

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



CELIAKIE – LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Hana Zachová

Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Konzultant: Mgr. Jaroslava Kalaninová

HRADEC KRÁLOVÉ, 2016

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce PharmDr. Petru Jílkovi, CSc. a konzultantce Mgr. Jaroslavě Kalaninové, za odborné vedení a za čas, který jste mi věnovali. Dále děkuji všem, kteří mi poskytli cenné rady a informace.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 10. 4. 2016

.....

Obsah

1.	ABSTRAKT	5
2.	ABSTRACT	6
3.	ÚVOD	7
4.	PATOGENEZA, SYMPTOMY A KLINICKÝ PRŮBĚH	9
4.1	Patogeneza	9
4.2	Příznaky a klinické projevy	10
4.2.1	Symptomatická forma (s typickými projevy)	11
4.2.2	Atypické projevy	11
4.2.3	Asymptomatická (tichá) forma	12
5.	PÉČE O PACIENTY S CELIAKÍÍ	13
6.	SOUČASNÉ MOŽNOSTI LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY	18
6.1	Anti–tkáňová transglutamináza (anti-tTG)	18
6.2	Anti–gliadin (anti-GA), anti-deamidovaný gliadin (anti-GDA)	19
6.3	Anti–endomyzium (AEA), Anti–retikulin (ARA)	21
6.4	HLA-DQ2/DQ8	22
6.5	Biopsie tenkého střeva	22
7.	LÉČBA CELIAKIE	25
8.	PŘÍKLADY PUBLIKOVANÝCH KAZUISTIK	27
8.1	Pacientka č. 1 - žena, 18 let, (Minařík et al., 2012)	27
8.2	Pacient č. 2 – chlapec, 13-25 měsíců (Fuchs, 2009)	29
8.3	Pacient č. 3 – žena, 39 let (Galanská, 2011)	30
9.	ZÁVĚR	33
10.	POUŽITÁ LITERATURA	34

1. ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Student: Hana Zachová

Školitel: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Název bakalářské práce: **Celiakie – laboratorní diagnostika**

Cíl: Cílem této práce bylo vystihnout v současnosti nejvyužívanější a zároveň nejvhodnější laboratorní vyšetření pro diagnostiku celiakie.

Hlavní poznatky: Celiakie je závažná choroba a její diagnostika může být velmi komplikovaná. Pro usnadnění a zlepšení diagnostiky této nemoci jsou vydána doporučení, která popisují podmínky a způsoby, jak postupovat při vyšetření pacientů za různých okolností. Doporučení, popsáné v této práci jsou: Cílený screening celiakie, vydaný MZ ČR v roce 2011 a Směrnice pro diagnostiku celiakie, vydaná Evropskou společností ESPGHAN (European society for pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition) v roce 2012. Obě metodiky jsou založené především na imunologickém sérologickém vyšetření protilátek, popřípadě autoprotilátek. Ke konečné diagnostice je nezbytná biopsie sliznice tenkého střeva a její histologické vyšetření.

Závěr: Zde uvedené kazuistiky dokazují individualitu projevů a nesnadnou diagnostiku celiakie. Pro její správnou laboratorní diagnostiku je vhodné respektovat metodiky MZ ČR a ESPGHAN. Zde uvedené studie a odborné články doporučují kombinovat vyšetření sérologických screeningových markerů - protilátek proti: tkáňové transglutamináze, deamidovanému gliadinu a endomyziu. Vzhledem k vysoké senzitivě i specifitě těchto protilátek, je velká pravděpodobnost záchytu doposud nedagnostikovaných nemocných. Doufám, že se díky metodikám a studiím sérologických markerů celiakie zvýší úspěšnost diagnostiky této nemoci.

2. ABSTRACT

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Student: **Hana Zachová**

Supervisor: **PharmDr. Petr Jílek, CSc.**

Title of Bachelor thesis: **Celiac disease – laboratory diagnostics**

Background: The aim of this Bachelor thesis was to capture the currently most used and the most appropriate laboratory tests for the diagnosis of celiac disease.

Main findings: Celiac disease is a serious disease and its diagnosis can be very complicated. In order to simplify and improve the diagnosis of this disease are issued recommendations that describe the conditions and methods, how to proceed with the examination of patients in different circumstances. Recommendations described in this Bachelor thesis are: Targeted screening for celiac disease, issued by the MINISTRY OF HEALTH in 2011 and the directive for the diagnosis of celiac disease, issued by ESPGHAN (European society for pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition) in 2012. Both methodologies are based primarily on serological examination with immunological antibodies or autoantibodies. For the final diagnosis is necessary to undergo biopsy of the small intestinal mucosa and its histological examination.

Conclusion: Case studies presented here demonstrates the individuality of the cases and the difficult diagnosis of celiac disease. For correct laboratory diagnosis of celiac disease, it is appropriate to respect the methodology of MINISTRY OF HEALTH and the ESPGHAN. The studies listed here and the professional articles recommend to combine the examinations of serological screening markers – antibodies against: tissue transglutaminase, deamidated gliadin and endomysium. Due to the high sensitivities and specificity of these antibodies, there is a big probability of detection so far non-diagnosed patients. I hope that thanks to the methods and studies of serological markers of celiac disease will increase the success rate of diagnosis of this disease.

3. ÚVOD

Celiakie nebo také celiakální sprue je v současné době chápána jako systémové imunologicky podmíněné onemocnění manifestující se u vnímavých jedinců po expozici glutenu resp. jeho proteinových složek. (Frühauf et al., 2012) Toto geneticky podmíněné onemocnění spojuje prvky potravinové intolerance s autoimunitní chorobou. Zmíněná intolerance se týká nesnášenlivosti lepku (glutenu). Gluten je směsí bílkovin, které tvoří zásobní proteiny obilovin. Lepek obsažený v pšenici je složen z proteinů v alkoholu rozpustných - gliadinů (prolaminů) a proteinů v alkoholu nerozpustných - gluteninů. Přehled obsahu aminokyselin v různých obilovinách, jejich vztah k celiakii je uveden v Tab. č. 1.

Tab. č. 1. Aminokyseliny obilovin se vztahem k celiakii: glutamin (Gln), prolin (Pro), alanin (Ala), leucin (Leu). (Krejsek a Kopecký, 2004)

obilnina	Prolaminy	obsah AK	toxicita
pšenice	α -gliadin	36% Gln, 17-23% Pro	+++
ječmen	Hordeiny	36% Gln, 17-23% Pro	++
žito	Sekaliny	36% Gln, 17-23% Pro	++
oves	Aveniny	\uparrow Gln, \downarrow Pro	+
kukuřice	Zeiny	\downarrow Gln, \uparrow Ala, Leu	-
rýže	?	\downarrow Gln, \uparrow Ala, Leu	-

Podíl na imunopatogenezi celiakie je přisuzován gliadinům (zejm. frakci α -gliadinů). U vnímavého jedince mohou způsobit zánětlivou reakci, která vede k histopatologickým změnám, postupné atrofii sliznice v tenkém střevě a vzniku malabsorbčního syndromu. (Krejsek a Kopecký, 2004)

Symptomy celiakie jsou velice odlišné v závislosti na věku a době trvání onemocnění. Variabilita klinických projevů může komplikovat diagnostiku a opozdit léčbu choroby. (Sýkora, 2006)

V ČR je prevalence tohoto onemocnění odhadována na 40 – 50 tis. osob, z toho pouhá desetina je diagnostikována. Pro zvýšení zachytu onemocnění MZ ČR vydalo

metodický pokyn pro: Cílený screening celiakie. (MZ ČR, 2011) Evropská doporučení pro zlepšení diagnostiky celiakální sprue jsou definována společností ESPGHAN (European society for pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition). (Husby et al., 2012)

Mezi běžně prováděná vyšetření nesnášenlivosti lepku v klinických imunologických laboratořích v dnešní době patří vyšetření protilátek proti gliadinu (nebo deamidovanému gliadinu), endomyziu, tkáňové transglutamináze a retikulinu. (Zima, 2007)

Dnešní koncepce diagnostiky celiakie těchto protilátek je podporována genetickými údaji. Při diagnostice se nyní klade větší důraz na genetickou predispozici ke vzniku celiakie a sérologické markery, méně na histologické změny střevní sliznice. (Gibson et al., 2012)

4. PATOGENEZA, SYMPTOMY A KLINICKÝ PRŮBĚH

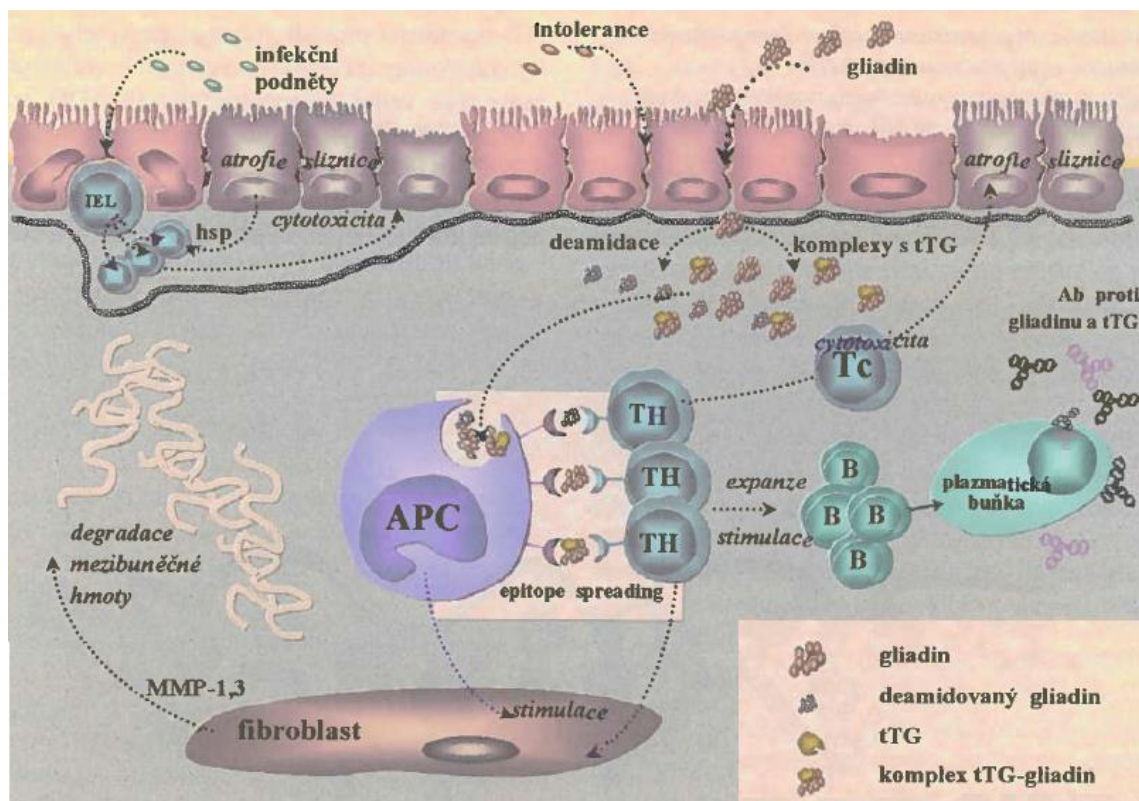
U nemocných s celiakální sprue dochází k poškození sliznice tenkého střeva imunopatologickou reakcí na proteiny lepku, zejm. gliadiny. Imunitní odpovědí je zánět, který se projevuje vilózní atrofií, hyperplazií Lieberkúhnových krypt a lymfocytární infiltrací sliznice tenkého střeva. (Sýkora, 2006) Později dochází také k tvorbě autoprotilátek. Imunitní systém je neustále atakován antigenními determinanty, čímž mohou vznikat další přidružené autoimunitní choroby, či komplikace. (Frič et al., 2009)

4.1 Patogeneza

V případě poškození střevní sliznice dojde k průniku glutenu do podslizniční vrstvy, kde je dále zpracováván antigen prezentujícími buňkami pomocí HLA molekul (HLA - Human Leukocytes Antigens). Celiakie je spojována s genetickou predispozicí. Byla prokázána asociace s alelami HLA DQ2, nebo HLA DQ8, kódujícími povrchové glykoproteiny HLA II. třídy. HLA DQ je povrchový receptor prezentující antigeny pomocným T-lymfocytům. Polymorfní část molekuly HLA DQ2 a HLA DQ8 váže antigenní peptidy a je schopna poutat negativně nabitě aminokyseliny: kyselinu glutamovou a asparagin. Nativní gliadin obsahuje velké množství glutaminu, který může snadno podlehnout deamidaci na kys. glutamovou. Deamidované gliadiny přeměněné na kys. glutamovou jsou prezentovány molekulami HLA DQ2/DQ8 T-lymfocytům, tím se rozvíjí imunopatologická T-lymfocytární reaktivita. (Krejsek a Kopecký, 2004)

Deamidace nativních gliadinů probíhá pomocí enzymu tkáňové transglutaminázy (tTG). Enzym tTG, za normálních okolností intracelulární, se uvolní do extracelulárního prostoru poškozením buněk (mechanické poškození, zánět). tTG se uvnitř poškozené buňky podílí na procesu apoptózy a vně (mimo jiné) aktivuje cytokín TGF β , který podporuje reparaci tkáně. (Krejsek a Kopecký, 2004)

Obr. č. 1. Patogeneza celiakie (Krejsek a Kopecký, 2004)



APC = antigen prezentující buňky. Th = pomocné T-lymfocyty. Tc = cytotoxické T-lymfocyty. IEL = intraepitelové lymfocyty. B = B-lymfocyty. MMP-1,3 = matrixové metaloproteinázy.

Nemocní celiakii mají zvýšeně propustnou střevní sliznici. Gliadin, proniklý do tkáně je deamidován a tvoří komplexy s tTG. Komplexy jsou zpracovány antigen prezentujícími buňkami (APC). APC stimulují T-lymfocyty, které poskytnou podněty B-lymfocytům s následnou tvorbou protilátek proti gliadinu a tTG. Pomocné signály aktivují cytotoxické T-lymfocyty, které poškozují epitelovou vrstvu. Imunopatologická reaktivita se šíří na další struktury. Jsou stimulovány fibroblasty – tvoří metaloproteinázy, které degradují mezibuněčnou hmotu. Stresové bílkoviny a infekční podněty stimulují intraepitelové T-lymfocyty.

4.2 Příznaky a klinické projevy

Příznaky celiakální sprue lze rozdělit do několika skupin. Mezi nejčastější rozdělení patří formy: asymptomatická, symptomatická s projevy intestinálními (střevními) a

extraintestinálními. (Pelkowski a Viera, 2014) Jiní autoři ještě dělí formu symptomatickou na klasickou a atypicky se projevující. (Sýkora, 2006)

4.2.1 Symptomatická forma (s typickými projevy)

Symptomatická nebo také klasická forma celiakální sprue zahrnuje především projevy gastrointestinální. (Sýkora, 2006)

- Projevy související s malabsorbčním syndromem - abdominální bolesti, opakované průjmy, ztráta hmotnosti, plynatost, stolice obsahující tuk – steatorrhea. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Laktózová intolerance – při dodržování bezlepkové diety často vymizí. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Deficit minerálů a vitamínů (A, E, D, K, B – interference se vstřebáváním železa a vápníku a dalších nutrientů). (Pelkowski a Viera, 2014)

4.2.2 Atypické projevy

V současné době se stále častěji objevuje forma celiakie, kde převažují symptomy extraintestinální a naopak gastrointestinální jsou ojedinělé. Celiakie se projevuje spíše jako multisystémové onemocnění. (Sýkora, 2006)

- Anémie – způsobená deficitem železa. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Dermatitis herpetiformis - autoimunitní reakce při požití lepku, která se projevuje jako papulovesiculární vyrážka s přítomností granulárních depozit IgA v kůži. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Hepatální projevy – zvýšené hladiny transamináz, které při dodržování bezlepkové diety obvykle mizí. Mohou se projevit i závažnější komplikace, jako autoimunitní hepatitida, či primární biliární cirhóza. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Zvýšené riziko karcinomů – některé lymfomy a nádory střeva. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Neurologické projevy – možná periferní neuropatie. (Pelkowski a Viera, 2014)

- Orální symptomy – aftózní vředy, opožděné prořezávání zubů u dětí. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Osteoporóza – nezávisle na věku a v souvislosti s nízkou hladinou vitamínu D. U neléčených nemocných je prokázán vyšší výskyt zlomenin. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Poruchy funkce endokrinních orgánů u dětí. (Sýkora, 2006)
- Hematologické abnormality – trombocytopenie, trombocytóza, leukopenie popř. kolagulopatie. (Pelkowski a Viera, 2014)
- Reprodukční abnormality (Pelkowski a Viera, 2014)

4.2.3 Asymptomatická (tichá) forma

Chybí symptomy gastrointestinální i extraintestinální. Projevují se histopatologické změny střevní sliznice a pozitivní screening protilátek (anti-gliadin, anti-tkáňová transglutamináza, anti-endomyzium). (Sýkora, 2006)

Prostá intolerance lepku však neznačí celiakii. Může probíhat paralelně s intolerancí dalších potravin, např. kravského mléka. Pokud nedochází k aktivaci tkáňové transglutaminázy, nedochází ani k rozvoji celiakie. (Test-Line, 2016b)

Většina pacientů, kteří trpí tichou formou nemoci, je bez pozitivních výsledků vyšetření. U některých se může projevit malabsorpce s řadou přidružených klinických nálezů, jako je: ztráta hmotnosti a ochabování svalů, bledost, stomatitida, nebo snadná tvorba modřin. (Pelkowski a Viera, 2014)

5. PÉČE O PACIENTY S CELIAKIÍ

Historii této choroby lze vystopovat až do dob starověkého Řecka či Egypta. Její popis je datován až na konec 19. století. Celiakie byla v té době diagnostikována zejména u dětí a byla řešena ovocnou dietou. V období druhé světové války bylo popisováno zlepšení zdravotního stavu dětí nemocných celiakální sprue při podávání stravy obsahující mouku z cibulí tulipánů. Zhoršení stavu těchto pacientů nastalo po skončení chudoby a opětovném zavedení pšeničné mouky do stravy. Až v roce 1957 byl popsán histologický nález typický pro tuto chorobu - atrofie klků tenkého střeva, hyperplazie Lieberkühnových krypt a zánětlivá infiltrace sliznice a submukózy. (Kohout, 2006)

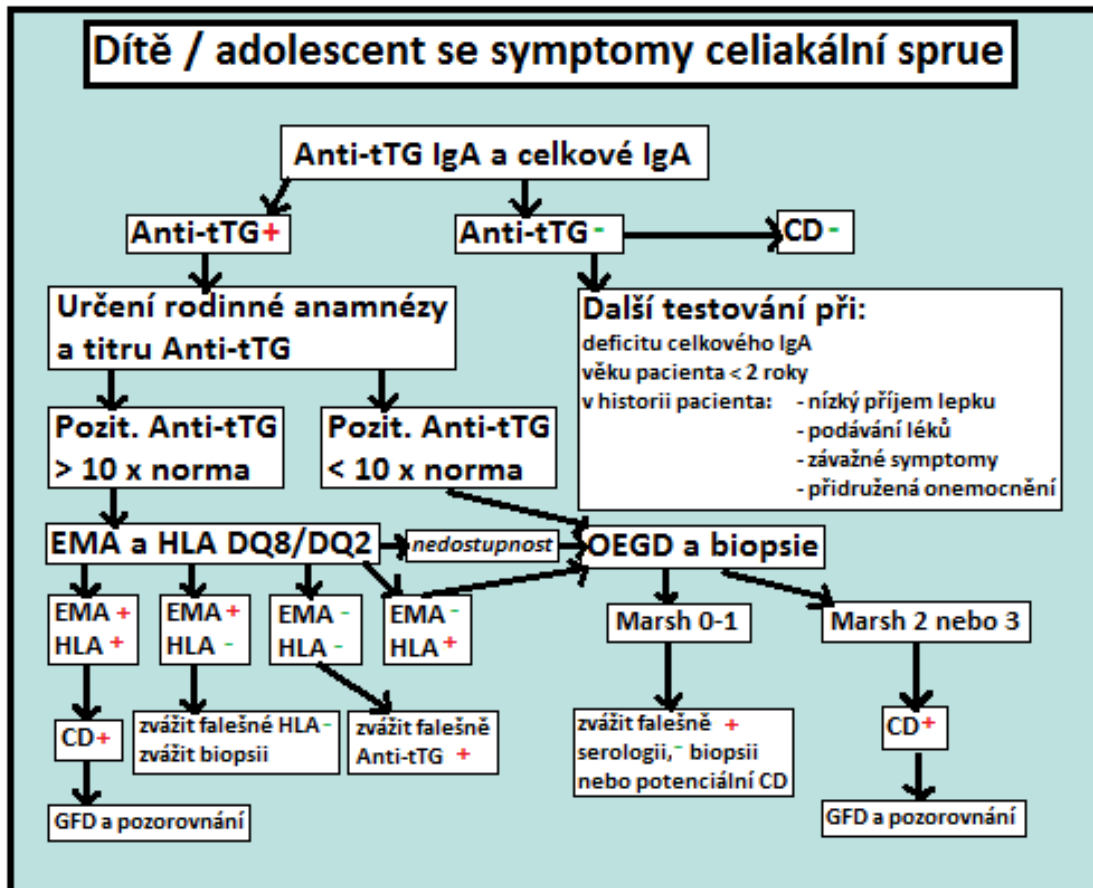
V roce 1979 společnost ESPGHAN (European society for pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition) stanovila diagnózu celiakie na podkladě odběrů 3 vzorků biopsie tenkého střeva. První odběr byl proveden při podezření na celiakii. Druhý odběr byl při dodržování diety bez konzumace lepku. Na sliznici měly být patrné pozitivní změny, způsobené změnou stravy. Třetí odběr měl potvrdit celiakii při opětovném zařazení glutenu do stravy pacienta – opětovný histopatologický obraz střevní sliznice. (Kohout, 2013)

Koncem 20. století se zvýšila citlivost sérologických markerů celiakie. V roce 1990 ESPGHAN změnila kritéria diagnostiky této choroby. Dle klinických podkladů a průkazu autoprotilátek proti markerům celiakie v séru pacienta (dětí ve věku nad 2 roky), měla být provedena biopsie tenkého střeva. Po potvrzení diagnózy bylo nutné dodržovat bezlepkovou dietu (2-3 měsíce). Pokud hladina protilátek proti markerům celiakie po dodržování dietních opatření klesla, nebyla nutná další biopsie. (Frühauf et al., 2012)

V roce 2012, byla vydána toutéž společností aktuální doporučení pro stanovení diagnózy celiakie. Skupina odborníků definovala nové možnosti diagnostiky zaměřené především na specifické autoprotilátky (protilátky proti tkáňové transglutamináze, protilátky proti endomysiu, a protilátky zaměřené na deamidovanou formu gliadinových peptidů) a genetické vyšetření na HLA-DQ2 a HLA-DQ8. (Husby et al., 2012) Specifita a senzitivita protilátek se v této době pohybuje okolo 100 %. (Kohout, 2013) Postup a

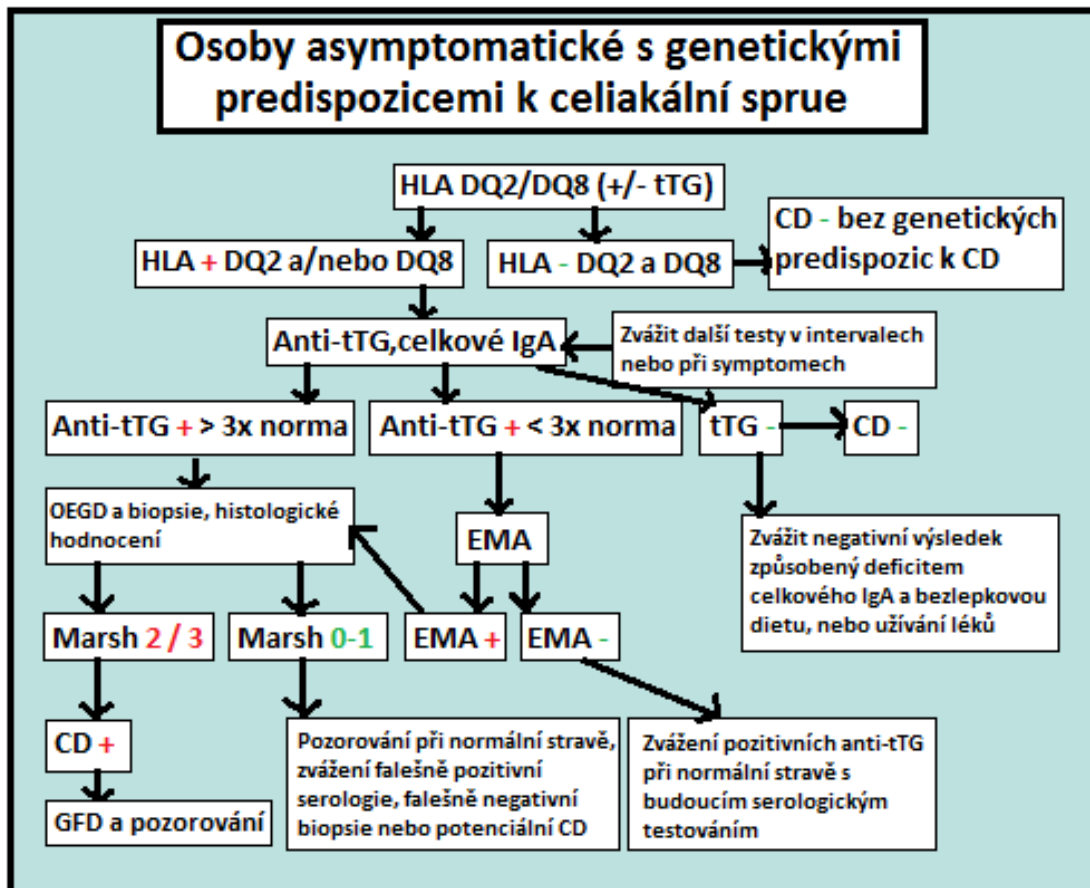
posloupnost doporučení pro správnou diagnostiku u pacientů se symptomy celiakie (Obr. č. 2.) a pacientů, kteří klasické symptomy postrádají (Obr. č. 3.).

Obr. č. 2. Postupy při diagnostice celiakie u pacientů se symptomatickou celiakální sprue. (Husby et al., 2012)



Legenda k obr. č. 2. a 3.: CD = coeliac disease (celiakie), EMA = endomysiální protilátky, GFD = gluten-free diet (bezlepková dieta), OEGD = oesophago-gastro-duodenoskopie, Anti-tTG = anti – tkáňová transglutamináza.

Obr. č. 3. Postupy při diagnostice celiakie u pacientů, kteří jsou asymptomatictí. (Husby et al., 2012)



Podobné tvrzení nabízí i další článek, kde se autor zaměřuje na výskyt celiakální sprue v České republice. Do nedávna byla Celiakální sprue diagnostikována velmi sporadicky a často byli pacienti již ve velmi vážném stavu. V posledních 15 letech došlo k převratu v možnostech stanovení této choroby. Po zavedení screeningových metod vyšetřování protilátek a autoprotilátek ze séra se zlepšil záchyt i časová prodleva diagnostiky celiakie. (Frič et al., 2009)

Jak je zmíněno již v úvodu, současný stav odhadované prevalence celiakie v ČR je 40 – 50tis. nemocných pacientů. I přes značné rozšíření možností diagnostiky této nemoci je rozpoznáno a léčeno pouze 10% postižených.

Pro zlepšení vyhledávání nových pacientů i konečné diagnostice vydalo MZ ČR v roce 2011 - Metodický pokyn pro cílený screening celiakie. Ten v současnosti udává doposud nejnovější doporučení, týkající se zlepšení kvality diagnostiky a zvýšení záchytu celiakie v ČR.

Screening se provádí ve dvou stupních. Nejprve je nutné vytipování možného nositele onemocnění. MZ ČR přesně vymezilo tři cílové skupiny v Tab. č. 2.

Tab. č. 2. Cílové skupiny pro screening celiakie (MZ ČR, 2011)

rizikové choroby a skupiny	podezřelé symptomy	přidružené autoimunitní choroby
příbuzní celiaků 1. stupně	opožděný psychosomatický vývoj	diabetes mellitus 1. typu
dermatitis herpetiformis	nevysvětlený úbytek tělesné hmotnosti	autoimunitní thyreoiditida a jiné autoimunitní endokrinopatie
mikrocytová anémie nereagující na léčbu preparáty železa	nízké sérové železo	autoimunitní hepatitida
předčasná osteoporóza	výrazné izolované zvýšení sérových aminotransferáz (AST, ALT)	systémový lupus erythematoses
terapeuticky rezistentní průjemová forma syndromu dráždivého střeva	izolovaný deficit IgA	primární sklerozující cholangitida
polyneuropatie a myopatie nejasné etiologie	recidivující aftózní stomatitida	primární biliární cirhóza
ataxie nejasné etiologie	hypoplazie zubní skloviny	Sjögrenův syndrom
deprese a poruchy chování		choroby pojiva
amenorhea, pozdní menarche		IgA nefropatie
infertilita a poruchy reprodukce		
Downův a Turnerův syndrom		

Po vytipování následuje provedení sérologického vyšetření autoprotilátek proti tkáňové transglutamináze ve třídě IgA a celkového IgA. Při selektivním deficitu IgA, který se vyskytuje přibližně u 1–3 % celiaků, se doplní vyšetření o stanovení autoprotilátek proti tkáňové transglutamináze ve třídě IgG. Při pozitivě protilátek proti tkáňové transglutamináze (v IgA, popř. IgG třídě) přechází screening do druhého stupně, tj. perorální biopsie aborálního duodena. Druhý stupeň je indikován také v případě vysoce

rizikových symptomů (anémie, úbytek tělesné hmotnosti a průjem, tj. tři a více řídkých stolic denně) i při negativních sérologických testech. Následuje histopatologické vyšetření sliznice tenkého střeva. Klasifikace patologických změn probíhá dle modifikované Marshovy klasifikace – Tab. č. 3. (MZ ČR, 2011)

Tab. č. 3. Modifikovaná Marshova klasifikace (MZ ČR, 2011)

typ	IEL/100 PEB	krypty	klky
Typ 0 (normální)	<30-40	normální	normální
Typ I (infiltrativní)	>40	normální	normální
Typ II (hyperplastický)	>40	hyperplastické	normální
Typ III A (částečná atrofie klků)	>40	hyperplastické	mírná atrofie
Typ III B (subtotální atrofie klků)	>40	hyperplastické	výrazná atrofie
Typ III C (totální atrofie klků)	>40	hyperplastické	vymizení
Typ IV (hypoplastický)	>40	hyperplastické	vymizení

IEL / 100 PEB = intraepiteliální lymfocyty na 100 povrchových epiteliálních buňkách

6. SOUČASNÉ MOŽNOSTI LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY

Pro diagnostiku celiakie jsou důležitými opěrnými body doporučení MZ ČR a ESPGHAN. Tato doporučení mohou významně podpořit odhalení doposud nediodagnostikovaných pacientů. Mohou být pomocným faktorem pro lékaře, laboratoře i potenciální pacienty (v případě sérologické screeningové laboratorní diagnostiky u samoplátců, kdy neindikuje vyšetření lékař).

Sérologické testy, které jsou v současné době dostupné pro diagnózu celiakie, jsou velmi přesné ve srovnání s jinými testy na bázi protilátek používaných pro identifikaci jiných autoimunitních onemocnění. (Castillo et al., 2015)

6.1 *Anti-tkáňová transglutamináza (anti-tTG)*

Anti-tTG protilátky ve třídě IgA byly na konci devadesátých let minulého století zařazeny jako jeden z markerů celiakie, který umožnil vývoj testů ELISA s vysokou specificitou a senzitivitou pro diagnostiku této choroby. Počáteční testy používají morčecí antigen, což vede k vyššímu počtu falešně pozitivních výsledků ve srovnání s novými rekombinantními antigeny na bázi proteinů. V současné době jsou testy vyráběny řadou výrobců s vysokou mírou přesnosti. (Naiyer et al., 2009) Protilátky IgA třídy proti tTG jsou vysoce specifickým markerem nejen pro diagnostiku, ale také pro sledování pacientů s celiakií. Hladina IgA protilátek koreluje s aktivitou onemocnění. (Shirts et al., 2013) Také česká autorka odborného článku, zaměřeného na tuto problematiku, upozorňuje na využití anti-tTG při monitorování léčby pacienta, který dodržuje bezlepkovou dietu. (Půtová, 2013)

Protilátky anti-tTG ve třídě IgA jsou vhodný screeningový marker pro děti starší dvou let (do té doby není imunitní systém zcela vyvinut) a potenciální pacienty, kteří netrpí deficitem celkového IgA. (Leffler a Schuppan, 2010) U pacientů s celkovým deficitem IgA je dle doporučení MZ ČR a ESPGHAN vhodné vyšetřit také protilátky anti-tTG ve třídě IgG. V případě vyšetření pouze IgA třídy protilátek proti tTG hrozí falešně negativní výsledek. Výsledek může být také negativně ovlivněn, pokud pacient dodržuje bezlepkovou dietu několik týdnů před sérologickým vyšetřením. (Leffler a Schuppan, 2010)

Přesto, že mají protilátky anti-tTG vysokou míru citlivosti a specifičnosti, pozitivním sérologickým vyšetřením nelze potvrdit diagnózu celiakie. U většiny jedinců, testovaných na protilátky třídy IgA mají výsledky velmi vysokou negativní prediktivní hodnotu. Ve výjimečných případech mohou protilátky anti-tTG IgA poskytovat falešně pozitivní výsledky v důsledku zkřížené reakce protilátek. Protilátky mohou zkříženě reagovat při střevních i mimo střevních infekcích (např. při městnavém srdečním selhání, chronickém onemocnění jater nebo hypergammaglobulinemii). (Leffler a Schuppan, 2010)

Nejčastěji využívanou diagnostickou metodou kvantitativního vyšetření titru protilátek proti tTG v obou třídách je imunoenzymatická analýza (EIA) ELISA. Jako příklad uvedu na trhu běžně dostupnou soupravu pro toto vyšetření od firmy Test-Line: EIA Transglutaminase IgA. Principem testu je imunoenzymatická reakce typu sandwich: pevná fáze s navázaným specifickým antigenem (rekombinantní antigen h-tTG) – protilátka ve vyšetřovaném vzorku – značená protilátka. Značená protilátka je zvířecí imunoglobulinová frakce proti lidskému IgA konjugovaná křenovou peroxidázou. Substrátem pro peroxidázovou aktivitu je TMB. V případě navázání značené protilátky na protilátky přítomné ve vzorku dojde po přidání TMB k barevné enzymatické reakci za vzniku modrého zbarvení reakční směsi. Reakce je ukončena stopovacím roztokem – změna modrého zbarvení na žluté. Intenzita žlutého zbarvení se změří na spektrofotometru (při vlnové délce 450 nm) a je úměrná koncentraci specifických IgA protilátek přítomných ve vzorku. Kvantitativně stanovený titr protilátek je uváděn v jednotkách: U/ml. Výsledek lze hodnotit i semikvantitativně indexem positivity, ale pro monitoring léčby je vhodnější první varianta. (Test-Line, 2016b)

6.2 Anti-gliadin (anti-GA), anti-deamidovaný gliadin (anti-GDA)

Dle kritérií ESPGHAN je pro diagnostiku celiakie nutná pozitivita alespoň dvou ze tří markerů při současném histopatologickém nálezů střevní sliznice. Dalším screeningovým sérologickým markerem pro diagnostiku a monitorování této choroby jsou protilátky proti deamidovanému gliadinu i samotnému gliadinu. Nejčastěji se k diagnostice těchto markerů využívá ELISA testů. Specifita i senzitivita je závislá na

způsobu purifikace antigenu. Specifita protilátek anti-GA se pohybuje v rozmezí 84 - 100%, senzitivita 65 - 95% u IgA. Ve třídě IgG je specifita 70 - 95% a senzitivita 80 - 95%. (Půtová, 2013)

Zahraniční studie z roku 2012 poukazuje na důležitost stanovení protilátek proti GDA vzhledem ke vztahu k ostatním sérologickým markerům. Senzitivitu IgG protilátek proti GDA studie stanovila jako 94%, u IgA třídy jako 97%. Oproti protilátkám (IgA) proti tTG a AEA, které měly ve studii senzitivitu 96%. Specifita IgG protilátek proti GDA byla 93,6%, ve třídě IgA 92%. Specifita u protilátek (IgA) proti AEA a tTG byla 100%. Frekvence protilátek anti-GDA v obou třídách byla výrazně vyšší u pacientů s celiakií než u osob bez tohoto onemocnění (94% oproti 4,4%). (Sakly et al., 2012)

Obdobné tvrzení se vyskytuje i v další studii. Kde autor uvádí, že protilátky v IgG anti-GDP jsou citlivější a specifitější než protilátky IgG anti-tTG, a z tohoto důvodu se upřednostňují u pacientů s deficitem celkového IgA. (Leffler a Schuppan, 2010) Kromě toho mohou být protilátky IgG proti GDP citlivější než protilátky IgG proti tTG u dětí mladších 2 let. (Castillo et al., 2015) Autoři studie sérologických markerů celiakie prokázali, že hladina protilátek (zejm. protilátek proti GDP ve třídě IgG) jasně koreluje se stupněm poškození střevní sliznice nemocných. Mohou tak být použity nejen při screeningu této choroby, ale i ke sledování pacienta při dodržování bezlepkové diety. (De Chaisemartin et al., 2015)

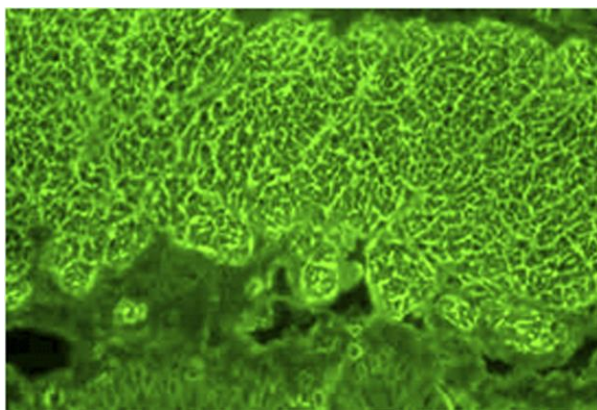
Vhodnou metodou vyšetření pro detekci protilátek proti GDA je imunoenzymatická souprava EIA nebo ELISA. Např. od firmy Test-Line: EIA Gliadin DA IgG (imunoenzymatická souprava pro stanovení IgG protilátek proti deamidovanému gliadinu v lidském séru či plazmě). Principem testu je imunoenzymatická reakce stejného typu jako u anti-tTG. Metoda umožňuje kvantifikaci titru protilátek. Použitý antigen je deamidovaný gliadinový peptid DGPx1. Lze použít vyhodnocení semikvantitativní (index positivity) nebo kvantitativní, v případě kvantitativního výsledku jsou jednotky uváděny v U/ml. Možnost kvantitativního vyhodnocení je upřednostňována. (Test-Line, 2016a)

6.3 Anti–endomyzium (AEA), Anti–retikulin (ARA)

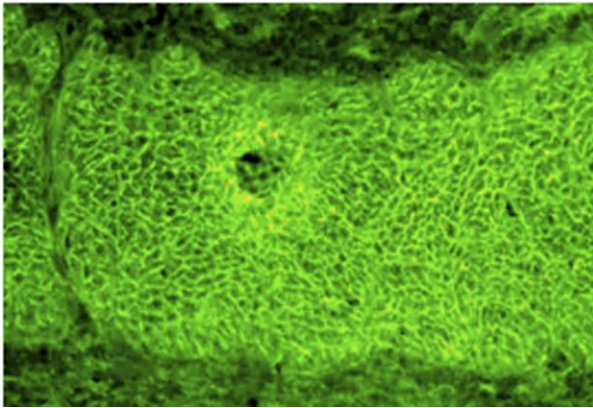
Protilátky proti AEA a ARA jsou dokladem autoimunitního charakteru celiakie. Protilátky reagují se strukturami intercelulární matrix, s retikulinovými vlákny a s endomyziem hladkého svalstva. K průkazu autoprotilátek se využívá technika imunofluorescenční detekce. Substrát pro ARA tvoří nejčastěji tkáň krysí ledviny, pro AEA je to hladká svalovina jícnu opice nebo lidského pupečníku. Specifita protilátek proti AEA je v rozmezí 90 - 100% a senzitivita 97 - 100%. U pacientů se selektivním deficitem IgA (2 - 3 % pacientů s celiakií) nelze protilátky proti AEA ani ARA ve třídě IgA prokázat. (Půtová, 2013)

Diagnostickou soupravou pro imunofluorescenční detekci EMA je např.: Anti-endomysium antibodies (AEA), firmy BioSystems. Jako princip metody v příbalovém informačním letáku k soupravě firma uvádí: Anti-endomyziální protilátky obsažené v séru vyšetřovaného pacienta, se vážou na odpovídající antigeny přítomné ve spodní třetině opičího jícnu. Výsledné komplexy antigen-protilátka jsou detekovány pomocí fluorescenčně značeného anti-lidského IgA (popř. IgG) a vizualizovány fluorescenčním mikroskopem (při vlnové délce: excitační filtr 495 nm a emisní filtr 525 nm). (BioSystems S. A., 2011) Tato metoda je semikvantitativní, hodnocení by měli provádět zkušení odborní laboratorní pracovníci. Interpretace výsledků bývá často formou slovního komentáře: negativní, slabě pozitivní, silně pozitivní. Příklad imunofluorescence viz Obr. č. 4 a 5.

Obr. č. 4. Imunofluorescence: tkáň opičího jícnu - purifikované protilátky proti AEA, snímek barven FITC (fluorochrom – Fluoresceinisothiocyanate) konjugovanými protilátkami proti lidskému IgA. (Zanoni et al., 2006)



Obr. č. 5. Imunofluorescence: tkáň opičího jícnu - purifikované protilátky proti AEA, snímek barven FITC (fluorochrom – Fluoresceinisothiocyanate) konjugovanými protilátkami proti lidskému IgG. (Zanoni et al., 2006)



6.4 HLA-DQ2/DQ8

Nejdůležitějším genetickým rizikovým faktorem pro diagnostiku celiakie je přítomnost HLA-DQ2 nebo DQ8, který je přítomen prakticky u všech pacientů s celiakií. Přítomna je buď jedna alela samostatně, nebo obě alely společně. (Bourgey et al., 2007) Genetické testování na přítomnost HLA-DQ2 a DQ8 má velmi vysokou negativní prediktivní hodnotu (více než 99%). To je velmi užitečná informace při vyloučení celiakie u pacientů s nejasnou duodenální biopsií. (Kaukinen et al., 2002) Testování HLA umožňuje lépe rozlišit nesnášenlivost (intoleranci) lepku od celiakie. (Pallav et al., 2014)

6.5 Biopsie tenkého střeva

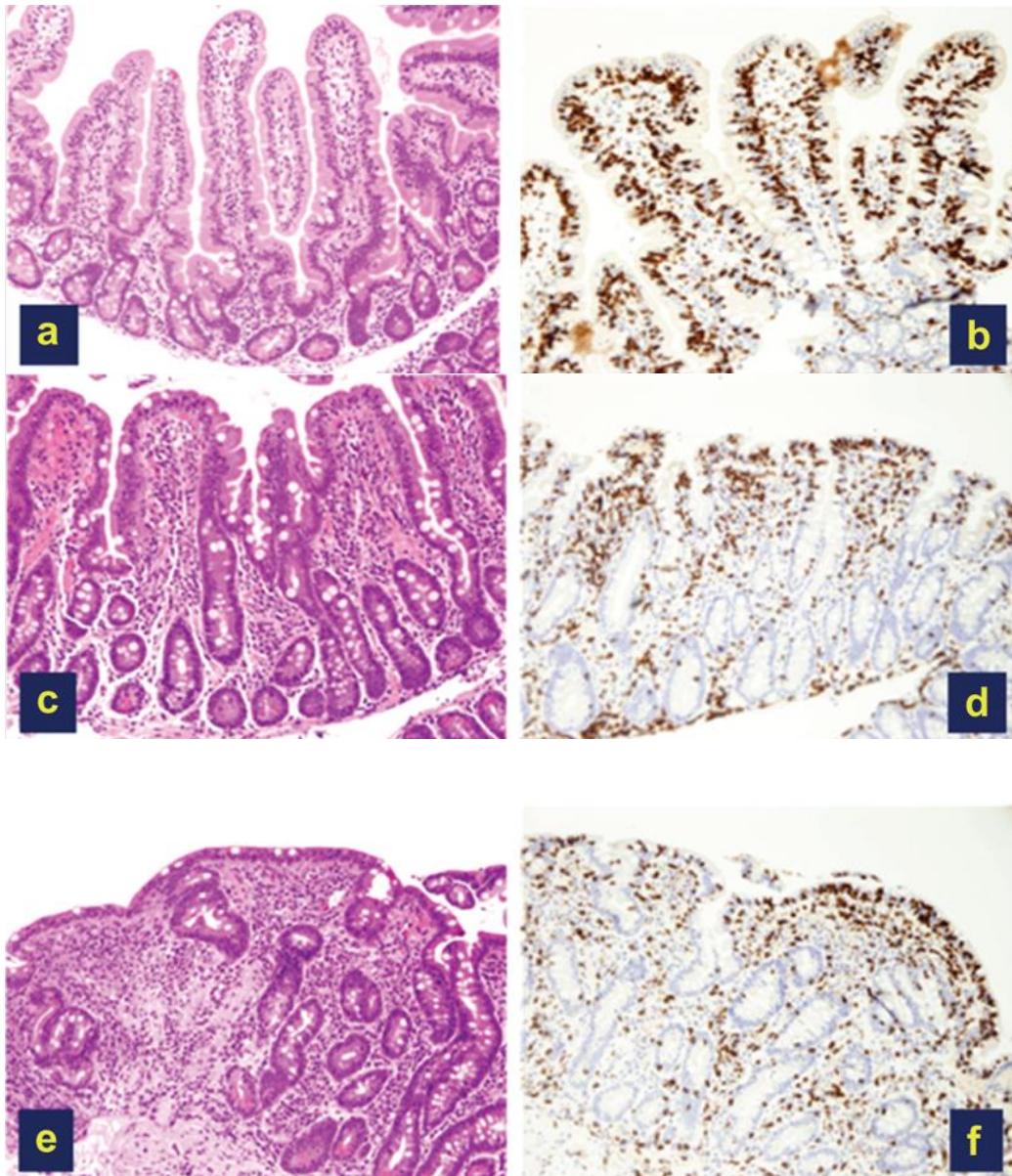
I přes veliký posun v objevu specifických sérologických protilátek jako markerů celiakie je stále biopsie tenkého střeva nutná pro stanovení diagnózy. Dle doporučení MZ ČR je při podezření na tuto chorobu vhodná perorální biopsie aborálního duodena (u malých dětí je preferován odběr enterobiopsií kapslí) v případě: průkazu pozitivních specifických autoprotilátek, nebo v případě vysoce rizikových příznaků i při negativních výsledcích sérologie. (MZ ČR, 2011)

Vzhledem k nejednotným projevům celiakie, někteří autoři doporučují čtyři až šest endoskopických biopsií z dvanáctníku, se dvěma vzorky z regionu bulbus duodeni. Zároveň upozorňují na důležitost správné interpretace histologických nálezů z různých

oblastí střeva. (Bao et al., 2012) Různé stupně poškození střevní sliznice jsou zobrazeny v Obr. č. 6.

MZ ČR doporučuje odběr 4 – 5 vzorků tkáně. Doporučení obsahuje také popis přípravy histologického preparátu pro správné posouzení stavu tkáně a tím zdravotního stavu pacienta. Po odebrání biopsie se provádí histopatologické vyšetření vzorku sliznice tenkého střeva. Tkáňové řezy, fixované formolem a zalité do parafínu (základní barvení tkáně: hematoxylinem-eosinem) se hodnotí pod světelným mikroskopem. Klasifikace histopatologických změn probíhá dle modifikované Marshovy klasifikace viz Tab. č. 3. (MZ ČR, 2011).

Obr. č. 6. Rozdílné stupně střevního poškození u pacientů s celiakií. (Volta a Villanacci, 2011)



a-b normální villi a patologický nárůst intraepiteliálních lymfocytů (a - haematoxilin/eosin, b - CD3 barvení). c-d mírná až střední villová atrofie a patologický nárůst intraepiteliálních lymfocytů (c - haematoxilin/eosin, d - CD3 barvení). e-f totální villová atrofie a patologický nárůst itraepiteliálních lymfocytů (e - haematoxilin/eosin, f - CD3 barvení).

7. LÉČBA CELIAKIE

Odstranění antigenních podnětů zodpovědných za abnormální imunitní reakce obvykle zamezí projevům celiakie. Léčbou je tedy celoživotní bezlepková dieta. Lepek a jeho bílkoviny se nachází především v pšenici, žitu i ječmeni. Tyto obiloviny tvoří základ stravy většiny běžně se stravujících lidí. Bylo zjištěno, že dietní prahová hodnota pro podporu hojení střevního zánětu u celiakie musí být nižší než 50 mg glutenu na den. Ačkoli histologické zlepšení může trvat měsíce až roky, přibližně 95% pacientů, kteří dodržují bezlepkovou dietu, vykazují klinické zlepšení během dnů až týdnů. (Pelkowski a Viera, 2014)

Vzhledem k tomu, že lepek je hojně využíván v potravinářském průmyslu, je mnoho potravin lepkem kontaminováno. (Makharia, 2014) Lepek obsahuje velké množství imunogenního peptidu, který může vyvolat imunitní reakci u geneticky náchylných jedinců. (Carroccio et al., 2011) Jednou z léčebných alternativ je možnost pěstování geneticky modifikovaných obilovin, které by obsahovaly neimunogenní lepek. Problém je, že geny kódující imunogenní peptidy jsou umístěny v mnoha různých genetických lokusech genomu pšenice. Tlumení nebo delece velkého množství genů by znemožnila životaschopnost pšenice. (Makharia, 2014)

Další zajímavou volbou pro léčbu celiakie by mohla být enzymová terapie, která by umožnila degradaci glutenu ještě dřív, než by stihl vyvolat imunitní odpověď u exponovaného jedince. Existuje studie, která zkoumala preparát založený na enzymoterapii. Jedná se o preparát ALV003 – obsahující dvě formy proteáz (glutenáz). Jednou z nich je cystein-endoproteáza z naklíčených semen ječmene, druhou je propyl peptidáza (PEP) produkovaná mikroorganismem *Sphingomonas capsulatum*. Nejsou inaktivovány v kyselém prostředí žaludku a maximálního účinku dosahují ve směsi 1:1. (Pyle et al., 2005) Studie měla několik fází, při nichž bylo prokázáno, že pacienti, kteří byli léčeni placebem, měli výrazně zhoršený poměr mezi velikostí klků a hloubkou Lieberkúhnových krypt, na rozdíl od pacientů léčených preparátem ALV003. Dále nebyly zjištěny žádné závažné vedlejší nežádoucí účinky. (Lähdeaho et al., 2011) Nevýhodou enzymatických preparátů je jeho efektivní použití pouze v případě stopového množství požití glutenu, při konzumaci běžné stravy obsahující lepek je enzymoterapie neúčinná.

O produktu ALV003 se tedy uvažuje pouze jako o doplňkovém léku při léčbě celiakie. (Makharia, 2014)

Neméně zajímavé se při léčbě celiakální sprue jeví využití cytokínů a chemokínů. Jedná se zejména o blokaci cytokínů INF- γ a TNF- α , které se uplatňují při atrofii střevní sliznice. Anti-IFN- γ působí preventivně před poškozením zdravé střevní sliznice, při expozici zánětlivými cytokíny uvolňovanými gliadin-specifickými T buněčnými liniemi. (Przemioslo et al., 1995) Dále jsou ve studiích využívány blokátory IL-15 (Anti-IL-15). IL-15 podporuje stimulaci a proliferaci cytotoxických T-lymfocytů, které indukují apoptózu epitelu a tím i vývoj refrakterní celiakie a její případnou maligní transformaci. (Mention et al., 2003) Dalším významným představitelem cytokínů, jejichž blokací můžeme podpořit léčbu celiakie je integrín $\alpha 4\beta 7$ a slizniční adhezní molekula MAdCAM-1. (Di Sabatino et al., 2009) Pro migraci lymfocytů do místa zánětu T-buňky exprimují integríny $\alpha 4\beta 7$, které mají schopnost vázat se na molekulu MAdCAM-1. (Salmi a Jalkanen., 1999) Molekula MAdCAM-1 má výrazně zvýšenou odpověď na stimuly u pacientů s neléčenou celiakií. (Di Sabatino et al., 2009)

Jako možnost léčby zejm. refrakterní celiakie lze využít protizánětlivé léky, např. glukokortikoidy. U klasických forem celiakální sprue většinou ke zlepšení zdravotního stavu pacientů stačí bezlepková dieta. (Makharia, 2014)

8. PŘÍKLADY PUBLIKOVANÝCH KAZUISTIK

8.1 Pacientka č. 1 - žena, 18 let, (Minařík et al., 2012)

Opakovaný kolapsový stav, příjem ženy na interní ambulanci a následná hospitalizace. Dosud neléčená, neužívala žádných omamných látek. V rodinné anamnéze častější výskyt onemocnění štítné žlázy. Ostatní anamnézy: epidemiologická, pracovní a sociální – bez závažných nálezů.

Tři dny před hospitalizací se u mladé ženy objevily subfebrilie do 38 °C, dále nevolnost, slabost, dušnost. Jednou se u pacientky vyskytla řídká stolice. Bez známek úbytku na váze. Dále pozorovala brnění konečků prstů, zhoršené ovládání rukou. Parametry, které byly zjištěny po příjmu pacientky k hospitalizaci viz Tab. č. 4., Krevní obraz viz Tab. č. 5.

Tab. č. 4. Parametry zjištěné po přijmutí pacientky k hospitalizaci (Minařík et al., 2012)

Výška	168 cm
Váha	51 kg
Krevní tlak	110/70 mmHg
Pulz	100/1 min
CRP	1,2 mg/l

Tab. č. 5. Krevní obraz – hemogram (data: Minařík et al., 2012)

	hodnota u pacientky	referenční meze (ženy)
Leukocyty	1,9 x 10 ⁹ /l	4-10 x 10 ⁹ /l
Erytrocyty	0,87 x 10 ¹² /l	3,8-4,9 x 10 ¹² /l
Hemoglobin	35 g/l	120-160 x 10 ⁹ /l
Hematokrit	0,1	0,37-0,47
MCV	114 fl	82-96 fl
MCH	33,1 pg	27-34 pg
MCHC	34,4 g/dl	31,5-36 g/dl
Trombocyty	119 x 10 ⁹ /l	150-400 x 10 ⁹ /l
Retikulocyty	0,008	0,005-0,03

Tab. č. 6. Vstupní nefyziologické biochemické parametry v séru pacientky (data: Minařík et al., 2012)

	hodnota u pacientky	referenční meze
Vitamin B12	<83 ng/l	187-883 ng/l
Kys. Listová	1,1 µg	3-19,8 µg/l
LDH	>42 µmol/l	2,25-3,55 µmol/l
Železo	6,4 mol/l	6,6-26 µmol/l
Parathormon	104 ng/l	10-69 ng/l
Fosfor	1,68 mmol/l	0,8-1,6 mmol/l
Vápník	1,95 mmol/l	2,1-2,9 mmol/l
Hořčík	0,75 mmol/l	0,8-1,05 mmol/l
Celk. bílkovina	51,3 g/l	65-85 g/l
AST	2,29 µmol/l	0,22-0,94 µmol/l
Vitamin D3	22,7 nmol/l	27,7-107 nmol/l

Dle krevního obrazu viz Tab. č. 5. byla u pacientky zjištěna závažná makrocytová anémie (pancytopenie). Dle biochemických nálezů viz Tab. č. 6. je patrná zejm. velmi nízká hladina vitamínu B12 a naopak vysoká hladina LDH (laktátdehydrogenázy). Při vyšetření kostní dřeně byla prokázána kompletní megaloblastická přestavba s mírným zvýšeným sideroblastů. Negativní byla vyšetření neurologická, gynekologická a revmatologická. Dle dalších vyšetření byla prokázána chronická lymfocytární thyreoiditida bez zvětšených příštítných tělísek.

Dle biochemických nálezů vyjádřeno podezření na malabsorbční syndrom. Gastroskopické vyšetření zachytilo v distálním duodenu snížení řas, políčkování sliznice a štěrbinovité eroze. Definitivní diagnóza byla potvrzena histologickým vyšetřením, kde se prokázala atrofie resorbčního úseku a lymfocytární celulizace lamina propria mucosae. Pozitivní byl také nález protilátek proti tkáňové transglutamináze (> 300 U/ml), endomyziu i gliadinu.

Konečná diagnóza pacientky: celiakální sprue doprovázená těžkým malabsorbčním syndromem s manifestní megaloblastovou anémií a asociovanou chronickou lym-

focytární thyreoiditidou. Léčba substituční, zejm. dietní opatření, měla rychlou příznivou odezvu v hemogramu i subjektivního stavu pacientky. Dále byla předána do péče gastroenterologické ambulance. (Minařík et al., 2012)

8.2 Pacient č. 2 – chlapec, 13-25 měsíců (Fuchs, 2009)

Dítě narozeno jako donošené, v kojeneckém věku minimální nemocnost. Kojen do 7 měsíců, po té odstaven kvůli nespecifickému střevnímu zánětu matky. V období osmého měsíce byl chlapci zařazen do stravy lepek. Po zavedení příkrmů změna stolice – zřídnutí s nestrávenými zbytky. Stolice 4 - 5x denně.

Rodinná anamnéza: matka pozitivní psoriasis a morbus Crohn, otci v dětství diagnostikována celiakie – dieta nedodržována, bez subjektivních obtíží. Chlapec odeslán na vyšetření.

Provedená vyšetření: Imunologické vyšetření IgG, IgA, IgM v normě. IgE hluboká norma (2,40 MJ/ml). V případě protilátek proti tkáňové transglutamináze, gliadinu, endomysiu i retikulinu – vše v normě. Hodnoty krevního obrazu taktéž v normě. Negativní vyšetření moči, parazitologie, okultní krvácení, sérologie yersinií, stolice na campylobacter. Biochemická vyšetření v normě, pouze lehce snížený ferritin. Sonografické vyšetření negativní. Po provedených vyšetřeních doporučena normální životospráva.

Další příjem chlapce na gastroenterologii až ve věku 25 měsíců. Během posledního měsíce úbytek na váze ze 13kg na 11kg. Vodnatá stolice 1 - 2x denně. Vysoký příjem tekutin, nechutenství a značná mrzutost dítěte. Zkusmo vysazeno kravské mléko a mléčné výrobky. Výška je na 50. percentilu, BMI k věku dosahuje na hodnotu pouze 10. percentil viz Tab. č. 7. Patologické biochemické hodnoty viz Tab. č. 8.

Tab. č. 7. Parametry pacienta při příjmu (data: Fuchs, 2009)

Výška	88 cm
Váha	11 kg

Tab. č. 8. Biochemické nefyziologické hodnoty (data: Fuchs, 2009)

	hodnota u pacienta	kritéria hodnot
AST	1,55 μ kat/l	hraniční
ALT	1,0 μ kat/l	hraniční
Celk. bílkovina	41 g/l	nízká
Albumin	27 g/l	hraniční
Zinek	9 μ mol/l	velmi nízký
Osmolalita moči	69 mmol/kg	velmi nízká
Osmolalita séra	276 mmol/kg	hraniční
Sodík	132 mmol/l	hraniční

Imunologická vyšetření: protilátky proti tkáňové transglutamináze v IgG třídě: 10,7 g/l (norma do 6 g/l); v třídě IgA: 130 g/l (norma do 3,9 g/l). Protilátky proti endomysiu IgG slabě pozitivní, v IgA třídě silně pozitivní. Immunoglobuliny snižené ve všech třídách na 30-50 % normy.

Provedena sonografie břicha a následně enterobiopsie. Nález floridní celiakální sprue s těžkou aktivní enteritidou. Obraz totální atrofie - klky nejsou patrné, dále intraepiteliální lymfocyty v počtu 68, enterocyty s apoptózou, laktáza 0 %, sacharáza 20 %, threaláza 0 %.

Po stanovení diagnózy léčba substituční, úprava stravování a pitného režimu. Stav po úpravách – rychlé zlepšení. Dodržována přísná bezlepková i bezlaktózová dieta. Při kontrolách u dítěte zaregistrován pozitivní trend v nárůstu hmotnostní křivky. Úprava stolice, z tekuté na formovanou, max. 2x denně. (Fuchs, 2009)

8.3 Pacient č. 3 – žena, 39 let (Galanská, 2011)

Žena odeslána na vyšetření na alergologii pro rozsáhlou recidivu aftů dutiny ústní. Rozsáhlé afty přes polovinu jazyka znesnadňovali pacientce mluvení.

Rodinná anamnéza: u matky pozitivní perniciózní anémie, otec zemřel na plicní karcinom, mladší syn - potravinová intolerance na cibuli a kakao. Oba synové atopický ekzém.

Osobní anamnéza pacientky: od dětství infekce horních i dolních dýchacích cest. V minulosti trpěla perzistující anemií, refrakterní k terapii. Sledována pro alergii na plísně. Afty od dětství, užívala vit. B – bez efektivního zlepšení. Váha u pacientky dlouhodobě stabilní. Bez problémové stolice, bez nauzey a zvracení. Nechuť k jídlu. CRP <6,0 mg. Další údaje viz krevní obraz Tab. č. 9.

Tab. č. 9. Hematologické údaje pacientky (Galanská, 2011)

	hodnota u pacientky	referenční meze
Leukocyty	4,7 x 10 ⁹ /l	4-10 x 10 ⁹ /l
Erytrocyty	3,82 x 10 ¹² /l	4,2-5,4 x 10 ¹² /l
Hemoglobin	87 g/l	125-160 x 10 ⁹ /l
Hematokrit	0,283	0,37-0,47
MCV	74,1 fl	78-100 fl
MCH	22,8 pg	27-34 pg
Trombocyty	284 x 10 ⁹ /l	150-450 x 10 ⁹ /l
Monocyty	9,80%	neuveďeno
Granulocyty	63%	neuveďeno
Lymfocyty	27%	neuveďeno
FW	25/60	neuveďeno

Imunologické vyšetření: IgG: 14,21 g/l. Ostatní imunoglobuliny i specifické IgE, včetně komplementu C3 a C4 a cirkulujících imunokomplexů – bez patologických změn. Autoprotilátky (ANA, ENA screen, ANCA TG, TPO). Dodatečně stanoveno viz Tab. č. 10.

Tab. č. 10. Gastrologický panel autoprotilátek (Galanská, 2011)

	třída IgG	třída IgA	referenční meze
anti-tkáňová transglut.	neprovedeno	800,000 AU/ml	do 8 AU/ml
anti-gliadin	127,086 arb. j.	263,183 arb. j.	do 19,90 arb. j.
endomysium	neprovedeno	silně pozitivní (+++)	neuveďeno
ASCA	4,1 RU/ml	30,460 RU/ml	do 20 RU/ml

V tomto bodě byla diagnóza stanovena jako těžká mikrocytární anémie a suspekce na celiakální sprue. Pacientka odeslána na enterobiopsii ke stanovení konečné diagnózy. Výsledek histologického vyšetření duodena – subtotální až totální atrofie sliznice, zvýšený počet intraepiteliálních lymfocytů.

Po dvou měsících subjektivně zcela bez recidivy aftů, po půlroční kontrole zlepšení krevního obrazu a pokles autoprotilátkové aktivity endomysia, anti-tkáňové transglutaminázy, anti-gliadinu. Plazmatické železo v normě. Doporučena celoživotní bezlepková dieta. Celiakální sprue byla diagnostikována i jednomu ze synů přesto, že neměl subjektivní potíže. (Galanská, 2011)

9. ZÁVĚR

Při diagnostice celiakie považuji za velmi důležité sledovat aktuální doporučení MZ ČR i evropské společnosti ESPGHAN.

Dle výsledků zde uvedených studií je patrné, že pro správnou laboratorní diagnostiku celiakie je vhodné kombinovat vyšetření sérologických screeningových markerů - protilátek proti: tkáňové transglutamináze, deamidovanému gliadinu a endomyziu. Vzhledem k vysoké senzitivě i specifitě těchto protilátek, je velká pravděpodobnost záchytu doposud nedagnostikovaných nemocných.

Jednotlivé laboratoře často nabízí tzv. celiakální panel. Laboratoř ve své nabídce vyšetření doporučí lékařům, či samoplátcům, které vyšetření je vhodné zahrnout do screeningu celiakie. Zde bych ráda upozornila, že některé laboratoře opomíjí vyšetření autoprottilátek (zejm. u tkáňové transglutaminázy a deamidovaného gliadinu) v IgG třídě. Z citací je patrné, že protilátky v IgG třídě jsou odborníky uznávaným markerem celiakie. Je nutné brát v úvahu možný celkový deficit IgA a také nedostatečně vyvinutou imunitu u dětí mladších dvou let.

Pro potvrzení diagnózy celiakie je stále nutná biopsie tenkého střeva. Tato invazivní technika je zatím nezbytnou součástí vyšetření.

I přes veškerá dostupná doporučení a možnosti vyšetření je v ČR léčeno pouhých 10 % nemocných. (MZ ČR, 2011) To může být způsobeno různorodostí symptomů celiakie (či jejich nepřítomnost), jak dokazují zde uvedené kazuistiky. Rozpoznat a vyšetřit potencionálního pacienta je nelehkým úkolem lékařů.

Věřím, že sérologické markery celiakie pomohou zvýšit úspěšnou diagnostiku této nemoci. Tím se sníží negativní důsledky neléčené celiakie a při přísném dodržování bezlepkové diety takélepší kvalita života pacientů.

10. POUŽITÁ LITERATURA

- Bao, F., Green, P., H., Bhagat, G. An update on celiac disease histopathology and the road ahead. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2012, roč. 136, s. 735-45
- Bourgey, M., Calcagno, G., Tinto, N., Gennarelli, D., Margaritte-Jeannin, P., Greco, L., Limongelli, M., G., Esposito, O., Marano, C., Troncione, R., Spampanato, A., Clerget-Darpoux, F., Sacchetti, L. HLA related genetic risk for coeliac disease. *Gut*, 2007, roč. 56, s. 1054–9. Převzato z Castillo et al., 2015.
- Carroccio, A., Di Prima, L., Noto, D., Fayer, F., Ambrosiano, G., Villanacci, V., Lammers, K., Lafiandra, D., De Ambrogio, E., Di Fedè, G., Iacono, G., Pogna, N. Searching for wheat plants with low toxicity in celiac disease: between direct toxicity and immunologic activation. *Dig. Liver. Dis.*, 2011, roč. 43, s. 34–9. Převzato z De Chaisemartin et al., 2015.
- Castillo, N., E. Theethira, T., G, Leffler, D., A. The present and the future in the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterol. Rep.*, 2015, roč. 3, s. 3–11.
- De Chaisemartin, L., Meatchi, T., Malamut, G., Fernani-Oukil, F., Hosking, F., Rault, D., Bellery, F., Cellier C., Dragon-Durey, M., A. Application of Deamidated Gliadin Antibodies in the Follow-Up of Treated Celiac Disease. *PLoS One*, 2015, roč. 1, s. 0, e0136745.
- Di Sabatino, A., Rovedatti, L., Rosado, M., M., Carsetti, R., Cozza, G., R., MacDonald, T., T. Increased expression of mucosal addressin cell adhesion molecule 1 in the duodenum of patients with active celiac disease is associated with depletion of integrin alpha4beta7-positive T cells in blood. *Hum. Pathol.*, 2009, roč. 40, s. 699–704. Převzato z Makharia, 2014.
- Firma: BioSystems S. A., Data sheet: *Anti-endomysium antibodies (AEA)*. 2011, Verze M44548i-24, s. 1.

- Firma: Test-Line, Data sheet: *EIA Gliadin DA IgG*. Verze 8, 2016a, s. 3.
- Firma: Test-Line, Data sheet: *EIA Transglutaminase IgA*. Verze 5, 2016b, s. 3.
- Frič, P., Nevoral, J., Tlaskalová-Hogenová, H., Dvořák, M., Pozler, O., Kohout, P., Frühauf, P., Kocna, P. Cílený screening celiakální sprue (CS): doporučení odborných společností. *Klin. biochem. metabol.*, 2009, roč. 17, s. 55-56. ISSN: 1210-7921.
- Frühauf, P., Szitányi, P., Vyhnánek, R. Nové doporučení ESPGHAN pro diagnostiku celiakie. *Pediatr. prax.*, 2012, roč. 13, s. 211–213.
- Fuchs, M. Kazuistika celiakie. *Lek. listy*, 2009, roč. 58, s. 13-14.
- Galanská, R. Suspekce na celiakální sprue v ambulanci alergologa a klinického imunologa. *Sestra*, 2011, roč. 21, s. 34-36. ISSN: 1210-0404.
- Gibson, P. R., Shepherd, S. J., Tye-Din J. A. For celiac disease, diagnosis is not enough. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2012, roč. 10, s. 900-901.
- Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabo, I., R., Mearin, M., L., Phillips, A., Shamir, R., Troncone, R., Giersiepen, K., Branski, D., Catassi, C., Leigeman, M., Mäki, M., Ribes-Koninckx, C., Ventura, A., Zimmer, K., P. ESPGHAN Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2012, roč. 54, s. 136–160.
- Kaukinen, K., Partanen, J., Mäki, M., Collin, P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 2002, roč. 97, s. 695–9. Převzato z Gibson et al., 2012.
- Kohout, P. Celiakie – kam se posouvá diagnostika tohoto onemocnění? *Lek. listy*, 2013, roč. 2013, s. 26-28.
- Kohout, P. Diagnostika a léčba celiakie. *Intern. med.*, 2006, roč. 8, s. 324-326. ISSN: 1212-7299.

- Krejsek, J., Kopecký, O. *Klinická imunologie*. 1. vyd. Pardubice: NUCLEUS HK, 2004, s. 831-838. ISBN 80-86225-50-X.
- Lähdeaho, M., Maki, M., Kaukinen, K., Laurila, K., KärjäLahdensuu, T., Airaksinen, A., et al. ALV003, a novel glutenase, attenuates gluten-induced small intestinal mucosal injury in celiac disease patients: a randomized controlled phase 2A clinical trial. *Gastroenterology*, 2014, roč. 146, s. 1649-1658.
- Leffler, D., A., Schuppan, D. Update on serological testing in celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 2010, roč. 105, s. 2520–24. .
- Makharia, G., K., Current and emerging therapy for celiac disease. *Front. Med.*, 2014, roč. 1., s. 1-11.
- Mention, J., J., Ben Ahmed, M., Bègue, B., Barbe, U., Verkarre, V., Asnafi, V., Colombel, J., F., Cugnenc, P., H., Ruemmele, F., M., McIntyre, E., Brousse, N., Cellier, C., Cerf-Bensussan, N. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease. *Gastroenterology*, 2003, roč. 125, s. 730–45. Převzato z Makharia, 2014.
- Minařík, J., Skácelová, M., Horák, P., Smržová, A., Faltýnek, L., Ščudla, V. Kolapsový stav u 18leté dívky – kazuistika. *Transfuze Hematol.*, 2012, roč. 18, s. 81-84. ISSN: 1213-5763; 1805-4587.
- MZ ČR. *Cílený screening celiakie (metodický pokyn)*. 2011, Věstník č. 3., Částka 3, s. 51-54.
- Naiyer, A., J., Hernandez, L., Ciaccio, E., J., Papadakis, K., Manavalan, J., S., Bhagat, G., Green, P., H. Comparison of commercially available serological kits for the detection of celiac disease. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2009, roč. 43, s. 225-32. Převzato z Castillo et al., 2015.
- Pallav, K., Kabbani, T., Tariq, S., Vanga, R., Kelly, C., P., Leffler, D., A. Clinical utility of celiac disease-associated HLA testing. *Dig. Dis. Sci.*, 2014, roč. 59, s. 2199–206.

- Pelkowski, T. D., Viera, A. J. Celiac disease: diagnosis and management. *Am. Fam. Physician.*, 2014, roč. 89, s. 99-105.
- Przemioslo, R., T., Lundin, K., E, Sollid, L., M., Nelufer, J., Ciclitira, P., J. Histological changes in small bowel mucosa induced by gliadin sensitive T lymphocytes can be blocked by anti-interferon gamma antibody. *Gut*, 1995, roč. 36, s. 874–9. Převzato z Makharia, 2014.
- Půtová, I. Laboratorní diagnostika celiakie. *Cs revmatol*, 2013, roč. 21, s. 158-159. ISSN: 1210-7905; 1805-4463.
- Pyle, G., G., Paaso, B., Anderson, B., E., Allen, D., D., Marti, T., Li, Q., Siegel, M., Khosla, C., Gray, G., M. Effect of pretreatment of food gluten with prolyl endopeptidase on gluten-induced malabsorption in celiac sprue. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2005, roč. 3, s. 687–94.
- Sakly, W., Mankai, A., Ghdess, A., Achour, A., Thabet, Y., Ghedira, I. Performance of anti-deamidated gliadin peptides antibodies in celiac disease diagnosis. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, 2012, roč. 36, s. 598-603. Abstrakt databáze Medline.
- Salmi, M., a Jalkanen, S. Molecules controlling lymphocyte migration to the gut. *Gut*, 1999, roč. 45, s. 148–53. Převzato z Makharia, 2014.
- Shirts, B., H., Bennett, S., T., Jackson, B., R. Using patients like my patient for clinical decision support: institution-specific probability of celiac disease diagnosis using simplified near-neighbor classification. *J. Gen. Intern. Med.*, 2013, roč. 28, s. 1565-72.
- Sýkora, J. Celiakální sprue – současná koncepce a praktický pohled. *Vox paediatricae*, 2006, roč. 6, s. 16-17. ISSN: 1213-2241.
- Volta, V., Villanacci, V. Celiac disease: diagnostic criteria in progress. *Cel. Mol. Immunol.*, 2011, roč. 8, s. 96–102.

- Zanoni, G., Navone, R., Lunardi, C., Tridente, G., Bason, C., Sivori, S., Beri, R., Dolcino, M., Valletta, E., Corrocher, R., Puccetti, A. In Celiac Disease, a Subset of Autoantibodies against Transglutaminase Binds Toll-Like Receptor 4 and Induces Activation of Monocytes. *PLoS Med*, 2006, roč. 3, s. e358.
- Zima, T. *Laboratorní diagnostika. 2.*, dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2007, s. 623, 625. ISBN 978-80-7262-372-3.