pacientov a RBC u 30 pacientov. V súlade s metodikou laboratórií je fyziologické rozhranie RBC 4,2 – 5,4 $\times 10^{12}/\text{l}$ a RDW 11,5 – 14,5 %. Na základe grafického znázornenia (Graf č. 4) možno zhodnotiť, že RBC bol u 4 pacientov znížený a u 6 pacientov dosahoval dolnú hranicu. Horná hranica

fyziologických hodnôt nebola prekročená ani u jedného pacienta. RDW bola u šiestich pacientov znížená a u troch pacientov dosiahla dolnú hranicu fyziologických hodnôt. U ostatných pacientov boli hodnoty vo fyziologickom rozmedzí.

Graf č. 4, Grafické znázornenie koncentrácie železa ($\mu\text{mol/l}$) a hemoglobínu (g/l), celkového objemu erytrocytov (10^6 l^{-1}) a šírky distribúcie červených krviniek. Os x znázorňuje počet pacientov a os y znázorňuje koncentráciu (šírku, objem). Zelená čiara predstavuje dolnú hranicu a modrá čiara hornú hranicu fyziologických hodnôt



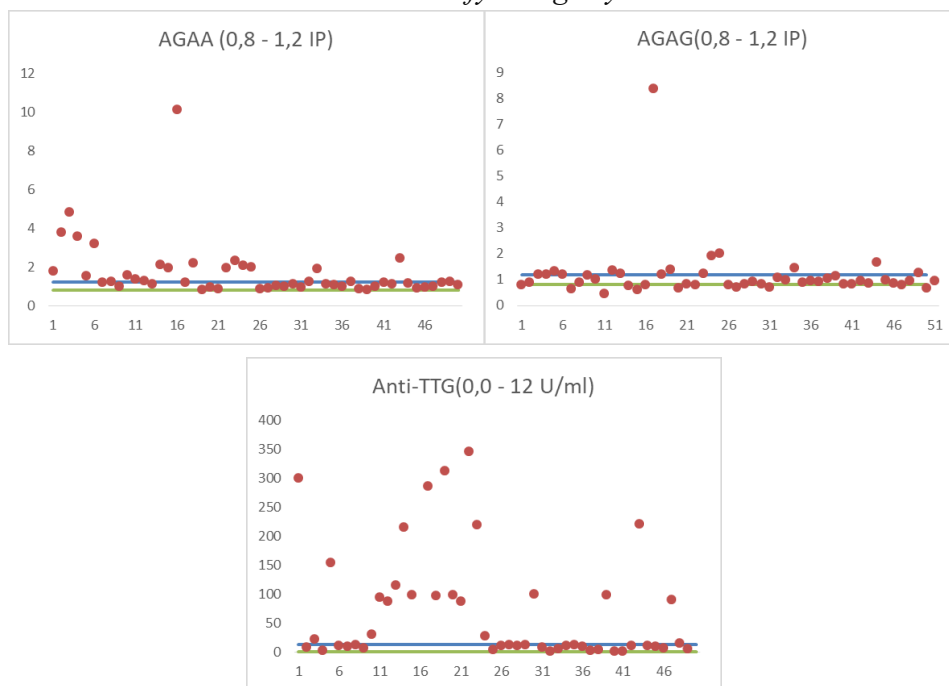
Zdroj: Vlastný graf

Najšpecifickejšími a najdôležitejšími parametrami v diagnostike celiakie sú protilátky proti gliadínu (AGAA, AGAG) a tkanivovej *transglutamináze*, ktoré boli stanovované u všetkých pacientov. Hodnoty protilátok proti gliadínu (anti-gliadín IgA a IgG) boli stanovené v jednotkách indexu pozitivity (IP) a hodnoty protilátok proti tkanivovej *transglutamináze* (anti-TTG) boli stanovené v jednotkách enzýmovej aktivity (U/ml). Fyziologické rozhrania v súlade s metodikou laboratórií boli pre AGAA a AGAG 0,8 – 1,2 IP a pre anti-TTG 0,0 – 12,0 U/ml. Z grafického znázornenia hodnôt (Graf č. 5) možno určiť, že index pozitivity pre protilátky proti gliadínu IgA (AGAA) boli u 23 pacientov zvýšené, u jedného pacienta dosiahli hodnotu až 10,1 IP (8-násobné zvýšenie). Dolná hranica hodnôt pre AGAA nebola prekročená. Index pozitivity pre protilátky proti gliadínu IgG (AGAG) bol u 15 pacientov zvýšený, avšak u jedného pacienta dosahoval

hodnotu až 8,41 IP (7-násobné zvýšenie). U 10 pacientov index pozitivity presiahol dolnú hranicu fyziologických hodnôt (0,8 IP), pričom najnižšia hodnota bola 0,453 IP.

Hodnoty enzýmovej aktivity pre protilátky proti tkanivovej *transglutamináze* IgA boli u 22 pacientov zvýšené. Najvyššia nameraná hodnota bola 345,8 U/ml. U ostatných pacientov bola enzýmová aktivita v norme.

Graf č. 5, Grafické znázornenie indexov pozitivity (IP) pre AGAA, AGAG a enzýmovej aktivity pre anti-TTG (U/ml). Os x znázorňuje počet pacientov a os y index pozitivity (IP) pre AGAA, AGAG a pre anti-TTG enzýmovú aktivitu (U/ml). Modrá čiara predstavuje hornú hranicu a zelená čiara dolnú hranicu fyziologických hodnôt



Zdroj: Vlastný graf

Okrem graficky znázornených parametrov boli stanovené aj ďalšie (Tabuľka č. 4), ktorých odchýlky boli nepatrné, a preto ich graficky neuvádzame. Napríklad glukóza stanovená u všetkých 51 pacientov bola vo väčšine prípadov vo fyziologickom rozmedzí (3,5 – 6,1 mmol/l), urea stanovená u 22 pacientov bola zvýšená (8,3 mmol/l) iba v dvoch prípadoch. Kreatinín, kyselina močová (KM) a celkový bilirubín ($\mu\text{mol/l}$) boli stanovené približne u polovice pacientov a vo väčšine prípadov nepresiahli fyziologickú hranicu. Nátrium, kálium a chloridy boli stanovené len u 15 pacientov a boli v referenčnom rozmedzí. Vápnik sa stanovil 45 pacientom a iba u jedného bola zaznamenaná znížená hodnota pod fyziologickú hranicu (2,1 mmol/l). Koncentrácia horčíka bola stanovená u 33

pacientov a u 4 pacientov bola koncentrácia mierne zvýšená (0,98 mmol/l). Fyziologické rozhranie pre horčík je (0,7 – 0,91 mmol/l). Koncentrácia albumínu (g/l) bola stanovená u všetkých 51 pacientov, z toho 9 pacientov mali hodnoty mierne zvýšené, ostatní mali hodnoty v norme (35,0 – 52,0 g/l). Cholesterol a triacylglyceroly (TAG) boli stanovené u všetkých pacientov. Koncentrácia cholesterolu bola vo väčšine prípadov v norme, v šiestich prípadoch bola mierne zvýšená a v štyroch mierne znížená. Hodnota TAG bola taktiež u väčšiny pacientov vo fyziologickom rozhraní, u 7 pacientov bola mierne zvýšená (1,7 mmol/l) a u 8 pacientov bola mierne znížená (0,68 mmol/l).

5.2 Metabolomický profil moču celiatikov pomocou UHPLC

Cieľom druhej praktickej časti diplomovej práce bolo kvalitatívne a kvantitatívne stanovenie kreatinínu, tryptofánu (TRP), kyseliny 5-hydroxyindolooctovej (5-HIAA), indoxylsulfátu (IS), kyseliny 3-indolooctovej (3-IAA), kyseliny kynurénovej (KYNA), kyseliny 3,4-dihydroxyfenyloctovej (DOPAC), kyseliny homogentizovej (HMG) a kyseliny močovej (KM) v moči dobrovoľníkov (pacientov) s celiakiou pomocou metódy UHPLC. Všetky študované metabolity sa prirodzene nachádzajú v moči za fyziologického a/alebo patologického stavu. Prehľad fyziologických hodnôt pre jednotlivé metabolity v moči oboch pohlaví nad 18 rokov je uvedený v prílohe 1.

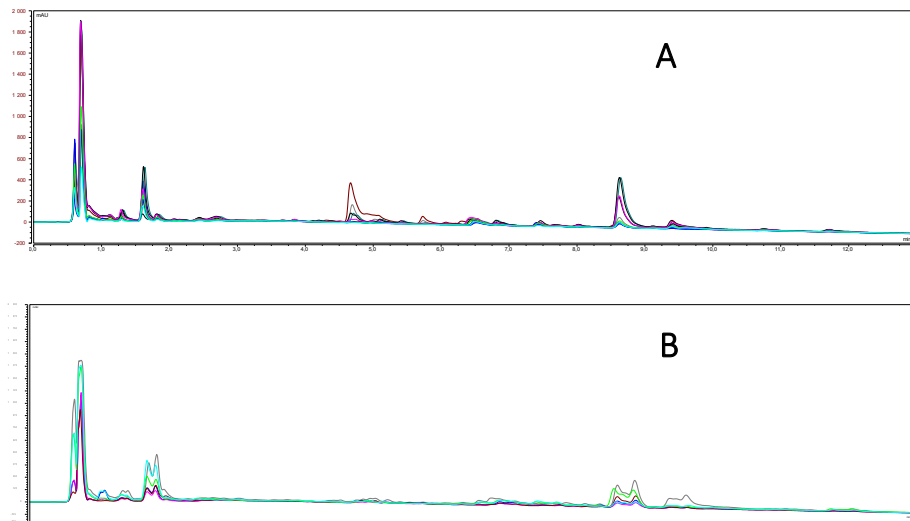
Chromatografické záznamy získané pomocou použitej chromatografickej metódy vykazovali dobrú separáciu a chromatografický záznam zaznamenaný pomocou sériovo zapojených detektorov DAD a FLD vizualizoval rozlíšenie deviatich študovaných štandardov v matrici moču.

V našej štúdií sme analyzovali 6 vzoriek močov získaných od dobrovoľníkov s diagnostikovanou celiakiou a 11 vzoriek močov zdravých dobrovoľníkov. Presnosť analýzy vzoriek močov bola podmienená ich duplicitou. Kreatinín, TRP, 5-HIAA, IS, 3-IAA, KYNA, DOPAC, HMG boli detegované pomocou DAD pri 220 nm, KM bola detegovaná pri vlnovej dĺžke 280 nm z dôvodu získania maximálnej absorbancie. Signály analytov kreatinín, KM, HMG, DOPAC, KYNA boli vyhodnotené pomocou detekcie DAD a signály analytov IS, Trp, 5-HIAA, 3-IAA pomocou detekcie FLD, z dôvodu lepšej detekcie aj pri ich veľmi nízkych koncentráciách.

Na vizuálne porovnanie signálov jednotlivých metabolitov v moči dobrovoľníkov s celiakiou a zdravej kontroly uvádzame chromatogramy zaznamenané detekciou DAD a FLD (Obrázok č. 3 a č. 4). Na chromatografických záznamoch sú evidentné rozdiely v

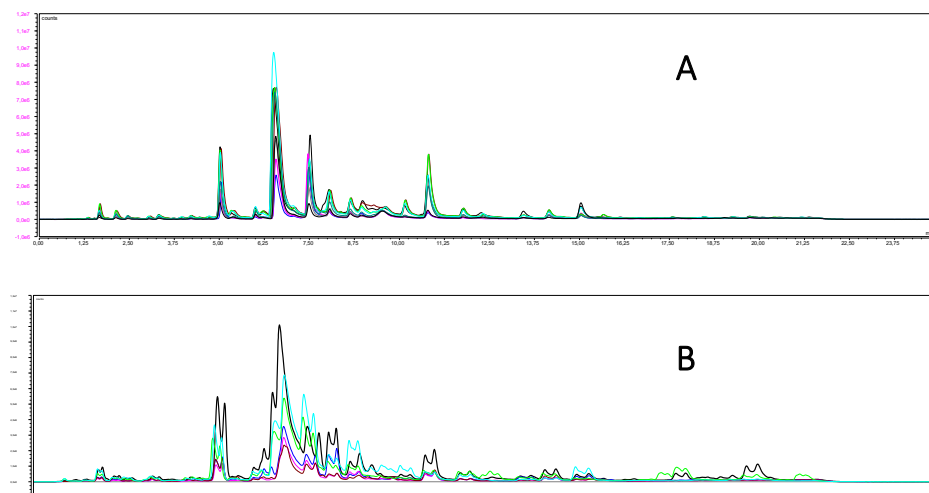
určitých charakteristických oblastiach medzi súborom močov celiatikov a súborom zdravej kontrolnej skupiny.

Obrázok č. 3, Chromatogram súboru močov dobrovoľníkov A) zdravej kontrolnej skupiny B) s celiakiou detegovaný pomocou DAD. Chromatografický záznam vyjadruje závislosť intenzity signálu (mAu, os y) od retenčného času (min, os x)



Zdroj: Vlastný obrázok

Obrázok č. 4, Chromatogram súboru močov dobrovoľníkov A) zdravej kontrolnej skupiny B) s celiakiou detegovaný pomocou FLD. Chromatografický záznam vyjadruje závislosť intenzity fluorescence (counts) od retenčného času (min, os x)



Zdroj: Vlastný obrázok

Na štatistické vyhodnotenie dát oboch študovaných skupín dobrovoľníkov bol použitý parametrický nepárový t-test (Tabuľka č. 5). HMG s hladinou významnosti $p < 0,001$, KM a DOPAC s $p < 0,001$ a KYNA s hladinou významnosti $p < 0,01$ boli vyhodnotené ako signifikantne najvýznamnejšie z pohľadu neinvazívnej diagnostiky metabolického profilu moču celiatikov. Grafické znázornenie koncentrácie všetkých metabolitov sú znázornené na obrázku č. 5. Koncentrácia HMG v moči bola podstatne zvýšená u väčšiny dobrovoľníkov s celiakiou (priemer 12,5 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu) oproti zdravej kontrolnej skupine (priemer 2,1 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu). Hodnoty KM v moči boli u všetkých šiestich dobrovoľníkov s celiakiou tiež podstatne zvýšené. Priemerná hodnota KM v moči dobrovoľníkov s celiakiou bola 1150 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu. Hodnoty KM zdravej kontroly boli v rozsahu fyziologických hodnôt a priemerná hodnota bola 280 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu. V celom súbore dobrovoľníkov ($n = 6$) sme zaznamenali výrazne zvýšené hodnoty DOPAC v moči (priemer 10,9 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu) v porovnaní s kontrolnou skupinou (priemer 1,7 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu). Priemerná hodnota koncentrácie KYNA v moči dobrovoľníkov 4,9 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu bola vyššia oproti zdravej kontrole 0,2 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu.

Tabuľka č. 5, Štatistické vyhodnotenie nepároveho t-testu metabolitov v moči dobrovoľníkov s diagnostikovanou celiakiou oproti zdravej kontrolnej skupine

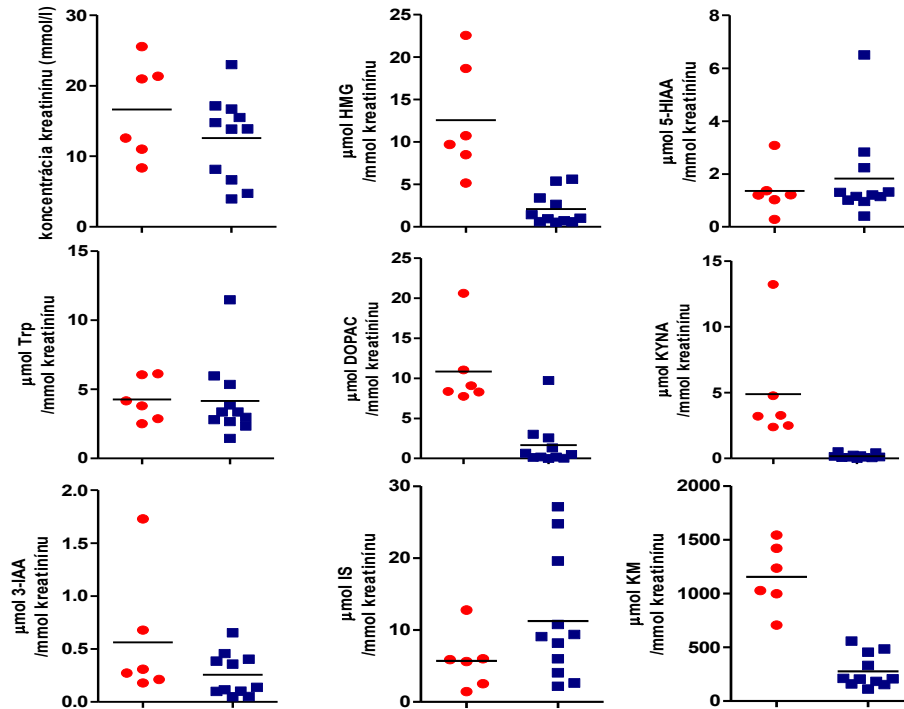
Metabolity	Nepárový t-test <i>p</i> - hodnoty
HMG	0,0002 ***
DOPAC	0,0002 ***
KM	0,0001 ***
KYNA	0,0016 **
Trp	0,9289
5-HIAA	0,5435
Kreatinín	0,2222
IS	0,1643
3-IAA	0,1342

$p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **, $p < 0,001$ ***

HMG – kyselina homogentizová, DOPAC – kyselina 3,4-dihydroxyfenoctová, KM – kyselina močová, KYNA – kyselina kynurénová, Trp – Tryptofán, 5-HIAA – kyselina 5-hydroxyindoloctová, IS – indoxylsulfát, 3-IAA – kyselina 3-indoloctová

Zdroj: Vlastná tabuľka

Obrázok č. 5, Grafické znázornenie nameranej koncentrácie jednotlivých metabolitov v moči pacientov s celiakiou vs. zdravá kontrola v $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu. Červená hviezdička predstavuje dobrovoľníkov s celiakiou a modrý štvorec kontrolnú skupinu



Zdroj: Vlastný obrázok

Štatistická analýza nepotvrdila signifikanciu pre metabolity 5-HIAA, Trp, 3-IAA a IS. Ich hodnoty koncentrácie boli porovnateľné s hodnotami zdravej kontrolnej skupiny a nachádzali sa vo fyziologickom rozmedzí (Obrázok č. 5).

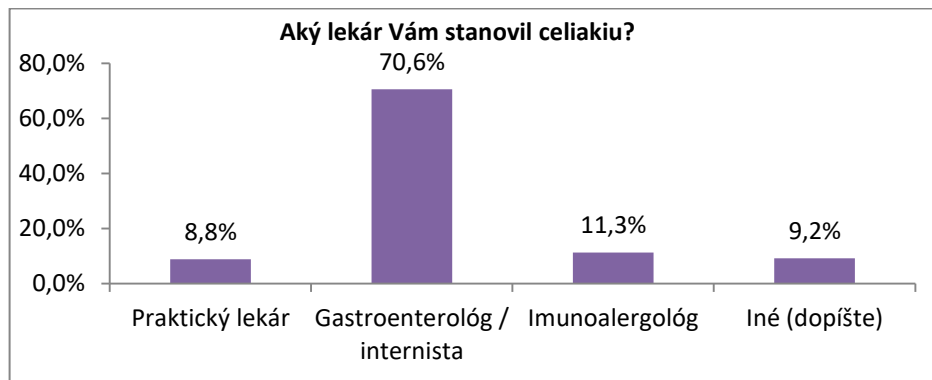
5.3 Výsledky dotazníkovej metódy zameranej na súčasnú diagnostiku celiakie

V tretej praktickej časti diplomovej práce sme vypracovali dotazník (Príloha 2) pozostávajúci z piatich otázok zameraných na diagnostiku celiakie. Dotazník vyplnilo 216 respondentov (200 žien a 16 mužov) s diagnostikovanou celiakiou.

Prvá otázka v dotazníku je orientovaná na špecializáciu lekára, ktorý stanovil pacientovi celiakiu. Na otázku odpovedalo 216 respondentov. Otázka mala štyri možnosti odpovede, tri uzavreté a jedna otvorená s možnosťou dopísať vlastnú odpoveď. Percentuálne výsledky znázorňuje graf č. 6. 8,8 % respondentov uvádza, že im celiakiu stanovil praktický lekár. 70,6 % opýtaných respondentov označilo, že im celiakiu stanovil gastroenterológ, prípadne internista. Imunoalergológ stanovil celiakiu u 11,3 % opýtaných

respondentov. Možnosť iné si vybralo 9,2 % respondentov, z toho 36,3 % uviedlo, že im celiakiu stanovil dermatovenerológ, u 9,1 % to bol hepatológ a hematológ stanovil celiakiu u 9,1 %. Odpovede infektológ, endokrinológ a diabetológ sa v dotazníku objavili iba jedenkrát. 13,6 % odpovedí “iné“ nebolo možné použiť, pacienti v nich uviedli iba pojem nemocnica, diagnostická klinika, lekár alebo neviem.

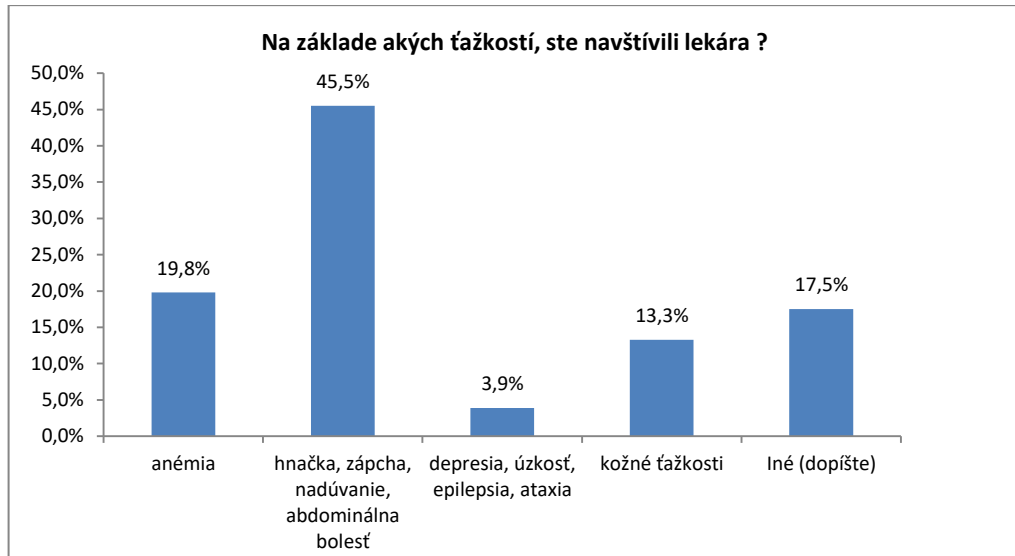
Graf č. 6, Grafické znázornenie prvej otázky v dotazníku. Os x predstavuje jednotlivé možnosti pre označenie respondentom. Os y predstavuje percentuálne vyjadrenie počtu respondentov, ktorí danú možnosť označili



Zdroj: Vlastný graf

Druhá otázka v dotazníku bola zameraná na zistenie, z akého dôvodu respondenti navštívili lekára. Na otázku odpovedalo 216 respondentov. Otázkou tvorilo 5 odpovedí, z toho 4 uzavreté a 1 otvorená s možnosťou dopísať vlastnú odpoveď. 19,8 % respondentov označilo, že pred diagnostikou trpeli anémiou. Percentuálne zhodnotenie výsledkov zobrazuje graf č. 7. U 45,5 % sa prejavila hnačka, zápcha, nadúvanie a abdominálna bolesť. Depresiu, úzkosť, epilepsiu, prípadne ataxiu označilo 3,9 % respondentov. 13,3 % navštívilo lekára s kožnými ťažkosťami. Odpoveď “iné“ si vybralo 17,5 % respondentov, kde uviedli ako odpoveď prítomné afty, bolesti svalov a kĺbov, únavu, stratu hmotnosti, erektilnú dysfunkciu, bolesti hlavy, silnú peľovú alergiu, diabetes, pozastavený rast, alopeciu areatu, chronickú bolesť hrdla, opuch dutín, apatia, neplodnosť, zvýšene hodnoty hepatálnych *transamináz*, bolesti chodidiel, prípadne výskyt celiakie v rodine.

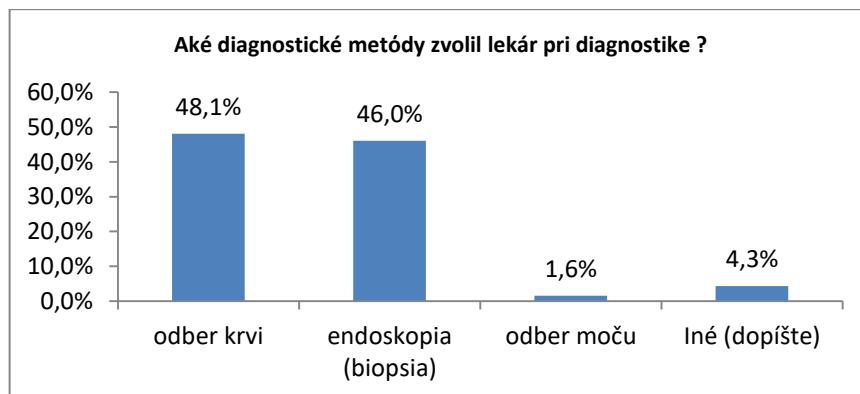
Graf č. 7, Grafické znázornenie druhej otázky v dotazníku. Os x predstavuje možnosti pre označenie respondentom. Os y predstavuje percentuálne vyjadrenie počtu respondentov, ktorí danú možnosť označili



Zdroj: Vlastný graf

Cieľom tretej otázky bolo zistiť, aké diagnostické postupy zvolil lekár pri diagnostike celiakie. Na otázku odpovedalo 216 respondentov. Otázku tvorili štyri odpovede, z toho tri uzavreté a jedna otvorená s možnosťou dopísania vlastnej odpovede.

Graf č. 8, Grafické znázornenie tretej otázky v dotazníku. Os x predstavuje možnosti pre označenie respondentom. Os y predstavuje percentuálne vyjadrenie počtu respondentov, ktorí danú možnosť označili



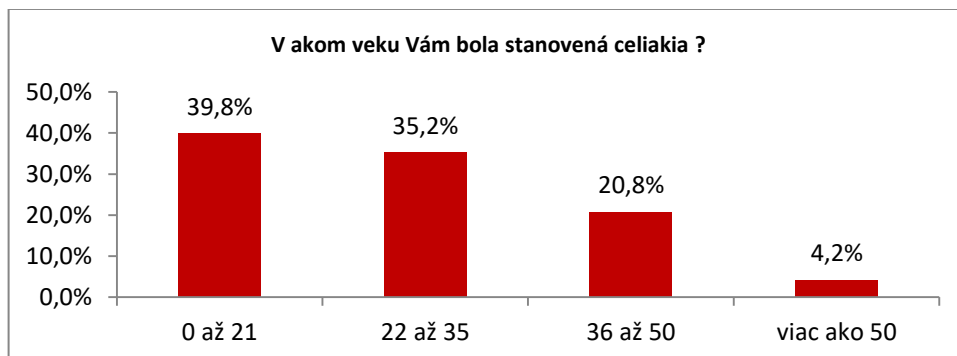
Zdroj: Vlastný graf

Najčastejšia diagnostická metóda bola odber krvi. Túto možnosť označilo až 48,1 % respondentov s celiakiou. Druhou najčastejšou odpoveďou bola endoskopia s biopsiou. Túto možnosť označilo 46 % respondentov. Možnosť odber moču vybralo len 1,6 %

respondentov. Možnosť iné označilo 4,3 % respondentov, z toho 12,5 % dopísalo ako spôsob diagnostiky celiakie odber stolice. Ďalších 12,5 % dopísalo odber kože. Medzi odpoveďami, ktoré sa vyskytli iba raz, boli vyšetrenie spermií, genetické testy, počítačová tomografia (CT), magnetická rezonancia (MR) a kolonoskopické vyšetrenie. Grafické znázornenie tretej otázky predstavuje graf č. 8.

Štvrtá otázka bola zameraná na vek respondenta v čase stanovenia celiakie. Na otázku odpovedalo všetkých 216 respondentov. Otázka sa skladala zo štyroch uzavretých odpovedí (Graf č. 9). Najčastejšie (39,8 %) respondenti uvádzali, že im bola celiakia diagnostikovaná v detstve, prípadne v rannej dospelosti (0 až 21 rokov). Druhou najčastejšou odpoveďou bola dospelosť (22 až 35 rokov). 20,8 % respondentov uviedlo, že im celiakia bola stanovená medzi 35 a 50 rokom života. Stredný vek označilo 4,2 % respondentov.

Graf č. 9, Grafické znázornenie štvrtej otázky v dotazníku. Os x predstavuje možnosti pre označenie respondentom. Os y predstavuje percentuálne vyjadrenie počtu respondentov, ktorí danú možnosť označili

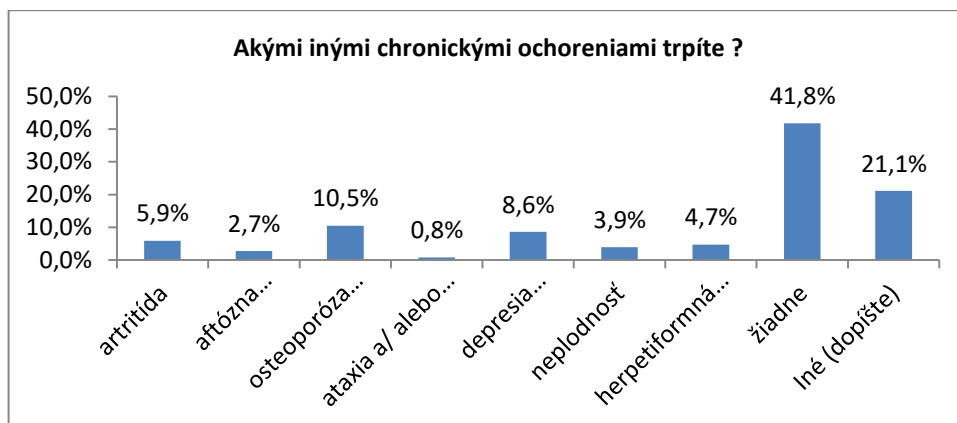


Zdroj: Vlastný graf

Účelom piatej otázky bolo zistiť, akými inými chronickými ochoreniami trpia respondenti s celiakiou. Na otázku odpovedalo 216 respondentov. Otázka sa skladala z 9 odpovedí (Graf č. 10). Osem odpovedí bolo uzavretých a jedna otvorená s možnosťou dopísať vlastnú odpoveď. Na základe grafického znázornenia (Graf č. 10) 41,8 % respondentov uviedlo, že netrpia inými chronickými ochoreniami. 10,5 % označilo odpoveď osteoporóza alebo osteopénia. Artritídou trpí 5,9 % respondentov. Odpoveď aftózna stomatitída označilo 2,7 % respondentov s celiakiou. Na základe dotazníka 0,8 % opýtaných celiatikov trpí ataxiou alebo epilepsiou, prípadne oboma ochoreniami naraz. 8,6 % celiatikov trpí depresiou a (alebo) úzkosťou. Neplodnosť ako ďalšie chronické

ochorenie označilo 3,9 % respondentov. 4,7 % respondentov označilo, že trpí herpetiformnou dermatitídou. Otvorenú odpoveď s možnosťou dopísania iných chronických ochorení vybralo 21,1 % respondentov. Z toho 32,7 % uviedlo, že trpí ochorením diabetes mellitus, 27,3 % respondentov uviedlo, že okrem celiakie trpí astmou, ďalšou najčastejšou odpoveďou (11,8 %) bola hypofunkcia štítnej žľazy. Medzi menej časté odpovede uviedli respondenti aj erektilnú dysfunkciu, alopeciu areatu, psoriázu, oslabenú imunitu, histamínovú intoleranciu, krčové žily, ulceróznu kolitídu a Crohnovu chorobu.

Graf č. 10, Grafické znázornenie piatej otázky v dotazníku. Os x predstavuje možnosti pre označenie respondentom. Os y predstavuje percentuálne vyjadrenie počtu respondentov, ktorí danú možnosť označili



Zdroj: Vlastný graf

6 Diskusia

Teoretická časť tejto diplomovej práce bola zameraná na charakteristiku diagnostiky celiakie pomocou špecifických a menej špecifických symptómov, na charakteristiku diagnostických postupov na Slovensku a využitia metabolomiky ako možnosť diagnostiky celiakie.

Okrem histologického vyšetrenia črevnej sliznice, ktoré má kľúčový význam v diagnostike celiakie, majú dôležitú úlohu v podpornej diagnostike aj laboratórne vyšetrenia. V krvnom obraze pacienta s celiakiou možno sledovať hypokalémiu, hypomagnezémiu a hypokalcémiu, hypoalbuminémiu, hyposiderémiu, zvýšené hodnoty pečenej *transamináz* (ALT > AST) a *alkalickej fosfatázy* (ALP). Je prítomná aj hypovitaminóza kyseliny listovej a vitamínu B₁₂ (Pekárková a kol. 2009).

Jedným z cieľov predkladanej práce bolo vytvoriť súbor zozbieraných výsledkov krvných testov od dospelých pacientov vo veku 27 ± 4 s celiakiou, štatisticky ich vyhodnotiť a zároveň, priblížiť širokej verejnosti prehľad o stanovovaných parametroch v krvi celiatikov na Slovensku, v porovnaní so súčasnou dostupnou literatúrou. Vyhodnotených bolo 51 výsledkov krvných testov získaných od mužov ($n = 6$) a žien ($n = 45$). Výsledky deskriptívnej štatistiky ukázali, že koncentrácia draslíka, vápnika a horčíka bola u takmer všetkých pacientov vo fyziologickom rozmedzí. Táto skutočnosť nekoreluje s vyššie uvedeným tvrdením (Pekárková a kol. 2009), že pre pacientov s celiakiou je charakteristická hypokalémia, hypokalcémia a hypomagnezémia. Výsledky našej štúdie ukázali, že asi jedna tretina pacientov mala zvýšené hodnoty enzýmových aktivít pre AST, ALT a ALP, čo úplne nekorelovalo s dostupnou literatúrou Pekárková a kol. (2009), Kluchó (2016) a Suchá a kol. (2015), ktorí vo svojich prácach uvádzajú, že hodnoty enzýmových aktivít pre ALT, AST a ALP sú u pacientov s celiakiou zvýšené. Hodnoty koncentrácie albumínu všetkých pacientov boli v norme, čo v našom prípade opäť nekorelovalo s dostupnou literatúrou Pekárková a kol. (2009). Súčasná dostupná literatúra neuvádza priamu súvislosť medzi celiakiou a enzýmovými aktivitami AMS a GGT, ktoré boli v našej štúdii vo väčšine prípadov vo fyziologickom rozmedzí.

Halfdanarson a kol. (2007), Leffler a kol. (2015), Freeman (2015), rovnako aj Pekárková a kol. (2009), Kluchó (2016) a Suchá a kol. (2015) uvádzajú vo svojich štúdiách, že pacienti s celiakiou trpia anémiou hlavne z nedostatku železa, vitamínu B₆, B₉ a B₁₂. Štatistická analýza krvného obrazu potvrdila, že takmer polovica pacientov mala výrazne znížené koncentrácie železa (5,07 $\mu\text{mol/l}$) v krvi oproti referenčným hodnotám

(8,8 – 27,0 umol/l). Vzhľadom na to, že teória uvádza, že sa v krvi pacientov s celiakiou stanovujú aj koncentrácie vitamínov B₆, B₉ a B₁₂, v praxi sa tieto parametre nestanovujú, preto v tejto práci nie je možné zaujať stanovisko k tvrdeniu, že pacienti s celiakiou trpia anémiou s nedostatku vitamínov B₆, B₉ a B₁₂ (Halfdanarson a kol. 2007).

CRP, ako zápalový marker, ktorý sa stanovuje prevažne u pacientov s Crohnovou chorobou (Peyrin-Biroulet a kol. 2014), bol stanovený približne u polovice pacientov s celiakiou a vo väčšine prípadov boli hodnoty zvýšené (13,5 mg/l) oproti fyziologickým (1,0 – 8,0 mg/l). Tento fakt koreluje so štúdiou Warji a kol. (2015), ktorí vo svojej štúdii poukazujú na súvislosť medzi reumatoidnou artritídou a celiakiou. Lewis a kol. (2009) vo svojej práci uvádzajú, že neliečení, prípadne novodiagnostikovaní pacienti s celiakiou majú hodnoty celkového cholesterolu znížené. Výsledky našej štúdie preukázali znížené koncentrácie celkového cholesterolu iba u 4 pacientov, u väčšiny pacientov boli hodnoty v norme, prípadne zvýšené. Tortora a kol. (2015) vo svojej štúdii pojednávajú aj o koncentráciách TAG u novodiagnostikovaných pacientov, u ktorých nezaznamenali výrazné zvýšenie, prípadne zníženie hodnôt. Výsledky našej štúdie nezaznamenali výrazné odchýlky koncentrácií TAG od fyziologických hodnôt.

RDW a RBC patria medzi významné parametre v modernej diagnostike celiakie. Štúdie Sategna Guidetti a kol. (2002), Guglielmi a kol. (2002) a Balaban a kol. (2015) uvádzajú, že hodnoty RDW sú u pacientov s celiakiou zvýšené alebo v norme. Výsledky deskriptívnej štatistiky ukázali, že hodnoty RDW boli u väčšiny pacientov vo fyziologickom rozmedzí a 6 pacienti mali znížené hodnoty. Zníženie hodnôt RDW je veľmi neobvyklé a môže signalizovať ochorenie pečene, sleziny, prítomnosť onkologického ochorenia, pooperačné obdobie, hormonálnu úpravu, nedostatok vitamínov skupiny B, metabolické poruchy, stratu krvi, konzumáciu drog pred odberom, tiež užívanie perorálnych kontraceptív spôsobí výrazné odchýlky na spodnej hranici (RDW CV a RDW SV v krvnom teste nedatované). Vzhľadom na to, že posudzované pacientky boli prevažne mladé ženy, užívanie perorálnych kontraceptív nie je vylúčené. Zníženie objemu červených krviniek (RBC) je u celiatikov časté a výrazne ovplyvnené nedostatkom kyseliny listovej, vitamínu B₁₂, železa a poruchami pečene a sleziny, ktoré sú pre toto ochorenie charakteristické (Turea 2020). Výsledky našej štúdie súhlasili s týmto tvrdením, pretože hodnoty RBC boli znížené, prípadne boli vo fyziologickom rozmedzí. Znížené hodnoty hemoglobínu v dôsledku anémie sú pre celiakiu typické (Rojas 2018), čo

potvrďujú aj naše výsledky, ktoré ukázali u takmer polovice pacientov znížené, prípadne hraničné hodnoty koncentrácie.

Pacienti s celiakiou majú 10 až 15-násobne vyššiu prevalenciu deficitu imunoglobulínu A (IgA) oproti bežnej zdravej populácii (Kruzliak a Bhagat 2012). Viac ako u polovice pacientov bola stanovená koncentrácia IgA v krvi, ktorej hodnoty sa pohybovali vo fyziologickom rozmedzí, rovnako ako hodnoty IgG a IgM.

Medzi základnú diagnostiku celiakie patria aj sérologické testy, pri ktorých sa odporúča vyšetriť protilátky proti tkanivovej *transglutamináze* (Anti-TTG) a protilátky proti endomýziu (EMA) pre triedu IgA. Menej odporúčané pre svoju nižšiu špecificitu a senzitivitu, ale často využívané je vyšetrenie protilátok proti gliadínu pre triedu IgA a IgG (Pekárková a kol. 2009, Kruzliak a Bhagat 2012). Výsledky našej štúdie korelujú s týmto tvrdením, u všetkých 51 pacientov boli stanovené protilátky proti gliadínu pre triedu IgA a IgG a protilátky proti tkanivovej *transglutamináze* pre triedu IgA, avšak protilátky proti endomýziu neboli stanovené ani u jedného pacienta vo vzorke sledovaných.

Okrem vyššie uvedených parametrov boli v krvi stanovené aj ďalšie parametre a to: bilirubín, glukóza, urea a kreatinín, ktoré z hľadiska diagnostiky celiakie majú význam u pacientov so sekundárnymi ochoreniami, ako napríklad dna, diabetes mellitus a pod. Hodnoty týchto parametrov boli u väčšiny pacientov v norme.

Ďalším cieľom diplomovej práce bolo štúdium metabolického profilu moču dobrovoľníkov s celiakiou (n = 6) oproti zdravej kontrolnej skupine (n = 11) využitím UHPLC, ako možnosť neinvazívnej diagnostiky celiakie. Kvantitatívnou analýzou boli v moči stanovené kreatinín, kyselina močová, tryptofán a jeho metabolity 5-HIAA, KYNA, IS, 3-IAA a tyrozínové vybrané metabolity DOPAC, HMG.

Dodd a kol. (2017) vo svojej štúdií uvádzajú, že aminokyseliny fenylalanín, tyrozín a tryptofán slúžia ako substráty pre špecifické medziprodukty vytvorené ľudskou črevnou mikrobiotou. V našej štúdií sme predpokladali zmeny v metabolizme týchto aminokyselín pri celiakii, keďže je to ochorenie s prítomnými zmenami na sliznici tenkého čreva. Je známe, že u dospelých celiatikov s pridruženými chronickými ochoreniami, ako je diabetes mellitus II. typu, Alzheimerová choroba, autizmus alebo psoriáza, sú hodnoty aminokyselín zvýšené oproti zdravej kontrole a ovplyvňujú bunkový metabolizmus a imunitu (Naluai a kol. 2018). V našej štúdií sme štatistickou analýzou potvrdili signifikantnosť kyseliny homogentizovej ($p < 0,001$), ktorej koncentrácie podľa súčasnej

literatúry majú význam skôr pri ochronóze (Hughes a kol. 2014). Predpokladáme, že zvýšené hodnoty HMG, ktorá je metabolitom tyrozínu, signalizujú zmeny v metabolizme tejto aminokyseliny u pacientov s celiakiou.

Leffler a kol. (2015) uvádza, že depresia, apatia a iné behaviorálne zmeny sú symptómami pri celiakii. Na základe štúdie Valles-Colomer a kol. (2019), ktorá identifikovala mikrobiálnu syntézu DOPAC ako pozitívnu koreláciu s mentálnou kvalitou života, taktiež s depresiou, sme predpokladali zmeny v hodnotách DOPAC u celiatikov. Výsledky štatistickej analýzy ($p < 0,001$) potvrdili náš predpoklad .

Mechanizmy tryptofánového katabolizmu riadia imunitné odpovede pri celiakii, konkrétne kynurenínová cesta tryptofánového metabolizmu je indukovaná imunologickou aktiváciou a stresom (Cossu a kol. 2017). KYNA, ktorá je metabolitom kynurenínu v kynurenínovej ceste, bola v našej štúdií vyhodnotená ako štatisticky významná ($p < 0,01$). Tieto výsledky korelujú so štúdiou Cossu a kol. (2017), kde poukazujú na zvýšené metabolity tryptofánového metabolizmu u pacientov s celiakiou, a teda sa podieľajú na imunitných odpovediach pri celiakii. Hodnoty samotného tryptofánu boli porovnateľné so zdravou kontrolou, respektíve neboli zaznamenané rozdiely v koncentráciách.

Ďalej sme predpokladali, že okrem patologických zmien v kynurenínovej ceste metabolizmu tryptofánu pri celiakii, môže dochádzať aj k enzymatickým zmenám v indolovej ceste katabolizmu tryptofánu. Je známe, že zvýšené hladiny IS v moči sú spájané s chronickým ochorením obličiek a rovnako sú pozorované pri hnilobných procesoch, ktoré sa môžu vyskytovať pri črevných obštrukciách, hnačkách alebo karcinóme žalúdka (Valko-Rokytovská a kol. 2018), a preto sme predpokladali, že v moči celiatikov, pre ktorých je charakteristická atrofia klkov tenkého čreva a zvýšené riziko glomerulonefritídy a terminálneho štádia renálnej choroby (Leffler a kol. 2015), budú hodnoty IS zvýšené. Výsledky analýzy nepreukázali významné rozdiely IS medzi študovanými skupinami, a týmto sa náš predpoklad nepotvrdil. Rovnako sme predpokladali zmeny v koncentráciách 3-IAA, ktorá je spájaná s kardiovaskulárnymi ochoreniami u pacientov s chronickým ochorením obličiek (Valko-Rokytovská a kol. 2018), pretože kardiomyopatia je najčastejšie dokumentovaným kardiovaskulárnym stavom u celiatikov (Ciaccio a kol. 2017). Avšak naše výsledky analýzy nepreukázali významné zmeny v koncentráciách 3-IAA.

Zaujímalo nás, či dochádza k zmenám v serotonínovej ceste metabolizmu tryptofánu, vzhľadom nato, že znížené koncentrácie 5-HIAA boli pozorované v patogenézach funkčných črevných ochorení (Valko-Rokytovská a kol. 2018). Štatistická analýza však nepotvrdila signifikantnosť 5-HIAA.

Kyselina močová, ako marker pre oxidačný stres, ktorý je zapojený do mechanizmov celiakie, je v súčasnosti predmetom mnohých klinických výskumov, ktoré sa zaoberajú jej významom v diagnostike celiakie (Piatek-Guziewicz a kol. 2017). Vzhľadom na to, že naše výsledky štatistickej analýzy vyhodnotili KM ako štatisticky signifikantnú ($p < 0,001$), je pravdepodobné, že sa podieľa na viacerých patologických procesoch u celiatikov a predstavuje tak potenciálny diagnostický marker pri celiakii. Hladiny KM v krvi pacientov boli v norme, ale približovali sa k hornej hranici.

Výsledky UHPLC analýzy poskytli relevantné informácie o zmenách v metabolizme jednotlivých aminokyselín u pacientov s celiakiou a poukázali, že metabolomika ma sľubnú budúcnosť v neinvazívnej možnosti diagnostiky celiakie.

Posledným cieľom tejto práce bolo zistiť na základe dotazníkovej metódy reálne diagnostické metódy stanovenia celiakie na Slovensku, prejavy celiakie a prítomnosť asociovaných ochorení.

Na otázku, aký lekár im stanovil celiakiu väčšina respondentov uviedla gastroenterológa (internistu). V dotazníku respondenti uvádzali pohlavie, z 216 respondentov bolo 200 žien a 16 mužov, čím sme potvrdili, že celiakia postihuje prevažne ženy (Rimárová a kol. 2011).

Viac ako polovica dospelých jedincov trpí okrem gastrointestinálnych symptómov aj úbytkom hmotnosti. Najčastejším symptómom je hnačka. Menej časté sú symptómy, ako nadúvanie, aftózna stomatitída, striedavé črevné návyky, zápcha a gastroezofageálna refluxná choroba, gastrointestinálne prejavy sú vracanie a chronická bolesť brucha (Hujoel a kol. 2018). Tvrdenie Hujoela a kol. (2018) koreluje s výsledkami dotazníka, v ktorom 45,5 % respondentov trpelo pred diagnostikou celiakie práve hnačkou, zápchou, nadúvaním a abdominálnou bolesťou. Leffler a kol. (2015) uvádza, že druhým najčastejším extraintestinálnym prejavom celiakie je anémia, ktorá bola druhou najčastejšou odpoveďou v našom dotazníku.

Leffler a kol. (2015) tiež uvádza, že pacienti s celiakiou hlásia okrem ekzému a psoriázy aj rôzne nešpecifické problémy vrátane suchej kože, ľahkých podliatin, krehkých nechtovej a rednutia vlasov (Leffler a kol. 2015). Až 13,3 % respondentov trpelo

pred diagnostikou kožnými ťažkosťami, ktoré ich viedli k návšteve lekára. Len 3,9 % respondentov označilo ako dôvod vyhľadania lekárskej pomoci neurologické a behaviorálne ťažkosti, z toho vyplýva, že tieto ťažkosti sú pri celiakii prítomné, ale zriedkavé. 17,5 % pacientov uviedlo rôzne iné ochorenia, ktoré nie sú symptómom, ale patria k asociovaným ochoreniam ako napríklad bolesti svalov a kĺbov, únavu, erektilnú dysfunkciu, bolesti hlavy, silnú peľovú alergiu, diabetes, pozastavený rast, alopeciu areatu, chronickú bolesť hrdla, opuch dutín, apatia, neplodnosť a pod.

Tretia otázka dotazníka bola zameraná na konkrétne diagnostické postupy, ktoré zvolil lekár. Dve najčastejšie odpovede boli odber krvi a endoskopia. Tieto odpovede korelujú s diagnostickými postupmi, ktoré uvádza slovenská literatúra napríklad Pekárková a kol. (2009). Aj napriek tomu, že metabolomika je v modernej medicíne veľmi osvedčeným neinvazívnym diagnostickým postupom, odber moču bol vykonaný len u 1,6 % respondentov. Medzi odpoveďami respondentov sa vyskytli aj metódy ako vyšetrenie spermíí, počítačová tomografia (CT), magnetická rezonancia (MR) a kolonoskopické vyšetrenie, ktoré nepatria medzi štandardné diagnostické postupy na Slovensku. Genetické testy, ktoré uviedol iba jeden respondent patria medzi zriedkavé postupy pri diagnostike celiakie na Slovensku.

V štvrtej otázke nás zaujímalo, v akom veku bola celiakia pacientom stanovená. Výsledky potvrdili, že celiakia môže byť diagnostikovaná v akomkoľvek veku (Suchá a kol. 2015), nakoľko až 20,8 % respondentov uviedlo, že im celiakiu diagnostikovali vo veku 36 až 50 rokov a 4,2 % pacientov ju mali diagnostikovanú v strednom veku (50+).

Posledná otázka bola zameraná na iné chronické ochorenia, ktorými okrem celiakie respondenti trpia, vzhľadom na to, že mnohé ochorenia sú symptómami celiakie, prípadne sú s ňou veľmi úzko asociované a slúžia na počiatočnú alebo pomocnú diagnostiku celiakie. Takmer polovica respondentov uviedla, že netrpí inými chronickými ochoreniami. Výsledky dotazníka poukázali na prítomnosť extraintestinálnych symptómov u respondentov s celiakiou, ktoré uvádza Leffler a kol. (2015) vo svojej štúdií. Patria sem artritída, aftózna stomatitída, osteoporóza, osteopénia, neurologické a behaviorálne symptómy (ataxia, epilepsia, depresia a pod.) prípadne neplodnosť.

7 Záver

Diplomová práca mala vytýčené tri ciele, a to vytvoriť súbor a štatisticky vyhodnotiť výsledky krvných testov od dospelých pacientov s celiakiou; metabolomický profil moču celiatikov ako neinvazívna možnosť diagnostiky celiakie; a prostredníctvom dotazníka zistiť reálne prejavy celiakie, diagnostické postupy na Slovensku a poskytnúť tak komplexný pohľad na diagnostiku z pohľadu pacienta.

Výsledky krvných parametrov pacientov vo väčšine prípadov korelovali s dostupnou literatúrou a poskytli reálny pohľad na diagnostiku celiakie pomocou odberu krvi. Na základe získaných informácií sme dospeli k záveru, že pacientom na Slovensku nie sú stanovené mnohé významné parametre s vysokou špecificitou, ako napríklad vitamíny B₆, B₉, B₁₂ alebo protilátky proti endomýziu (EMA), prípadne sú stanovované v ojedinelých prípadoch. Z protilátok sa stanovujú najmä protilátky proti gliadínu pre triedu IgG a IgA a protilátky proti tkanivovej *transglutamináze* pre triedu IgA. Ako významné a smerodajné parametre sa ukázali aj pečenevé *transaminázy* ALT a AST, rovnako tiež Fe, Hb, RDW a RBC.

Výsledky UHPLC analýzy poukázali na predpokladané zmeny v metabolizme aminokyselín tryptofánu a tyrozínu pri celiakii. Štatisticky sme potvrdili signifikantne zvýšené koncentrácie tyrozínových metabolitov HMG a DOPAC ($p < 0,001$) v moči celiatikov v porovnaní s kontrolnou skupinou. Rovnako sme potvrdili predpokladané zmeny v metabolizme tryptofánu, a to v kynurenínovej ceste, kde sme zistili výrazne zvýšené koncentrácie KYNA v moči celiatikov ($p < 0,01$). Predpoklad enzýmových zmien v metabolizme tryptofánu na úrovni indolovej a serotonínovej cesty sa nám nepotvrdil. Kyselina močová, ktorá predstavuje marker oxidačného stresu, bola štatisticky vyhodnotená ako signifikantná $p < 0,001$ a mohla by zohrávať potenciálnu úlohu ako ďalšieho diagnostického markera pre celiakiu. V tejto štúdii sme poukázali aj na možnosť využitia UHPLC analýzy ako neinvazívnej metódy pri diagnostike celiakie.

Výsledky dotazníkovej metódy nám poskytli komplexný reálny pohľad na súčasnú diagnostiku celiakie na Slovensku, na reálne symptómy celiakie, prítomnosť asociovaných ochorení a vytvorili profil pacienta pred a počas diagnostiky celiakie.

8 Zoznam použitej literatúry

1. ADMOU, B. a kol. Atypical Celiac Disease: From Recognizing to Managing. In *Gastroenterology Research and Practice* [online]. 2012, vol.2012, no.9 [cit. 2019-03-11]. Dostupné na internete: <https://www.hindawi.com/journals/grp/2012/637187/>. ISSN 1687-6121.
2. BALABAN, V. D. a kol. Ratio of Spleen Diameter to Red Blood Cell Distribution Width. In *Medicine* [online]. 2015, vol. 94, no. 15 [cit. 2019-11-03]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4602504/>. ISSN 0025-7974.
3. BAYDOUN, A. a kol. Hematological manifestation of celiac disease. In *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. 2012, vol. 47, no. 12 [cit. 2019-04-19]. Dostupné na internete: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/00365521.2012.706828>. ISSN 1502-7708.
4. BÉZAYOVÁ, T. Celiakia. In *inVitro* [online]. 2014, vol.2 [cit. 2019-04-06]. Dostupné na internete: <http://www.alphamedical.sk/casopis-invitro/celiakia>. ISSN 1339-5912.
5. BOUATRA, S. a kol. The Human Urine Metabolome. In *PLoS ONE* [online]. 2013, vol. 8, no. 9 [cit. 2020-03-21]. Dostupné na internete: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?type=printable&id=10.1371/journal.pone.0073076>. ISSN 1932-6203.
6. BUTRON, C.; MA, Y. Current Trends in Cancer Biomarker Discovery Using Urinary Metabolomics: Achievements and New Challenges. In *Current Medicinal Chemistry* [online]. 2019, vol. 26, no. 1 [cit. 2020-03-01]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28914192>. ISSN 1875-533X.
7. CATASSI, C. World Perspective and Celiac Disease Epidemiology. In *Digestive Diseases* [online]. 2015, vol. 33, no. 2 [cit. 2019-03-01]. Dostupné na internete: <https://www.karger.com/Article/Abstract/369518>. ISSN 1421-9875.
8. CIACCIO, J. E. a kol. Cardiovascular involvement on celiac disease. In *World Journal of Cardiology* [online]. 2017, vol. 9, no. 6 [cit. 2019-06-16]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5583538/>. ISSN 1949-8462.
9. CLISH, B. C. Metabolomics: an emerging but powerful tool for precision medicine. In *Cold Spring Harbor Molecular Case Studies* [online]. 2015, vol. 1, no. 1 [cit. 2020-03-15]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4850886/>. ISSN 2373-2873.
10. COSSU, G. a kol. Coeliac disease and psychiatric comorbidity: epidemiology, pathophysiological mechanisms, quality of life, and gluten-free diet effects. In *International Review of Psychiatry* [online]. 2017, vol. 29, no. 5 [cit. 2019-08-13]. Dostupné na internete: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09540261.2017.1314952>. ISSN 1369-1627.

11. DE RE, V. a kol. New Insights into the Pathogenesis of Celiac Disease. In *Frontiers of Medicine* [online]. 2017, vol. 4, no. 137 [cit. 2019-02-07]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5583152/>. ISSN 2095-0225.
12. DODD, D. a kol. A gut bacterial pathway metabolizes aromatic amino acids into nine circulating metabolites. In *Nature* [online]. 2017, vol. 551 [cit. 2020-03-27]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29168502>. ISSN 1476-4687.
13. FIRMAN, G. Modified Marsh Classification of Histologic Findings in Celiac disease (Oberhuber). In *Medical Criteria.com* [online]. 2018 [ci. 2019-01-03]. Dostupné na internete: <https://medicalcriteria.com/web/celiac-disease-oberhuber/>.
14. FREEMAN, J. H. Iron deficiency anemia in celiac disease. In *World Journal of Gastroenterology* [online]. 2015, vol. 21, no. 31 [cit. 2019-05-13]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4541375/>. ISSN 2219-2840.
15. FRÜHAUF, P. a kol. Celiakie-doporučený postup pro diagnostiku a terapii u dětí a dospívajících. In *Pediatric pro praxi* [online]. 2016, vol.17, no.3 [cit. 2019-03-12]. Dostupné na internete: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2016/03/16.pdf>. ISSN 1803-5264.
16. GOBBI, G. a kol. *The Comorbidities of Epilepsy* [online]. London, Academic Press, 2019 [cit. 2019-03-19]. ISBN 978-0-12-818620-6. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128148778000064>.
17. GOLDSTEIN, D. S. a kol. Cerebrospinal fluid biomarkers of central dopamine deficiency predict Parkinson's disease. In *Parkinsonism and Related disease*. [online]. 2018, vol. 50 [cit.2020-03-19]. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1353802018300592>. ISSN 1353-8020.
18. GUGLIELMI, V. a kol. RDW: New screening test for coeliac disease? In *Minerva Medica* [online]. 2002, vol. 93, no. 5 [cit. 2020-03-19]. Dostupné na internete: <https://europepmc.org/article/med/12410174>. ISSN 1827-1669.
19. HADJIVASSILIOU, M. a kol. Gluten-Related Disorders: Gluten Ataxia. In *Digestive Diseases* [online]. 2015, vol.33, no. 2 [cit. 2019-09-04]. Dostupné na internete: <https://www.karger.com/Article/Abstract/369509>. ISSN 1421-9875.
20. HALFDANARSON, R. T. a kol. Hematologic manifestation of celiac disease. In *Blood* [online]. 2007, vol. 109, no. 2 [cit. 2019-04-19].Dostupné na internete: <https://ashpublications.org/blood/article/109/2/412/23506/Hematologic-manifestations-of-celiac-disease>. ISSN 1528-0020.
21. HANSSON, J. a kol. Su1438 Risk of Cutaneous Malinant Melanoma in Celiac Disease: A Population-Based Study. In *Journal of American Academy of Dermatology* [online]. 2014, vol. 71, no. 2 [cit. 2019-03-13]. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0190962214012638>. ISSN 0190-9622.
22. HUGHES, T. A. a kol. Urine homogentisic acid and tyrosine: Simultaneous analysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry. In *Journal of Chromatography B* [online]. 2014, vol. 963 [cit. 202-03-16]. Dostupné na internete:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570023214003729>. ISSN 1570-0232.
23. HUJOEL, A. I. Natural history and clinical detection of undiagnosed coeliac disease in a North America community. In *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2018, vol. 47, no. 10 [cit. 2019-03-19]. Dostupné na internete: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.14625>. ISSN 1365-2036.
 24. KLUCHO, J. Diagnostika a liečba celiakie v ambulancii všeobecného lekára. In *Via practica* [online]. 2016, vol. 13, no. 3 [cit. 2019-05-16]. Dostupné na internete: <http://www.solen.sk/pdf/03326588b7311fe367be834e434f597a.pdf>. ISSN 1339-424X.
 25. KOHOUT, P. Diagnostika a léčba celiakie. In *Interní Medicína pro praxi* [online]. 2006, vol. 7, no. 8 [cit. 2019-02-26]. Dostupné na internete: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2006/07/03.pdf>. ISSN 1803-5256.
 26. KRUZLIAK, P.; BHAGAT, G. *Celiac Disease: From Pathophysiology to Advanced Therapies* [online]. Bratislava: BoD-Books on Demand, 2012. 198 p. [cit. 2019-04-25]. ISBN 9789535106845. Dostupné na internete: https://books.google.sk/books?hl=sk&lr=&id=goefDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA83&dq=+kruzliak+celiac+disease+2012&ots=CKsXkQG3Gg&sig=6mlfP5jb7xQL4FQfV EPzIFj-Ygc&redir_esc=y#v=onepage&q=kruzliak%20celiac%20disease%202012&f=false.
 27. LEFFLER, A. D. a kol. Extraintestinal manifestations of coeliac disease. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* [online]. 2015, vol. 12, no. 561-571 [cit. 2019-03-15]. Dostupné na internete: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2015.131#citeas>. ISSN 1759-5053.
 28. LERNER, A.; MATTHIAS, T. a kol. Rheumatoid arthritis-celiac disease relationship: joints get that gut feeling. In *Autoimmunity Reviews* [online]. 2015, vol.14, no.11 [cit. 2019-04-24]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26190704>. ISSN 1873-0183.
 29. LEWIS, R. N. a kol. Cholesterol profile in people with newly diagnosed coeliac disease: a comparison with general population and changes following treatment. In *British Journal of Nutrition* [online]. 2009, vol. 102, no. 4 [cit. 2020-03-19]. Dostupné na internete: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/cholesterol-profile-in-people-with-newly-diagnosed-coeliac-disease-a-comparison-with-the-general-population-and-changes-following-treatment/58FE797195CAF879255C0BF800E54D5F>. ISSN 1475-2662.
 30. MALAMUT, G.; CELLIER, CH. Complications of coeliac disease. In *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* [online]. 2015, vol. 29, no. 3 [cit. 2019-05-12]. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521691815000591>. ISSN 1521-6918.
 31. MUSTALATHI, K. *Silent Coeliac Disease: dizertačná práca*. Tampere: University of Tampere. 2003. 103 s.
 32. NALUAI, T. A. a kol. Altered peripheral amino acid profile indicate a systemic impact of active celiac disease and a possible role of amino acids in disease

- pathogenesis. In *PLoS One* [online]. 2018, vol. 13, no.3 [cit. 2020-03-25]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5851604/>. ISSN 1932-6203.
33. PEYRIN-BIROULET, L. a kol. Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn's disease in the SONIC trial. In *BMJ Journals* [online]. 2014, vol. 63, no. 1 [cit. 2020-03-23]. Dostupné na internete: <https://gut.bmj.com/content/63/1/88.short>. ISSN 1468-3288.
 34. PEKÁRKOVÁ, B. a kol. *Metodický list č. 46 – Racionálna diagnostika a liečba celiakie* [online]. vol. 13. Bratislava: Herba, 2009. [2020-03-13]. Dostupné na internete: <http://www.herba.sk/stiahni/metodicky-46-celiakia.pdf>.
 35. PIATEK-GUZIEWICZ, A. a kol. Intestinal parameters of oxidative imbalance in celiac adults with extraintestinal manifestations. In *World Journal of Gastroenterology* [online]. 2017, vol. 23, no. 44 [cit. 2020-02-17]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5703914/>. ISSN 2219-2840.
 36. *Referenčné hodnoty* [online]. [cit. 2020-01-15]. Dostupné na internete: <https://www.laboratornadiagnostika.sk/pre-lekarov/biochemia/referencne-hodnoty>.
 37. REUNALA, T. a kol. Dermatitis Herpetiformis: A common Extraintestinal Manifestation of Coeliac Disease. In *Nutrients* [online]. 2018, vol. 10, no. 5 [cit. 2019-02-02]. Dostupné na internete: <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/5/602>. ISSN 2072-6643.
 38. RIMÁROVÁ, K. a kol. *CELIAKIA – Choroba a základy výživy*. 1. vyd. Košice: Nadácia UPJŠ Košice, 2011. 143 s. ISBN 978-80-7097-908-2.
 39. ROJAS, Y. Is Anemia a Symptom of Coeliac Disease? In *Austin Gastroenterology* [online]. 2018 [cit. 2020-03-15]. Dostupné na internete: <https://www.austingastro.com/2018/05/18/is-anemia-a-symptom-of-celiac-disease/>. ISSN 2381-9219.
 40. *RDW CV a RDW SV v krvnom sére* [online]. [cit. 2020-03-21]. Dostupné na internete: <https://sk.northernillinoishealthplan.com/indeks-raspredelenija-jeritrocitov-rdw-sd.htm>.
 41. SANDOIU, A. Gluten may trigger lymphoma in some celiac disease patients. In *Medical News Today* [online]. 2017 [cit. 2019-04-14]. Dostupné na internete: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/316185>
 42. SARBAY, H. a kol. Investigation of celiac disease followed by immune thrombocytopenic purpura diagnosis in patients and comparison with literature. In *Northern Clinics of Istanbul* [online]. 2017, vol. 4, no. 2 [cit. 2019-01-14]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5613264/>. ISSN 2536-4553.
 43. SATEGNA GUIDETTI, C. a kol. Red cell distribution width as a marker of coeliac disease: a prospective study. In *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* [online]. 2002, vol. 14, no. 2 [cit. 2020-03-19]. Dostupné na internete: https://journals.lww.com/eurojgh/Abstract/2002/02000/Red_cell_distribution_width_a_s_a_marker_of_coeliac.12.aspx. ISSN 1473-5687.

44. SUCHÁ, V. a kol. Aktuálny pohľad na celiakiu. In *Via practica* [online]. 2015, vol. 12, no. 1 [cit. 2019-12-21]. Dostupné na internete: <http://www.solen.sk/pdf/1fce9b78bfd3da5890ab27f0673262ec.pdf>. ISSN 1339-424X.
45. TORTORA, R. a kol. Metabolic syndrome in patients with celiac disease on a gluten-free diet. In *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2015, vol. 41, no. 4 [cit. 2020-03-19]. Dostupné na internete: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.13062>. ISSN 1365-2036.
46. TORTORA, R. a kol. Metabolic syndrome in patients with celiac disease on a gluten-free diet. In *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2015, vol. 41, no. 4 [cit. 2020-03-21]. Dostupné na internete: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.13062>. ISSN 1365-2036.
47. TOVOLI, F. a kol. Increased risk of nonalcoholic fatty liver disease in patients with coeliac disease on a gluten-free diet: beyond traditional metabolic factors. In *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2018, vol. 48, no. 5 [cit. 2019-10-11]. Dostupné na internete: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.14910>. ISSN 1365-2036.
48. TUREA, M. *Here's What We Know About The Connection Between Anemia And Celiac Disease* [online]. 2020 [cit. 2020-03-21]. Dostupné na internete: <https://www.imaware.health/blog/anemia-and-celiac-disease>.
49. VALLES-COLOMER, M. a kol. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. In *Nature microbiology* [online]. 2019, vol. 4 [cit. 2020-03-17]. Dostupné na internete: <https://www.nature.com/articles/s41564-018-0337-x>. ISSN 2058-5276.
50. VALKO-ROKYTOVSKÁ, M. a kol. New Developed UHPLC Method for Selected Urine Metabolites. In *Journal of Chromatography* [online]. 2018, vol. 9, no. 3 [cit. 2020-03-27]. Dostupné na internete: 10.4172/2157-7064.1000404. ISSN 2157-7064.
51. WAHAB, J. R. a kol. Celiac Disease Autoimmunity and Emotional and Behavioral Problems in Childhood. In *Pediatrics* [online]. 2019, vol. 144, no. 4 [cit. 2019-12-03]. Dostupné na internete: https://pediatrics.aappublications.org/content/144/4/e20183933?utm_source=highwire&utm_medium=email&utm_campaign=Pediatrics_papetoc. ISSN 1098-4275.
52. WARJRI, B. S. a kol. Coeliac Disease With Rheumatoid Arthritis: An Unusual Association. In *Gastroenterology research* [online]. 2015, vol. 8, no. 1 [cit. 2019-05-01]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5051177/>. ISSN 1918-2805.
53. ZANCHETTA, B. M. a kol. Bone and Celiac Disease. In *Current Osteoporosis Reports* [online]. 2016, vol. 14 [cit. 2019-05-11]. Dostupné na internete: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11914-016-0304-5>. ISSN 1544-2241.
54. ZIVIC, M. a kol. Oral manifestation of celiac disease. In *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research* [online]. 2019 [cit. 2019-12-01]. Dostupné na internete: <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/sjecr.ahead-of-print/sjecr-2019-0009/sjecr-2019-0009.xml>. ISSN 1820-8665.

9 Prílohy

Príloha 1 – Prehľad fyziologických hodnôt metabolitov v moči pacientov s celiakiou oboch pohlaví nad 18 rokov udávané v $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu

Príloha 2 – Dotazník

Príloha 3 – CD medium

Príloha 1, Prehľad fyziologických hodnôt metabolitov v moči pacientov s celiakiou oboch pohlaví nad 18 rokov udávané v $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu

Metabolit	Fyziologické rozmedzie ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinínu)
Kreatinín	14,743 +/- 9,797
TRP	2,45 – 29,40
5-HIAA	0,4 – 5,8
IS	1,41 – 51,64
3-IAA	(0,6 – 5,4)/(5,5 – 5,8)
KYNA	(0,8 – 4,2)/(0,9 – 4,1)
DOPAC	0,0340 – 3,310
HMG	0,5 – 2,8
KM	100 – 800

Zdroj: Bouatra a kol. 2013

Príloha 2 - Dotazník

Dotazník „ Diagnostika celiakie“

Dobrý deň,

Venujte, prosím, niekoľko minút svojho času na vyplnenie nasledujúceho anonymného dotazníka, ktorý slúži ako materiál k mojej diplomovej práci.

Pohlavie: muž žena

1. Aký lekár Vám stanovil celiakiu?

- Praktický lekár
- Gastroenterológ/internista
- Imunoalergológ
- Iné (dopíšte)

2. Na základe akých ťažkostí ste navštívili lekára? (viacero odpovedí je možných)

- anémia
- hnačka, zápcha, nadúvanie, abdominálna bolesť
- depresia, úzkosť, epilepsia, ataxia
- kožné ťažkosti
- iné (dopíšte)

3. Aké diagnostické metódy zvolil lekár pri diagnostike?

- odber krvi
- endoskopia (biopsia)
- odber moču
- iné (dopíšte)

4. V akom veku bola stanovená celiakia?

- 0 až 21
- 22 až 35
- 36 až 50
- viac ako 50

5. Akými inými chronickými ochoreniami trpíte?

- artritída
- aftózna stomatitída
- osteoporóza alebo osteopénia
- ataxia a/alebo epilepsia
- depresia a/alebo úzkosť
- neplodnosť
- herpetiformná dermatitída
- žiadné
- iné (dopíšte)

Ďakujem za Váš čas a ochotu.