

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D) ÉRTEKEZÉS

**A COELIAKIÁHOZ TÁRSULÓ KÓROS
ANTITESTVÁLASZOK IMMUNOLÓGIAI
ÖSSZEFÜGGÉSEINEK ÉS SPECIFICITÁSÁNAK
TANULMÁNYOZÁSA**

Dr. Nemes Éva



**Témavezető: Dr. Korponay-Szabó Ilma
egyetemi docens**

**Debreceni Egyetem
Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Gyermecklinika
2008**

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	1
1. BEVEZETÉS	2
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1 Coeliakia	5
2.1.1 Epidemiológia	5
2.1.2 Pathogenesis	7
2.1.2.1 Genetikai faktorok.....	7
2.1.2.2 A gluten jelentősége.....	7
2.1.2.3 A szöveti transzglutamináz.....	8
2.1.2.4 Gluten-specifikus T-sejtek.....	10
2.1.2.5 Innate immunválasz.....	11
2.1.3 Klinikai tünetek	12
2.1.3.1 Klasszikus CD.....	12
2.1.3.2 CD alcsoportok.....	13
2.1.3.3 Társuló betegségek.....	13
2.1.4 Diagnózis	14
2.1.4.1 Laboratóriumi vizsgálatok.....	14
2.1.4.2 Képkötő vizsgálatok.....	14
2.1.4.3 Szerológiai vizsgálatok.....	14
2.1.4.4 Szövettani vizsgálat.....	16
2.1.4.5 HLA-DQ tipizálás.....	18
2.1.5 Kezelés	18
2.1.6 Szövődmények	19
2.1.6.1 Refrakter sprue.....	19
2.1.6.2 Enteropathia asszociált T-cell lymphoma (EATCL).....	19
2.1.6.3 Rosszindulatú daganatok.....	20
2.1.6.4 Hyposplenia.....	20
2.2 Hepatitis B fertőzés	20
2.3 Haptoglobin polimorfizmus	21
3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	23
3.1 Betegek	23
3.1.1 Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása BiocardTM gyorseszttel	24
3.1.2 Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése CD-ben	24
3.1.3 Lymphocytá sejtfelszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegeknél	26
3.1.4 CMV fertőzés lehetséges betegség provokáló hatásának vizsgálata	26
3.1.5 Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata	26
3.2 Módszerek	27
3.2.1 Szövettani vizsgálat	27
3.2.2 A coeliakia-specifikus antitestek meghatározása	27
3.2.3 Kereskedelmi CD gyorseszttel	27
3.2.4 Anti-HBs szerológia	29
3.2.5 Lymphocytá szubpopulációk	29
3.2.6 Non-organ specifikus autoantitestek	29
3.2.7 CMV szerológia	29
3.2.8 gASCA IgG, AMCA IgG, ACCA IgA ellenanyag meghatározás	30
3.2.9 OMP ELISA assay	30

3.2.10	Haptoglobin fenotípus meghatározás	30
3.2.11	HLA-DQ tipizálás.....	30
3.2.12	Statisztikai analízis	31
4.	EREDMÉNYEK	32
4.1	Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard™ gyorstesztel	32
4.2	Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése coeliakiában.....	35
4.3	Lymphocyta sejtfelszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegeknél.....	42
4.4	A CMV fertőzés lehetséges betegség provokáló hatásának vizsgálata	46
4.5	Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata.....	48
5.	MEGBESZÉLÉS	50
5.1	Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard™ gyorstesztel	50
5.2	Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése coeliakiában.....	53
5.3	Lymphocyta sejtfelszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegeknél.....	56
5.4	CMV fertőzés lehetséges betegség provokáló hatásának vizsgálata	59
5.5	Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata.....	61
5.6	ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK	62
6.	ÖSSZEFOGLALÁS	64
	SUMMARY	65
7.	IRODALOMJEGYZÉK	67
7.1	Publikációk	86
8.	TÁRGYSZAVAK	89
9.	KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	90

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACCA: anti-chitobioside carbohydrate elleni antitest

AMCA: anti-mannobioside carbohydrate elleni antitest

Anti-DNS: dezoxiribonukleinsav elleni antitest

ANF: anti-nukleáris faktor

Anti-HBc: hepatitis B core antigén elleni antitest

Anti-HBe: hepatitis B „e” antigén elleni antitest

Anti-HBs: hepatitis B felületi antigén elleni antitest

APC: antigén prezentáló sejt

ARA: reticulín antitest

ASCA: *Saccharomyces cerevisiae* elleni antitest

CD: coeliakia

CI: konfidencia intervallum

CMV: cytomegalovírus

CT: Computerised Tomography

DNS: dezoxiribonukleinsav

DH: dermatitis herpetiformis

EATCL: enteropathia asszociált T-sejt lymphoma

EDTA: etiléndiamin-tetraecetsav

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

EMA: endomysium antitest

ENA: extractable nuclear antigen

HBeAg: hepatitis B „e” antigén

HBsAg: hepatitis B felületi antigén

HBV: hepatitis B vírus

HLA: human leukocyta antigén

Hp: haptoglobin

IBD: gyulladákos bélbetegség

ICOS: inducible co-stimulator

IDDM: insulin dependens diabetes mellitus

IEL: intraepitheliális lymphocyta

IFN- γ : interferon- γ

IL: interleukin

ISR: immun status ratio

JEA: jejunális antitest

MHC: major hisztokompatibilitási komplex

OMP: bakteriális külső membrán protein

PKC: protein kináz C

TCR: T-sejt receptor

TGA: transzglutamináz (TG2) specifikus antitest

TG2: szöveti (2-es típusú) transzglutamináz

TLR: Toll-like receptor

TNF- α : tumor necrosis factor- α

1. BEVEZETÉS

A gyermekgastroenterológia a gyermekkori gyomor-bélrendszeri betegségekkel foglalkozó önálló tudományág. Szorosan kapcsolódik a gyermekgyógyászathoz és a gastroenterológiához, de határterületét jelenti többek között az infektológiának és az immunológiának is. A gyomor-bélrendszeri panaszok nagyon gyakoriak gyermekkorban, hiszen kevés az olyan gyermek, aki átmenetileg vagy krónikusan ne panaszkodna pl. hasi fájdalomra, hasmenésre, hányingerre, étvágytalanságra vagy székrekedésre. A helyes diagnózis felállítása és a megfelelő kezelés azért is fontos számukra, mert a krónikus betegségek és szövődményeik hatással vannak a felnőttkorra és gyakori a más szervrendszert érintő kórképek társulása is. Ennek a kihívásnak megfelelően az utóbbi évtizedekben a gyermekgastroenterológia hatalmas fejlődésen ment keresztül.

A coeliakia (CD) vagy glutenszenzitív enteropathia genetikailag fogékony egyéneknél a kalászos gabonafélék gluten frakciója által indukált autoimmun enteropathia. Változatos intesztinális és extraintesztinális tünetek jellemzik, de van úgy, hogy tünetmentes formában perzisztál. Európában a lakosság legalább 1%-a érintett. A szűrővizsgálatok tanúsága szerint azonban az esetek 85-90%-át nem diagnosztizálják (1). A betegség az egész élet folyamán tart, a betegségi tünetek gyermekkorban és felnőttkorban egyaránt megjelenhetnek.

A CD prevalenciája és a betegség megjelenésének időpontja drámaian megváltozott az elmúlt 30-40 évben (2). Korábban az újonnan diagnosztizált betegek többsége 2 évesnél fiatalabb volt és csupán a CD-re jellemző klinikai tünetek fennállása esetén keresték a betegséget. A klinikailag megtalált esetek azonban a „coeliakiás jéghegy” csúcsát reprezentálják, a klinikailag csendes, vagy látens formák gyakorisága 3-20-szor nagyobb ennél. Ez azt jelenti, hogy a CD betegek többsége klinikailag nem ismerhető fel.

A diagnózis a vékonybélben kialakult boholyatrophia és a CD-re jellegzetes autoantitestek kimutatásán alapul. A diagnosztikus vékonybél biopszia invazív vizsgálat, ezért a betegségre jellemző tüneteket mutató betegek, a rizikó csoportok és a populáció szűrésének szempontjából egyaránt nagy jelentőséggel bírnak a vérből, non-invazívan kimutatható coeliakia specifikus antitestek. A tünetszegény betegek felismeréséhez azonban az antitest kimutatások széleskörű alkalmazása szükséges (3,1). A konvencionális endomysium antitest (EMA) kimutatás igen specifikus, jóllehet a vizsgálat gyakorlott értékelőt és nem mindenhol hozzáférhető immunfluoreszcens felszerelést kíván (4). A transzglutamináz antitest (TGA) vizsgálatok egy homológ antitestet mutatnak ki, de a kereskedelmi módszereknek nem mindig

megfelelő a specificitása és a prediktív értéke. Emellett a szöveti transzglutamináz (TG2) alapú, laboratóriumi antitest kimutatás, drága, centralizált és speciális laboratóriumi háttérrel igényel és az eredmények nem állnak azonnal az orvos rendelkezésére. A klinikai diagnosztikában azonban, különösen a súlyos állapotú betegeknél gyors döntésekre van szükség, ezért joggal merül fel az igény egy friss vérmintából végezhető, helyszíni vizsgálatra alkalmas gyorseszteszt használatára.

A genetikai vizsgálatok azt igazolták, hogy a CD-re jellemző és egyben obligát feltétel a HLA-DQ2 vagy DQ8 hordozás. A gliadin peptideket a HLA-DQ2 vagy DQ8 molekulákkal rendelkező antigén prezentáló sejtek mutatják be a T-lymphocytáknak, ez indítja el a szöveti károsodást eredményező kóros immunreakciókat. A HLA-DQ2 és DQ8 allélek hordozása egyéb betegségekre, patológias állapotokra is hajlamosít. Ezek közé sorolhatók a különféle autoimmun betegségek, valamint pl. a hepatitis B vakcinációra adott elégtelen immunválasz is. Nem eldöntött kérdés, hogy a HLA-DQ2 hordozás önmagában elegendő-e a hepatitis B non-responder állapot kialakulásához és hogy a környezeti tényezők, így coeliakiás betegekben a glutenbevitel ezt milyen mértékben befolyásolják.

A CD multifaktoriális betegség és a kóros tüneteket a kalászos gabonafélékben lévő gluten provokálja. Kifejlődéséhez egyéb környezeti tényezők is hozzájárulhatnak, így genetikailag fogékony gyermekeknél a gluten bevezetésének ideje (5,6). Az infekciós immunológia terén szerzett új ismeretek, az adaptív és a természetes immunitás tanulmányozása vetette fel a bél lumenében lévő mikrobiális antigének és a CD kialakulása közötti lehetséges kapcsolatot. Az elképzelést támogatja, hogy a gyermekek nagymértékben fogékonyak a gasztrointesztinális infekciók iránt és bizonyos években a CD szezonálisitását figyelték meg (7). Immunszupprimált betegekben a CMV fertőzés súlyos gasztrointesztinális tüneteket okoz. Felvetődik a kérdés, hogy kisdedkorban, amikor az immunrendszer még éretlen, a CMV fertőzés vajon összefüggésbe hozható-e a súlyos malabszorpciós formában jelentkező CD-vel?

A CD-ről szerzett új ismeretek tehát újabb kérdéseket vetnek fel. Munkám célja az volt, hogy a betegségre specifikus transzglutamináz autoantitest gyors kimutatásával minél hamarabb megtaláljuk a sokszor más diagnózissal kezelt CD betegeket. Tanulmányoztam a hepatitis B immunizációra adott humorális immunválaszt coeliakiás betegekben, továbbá a szerokonverziót befolyásoló tényezőket az immunizált betegekben. Másrészt a coeliakia specifikus antitestek kimutatása mellett kutattam, hogy az egyéb szerológiai vizsgálatok milyen mértékben járulhatnak hozzá a CD betegek felismeréséhez, a klinikai és kezeltségi állapotuk megítéléséhez.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Jelen munka egyik célja volt értékelni az endogén, friss transzglutamináz antigén felhasználásával működő, IgA típusú TG2 elleni antitestek helyszíni kimutatásával gyűjtött eredményeinket és ezt összevetni a konvencionális szerológiai tesztekkel (EMA, TGA kimutatás). Céлом volt annak a vizsgálata is, hogy a fenti, helyszíni gyorstesztel megszerzett azonnali eredmény milyen előnyt jelent a beteg és a vizsgáló számára.
2. Jelen munka másik célja volt felmérni CD betegek között a hepatitis B immunizációt követő szerokonverziót és megvizsgálni, hogy milyen összefüggés van az anti-HBs ellenanyag koncentráció és a glutenmentes diéta között. Tanulmányozni kívántam a hepatitis B immunizációban részesült CD betegekben a haptoglobin polimorfizmusát.
3. Ezen túl céлом volt megvizsgálni a periférás vérben a lymphocyta sejtfelszíni markerek és a non-organ specifikus autoantitestek gyakoriságát CD-ben és összefüggést keresni az autoantitest pozitivitás és a glutenmentes diéta között.
4. Célul tűztem ki, továbbá annak vizsgálatát, hogy a CD provokálásában specifikus infektív ágensként szerepelhet-e CMV fertőzés, észlelhető-e az átlagosnál gyakrabban friss szerokonverzió a tünetek megjelenése előtt.
5. Végül vizsgálni kívántam egyes mikrobiális sejtfal elleni antitestek (anti-glycan ellenanyagok) prevalenciáját és esetleges diagnosztikus értéküket kezeletlen és kezelt coeliakiás betegekben.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Coeliakia

A coeliakia (CD) genetikailag fogékony egyéneknél a kalászos gabonafélék gluten fehérjéi által indukált autoimmun betegség és kialakulását a T-sejtek gluten iránti szelektív intoleranciája okozza. Az adaptív és a természetes (innate) immunrendszer kóros immunológiai történései a vékonybél jellegzetes károsodásához vezetnek, amit boholyatrophia, crypta hyperplasia és az epithelium, ill. a lamina propria lymphocytás infiltrációja jellemez. A CD multifaktoriális betegség, kialakulásában környezeti és genetikai faktorok egyaránt szerepet játszanak. Európában a népesség megközelítőleg 1%-a érintett, a valódi gyakoriság azonban a felismert eseteknél lényegesen nagyobb. A magyarországi prevalencia gyermekeknél 1-1,3% (8).

A betegséget már az ókorban is ismerték, de csak az utóbbi 50 évben vált az egyik legintenzívebben kutatott kórképpé. Első leírását a kappadókiai Aretaeusnak tulajdonítják a II. századból (9). Az elnevezés is tőle származik a görög eredetű „koilia” szóból, ami hasat jelent. Történelmi mérföldkövet jelentett a betegség megismerésében többek között Gee, Dicke és Dieterich egy-egy jelentős felfedezése. Samuel Gee foglalta össze 1988-ban a betegség klinikumát, Willem Dicke azonosította trigger faktorként 1950-ben a glutent (10) (11) és Walburga Dieterich mutatta ki az endomysium antitest autoantigénjét, a szöveti transzglutaminázt 1997-ben (12).

2.1.1 Epidemiológia

Egy 1950-ből származó jelentés szerint Angliában és Walesben 1:8000, Skóciában 1:4000 volt a CD kumulatív incidenciája (13). Ezek a vizsgálatok a betegségre jellemző klinikai tüneteken alapuló azonosítást alkalmazták, amit később felváltottak a megbízható, specifikusabb szerológiai tesztekkel végzett szűrővizsgálatok. Ennek köszönhetően a hetvenes évek alatt Írországon, Skóciában és Svájcban az incidencia már 1:450-500 között alakult (14, 15,16). A növekvő incidencia hatást gyakorolt az étkezési szokásokra és a gluten tartalmú ételeket későbbi életkorban vezették be a csecsemőtáplálásba. Ezzel magyarázták a CD gyakoriságának csökkenését (17), ami azért megtévesztő, mert a CD típusos, manifeszt formájának a csökkenését kiegyenlíti az idősebb gyermekekben és a felnőttekben felismert

csendes és látens betegség (18). A legnagyobb epidemiológiai vizsgálatot Olaszországban végezték több mint, 17 000 iskoláskorú gyermekek bevonásával. A prevalencia 1:184, az ismert és a korábban nem diagnosztizált esetek aránya 1:7 volt (19). Véralók között Svédországban 1:256 gyakoriságot észleltek (20) és hasonló adatot közöltek Amerikából is (21,22). Észak-Írországban 1:152 arányú prevalenciáról számoltak be (23). Mai ismereteink szerint a lakosság 1%-a érintett Európában (24,25). A betegség prevalenciájának emelkedése azonban napjainkban is számottevő. Mäki M. és mtsai finnországi vizsgálatuk alapján mutattak rá a gyakoriság 20 év alatti megduplázódására (26). A CD földrajzi területenként eltérő prevalenciáját az 1. táblázat mutatja.

Referencia	Ország	Populáció	n	Teszt	Prevalencia
Grodzinsky, E. (20)	Svédország	véralók	1866	AGA	1:256
Johnston, S.D. (23)	É-Írország	feleltek	1823	EMA,AGA	1:152
Catassi, C. (19)	Olaszország	gyermekek (6-15 év)	17201	AGA	1:184
Kolho, K.L. (27)	Finnország	feleltek	1070	EMA	1:130
Maki, M. (25)	Finnország	gyermek (7-16)	3654	EMA,TGA	1:99
Csizmadia, C.G. (28)	Hollandia	gyermekek	6127	EMA	1:198
West, J. (29)	Anglia	feleltek	7550	EMA	1:83
Tatar, G. (30)	Törökország	véralók	2000	TGA	1:77
Korponay-Szabó, I. (8)	Magyarország	gyermekek (3-6 év)	427	EMA	1:85
Korponay-Szabó, I. (31)	Magyarország	gyermekek (6 év)	2690	EMA,TGA	1:73
Gomez, J.C. (32)	Argentina	feleltek	2000	AGA,EMA	1:167
Hovell, C.J. (33)	Ausztrália	feleltek	3011	EMA	1:251
Shamir, R. (34)	Izrael	feleltek	1571	AGA,EMA,TGA	1:157
Pratesi, R. (35)	Brazília	felel, gyermek	4405	EMA	1:275
Fasano, A. (22)	USA	feleltek	4126	AGA,EMA,TGA	1:133

1. táblázat: A coeliakia földrajzi területenként eltérő prevalenciája.

2.1.2 Pathogenesis

2.1.2.1 Genetikai faktorok

A genetikai faktorok szerepét egyértelművé teszi számunkra, hogy a CD az első fokú rokonokban 20-30-szor gyakoribb, mint az átlag populációban és monozygota ikrekben a konkordancia több mint, 75% (36). Voltaképpen minden CD beteg hordozza a HLA-DQ2 (DQA1*05, DQB1*02) vagy DQ8 (DQA1*03, DQB1*0302) heterodimereket kódoló HLA-DQ allélokat (37) és ez jelenleg már a diagnosztikában is felhasználható, ha a kezdeti szövettani illetve szerológiai lelet hiányzik, vagy nem egyértelmű. A HLA-DQ2 heterodimerek a CD betegek legalább 90-95%-ában vannak jelen, míg a maradék 5-10% a HLA-DQ8 molekulákat kódoló allélokat hordozza (38). Ezek az allélok ugyan gyenge affinitást mutatnak a natív gliadin peptidekhez, a TG2 által deamidált negatív töltésű gliadin peptidek azonban jól illeszkednek a DQ2 és DQ8 antigénkötő mélyedésébe és így ismerik fel őket a vékonybél T-lymphocytái, amelyek központi szerepet játszanak a betegség pathogenezisében (39). HLA-DQ2 homozygotáknak (a populáció 2%-a, ami a CD betegek 25%-át jelenti) nagyobb esélye van a CD kialakulására és nagyobb mennyiségű glutenbevitel növeli a betegség incidenciáját. A HLA gének hordozása azonban önmagában nem elegendő az öröklődéshez és a CD kialakulásához egyéb gének és locusok jelenléte is szükséges (40,41). Ezek közül az utóbbi években legalább 6 új locust azonosítottak, de ezek egyenként csak csekély rizikónövekedést okoznak (42). Az azonosított génszakaszok egy része más gyulladásos betegségekkel, pl. Crohn-betegséggel, colitis ulcerosával, rheumatoid arthritissel (43) is kapcsolatot mutat, vagy a gyulladásos reakcióban szerepet játszó markereket (ICOS) vagy interleukineket (IL2, IL21) kódol. Valószínűleg ezek a genetikai adottságok a gyulladásos reakció általános fokozódásához vezethetnek, és nem primer coeliakia gének.

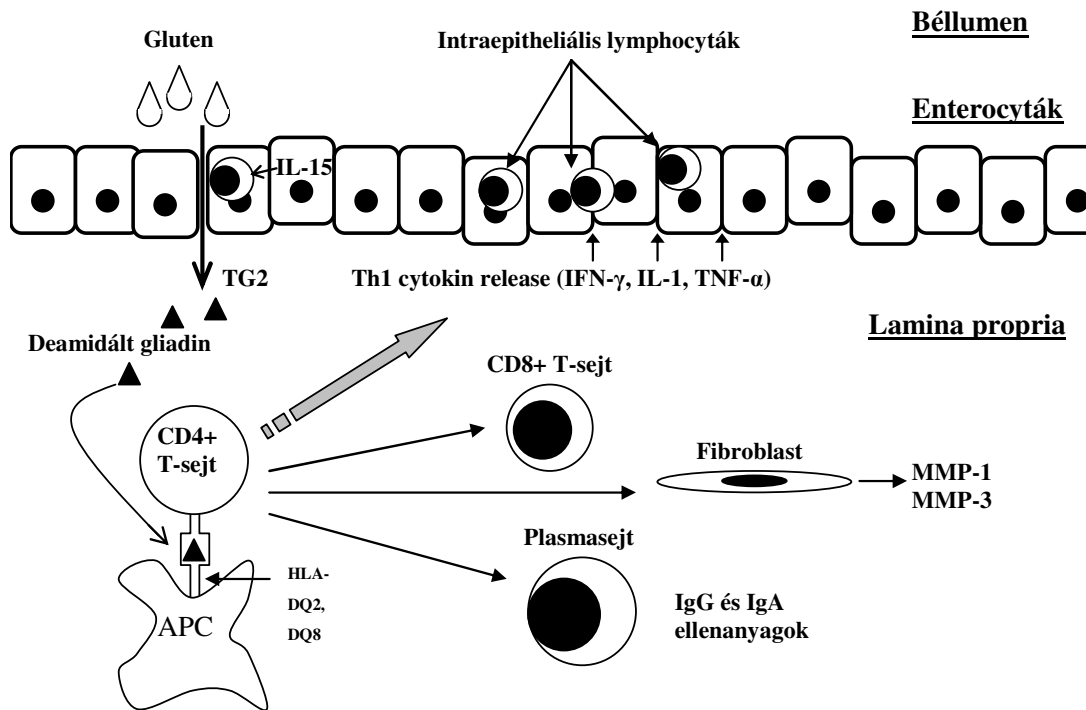
2.1.2.2 A gluten jelentősége

A genetikai faktorok mellett a gluten, az endogén 2-es típusú szöveti transzglutamináz (TG2) és gluten-specifikus T-sejtek kölcsönhatása vezet az enteropathia kialakulásához. A gliadint és glutenint tartalmazó gluten molekulák szokatlanul gazdagok glutaminban (35%) és prolinban (15%) (44). A gluten számos immunogén peptidet tartalmaz. Ilyen fehérjéket azonosítottak az α - és γ -gliadinokban, valamint a kis és nagy molekulású glutaminekben. A búza glutenjéhez hasonló peptidek vannak az árpában (hordein), a rozsban (secalin) és kisebb

menyiségben a zabban (avenin) is, amelyek képesek a gluten-reaktív T-sejtek stimulálására. A rizsben, a kukoricában, a cirokban vagy a kölesben megtalálható analóg proteinek azonban nem aktiválják a CD-t (45). A prolinban gazdag gluten molekulák részben ellenállnak a proteolyticus enzim degradációnak a gastrointestinalis traktusban, ami számos emészthetetlen, több mint, 50 aminosavat tartalmazó immunotoxicus gluten fragmentumot eredményez (46). A T-sejt aktivációhoz minimum 9, de optimálisan 10-15 reziduális aminosav szükséges. A bél lumenben lévő fehérjék az epitheliális barrieren keresztül a lamina propriába kerülnek, ahol ideális szubsztrátként szolgálnak a TG2 számára. A TG2 alpműködése a glutamin és lizin oldalláncok transzamidálása révén fehérjék közötti keresztkötések képzése. Bizonyos körülmények között az enzim deamidálásra is képes, ekkor glutaminból negatív töltésű glutaminsav keletkezik (47). Azonos peptid szekvenciák, mint a QXP és QXXF kedveznek a szelektív deamidálásnak. Ezek a deamidált gluten peptidok a natív peptidoknál sokkal erősebben kötődnek az antigén prezentáló sejt (APC) HLA-DQ heterodimérjeihez, ami erőteljes T-sejt aktivációt eredményez a lamina propriában. (48).

2.1.2.3 A szöveti transzglutamináz

A transzglutaminázok az extra- és intracelluláris térben egyaránt megtalálhatók és a fehérjék kalciumfüggő poszt-transzlációs módosításait katalizálják. Minden élő szervezetben megtalálhatók, ami megmagyarázza multifunkciós sajátosságait. A TG2 a fehérjék keresztkötésén túl aminok beépülését is katalizálja, képes deamidálni, valamint izopeptidáz, kináz és GTP-áz aktivitással is rendelkezik (47). 687 aminosavból áll, 4 doménje van (N-terminális, core, barrel1, barrel2). A TG2 mellett további nyolc rokon szerkezetű transzglutamináz fehérje ismert, ezek egy részének pontos funkciója és lokalizációja ma még nem teljesen tisztázott. Dermatitis herpetiformisban (DH) a domináns autoantigén az epidermális transzglutamináz (TG3), és a hozzá kötődött és a bőrben lerakódott IgA autoantitestek felelősek a bőrtünetek kialakulásáért (49). A többi transzglutamináz is szerepet játszhat a CD speciális szervi manifesztációiban pl. az ideg-, illetve a csontrendszerben. A TG6 az agyi folyamatok szempontjából lehet jelentős.



1. ábra: A coeliakia patomechanizmusa. A gluten peptidek az epitheliális barrieren átjutva a lamina propriába kerülnek. A szöveti tarnszglutamináz (TG2) által deamidált gliadin peptidek a HLA-DQ2 vagy DQ8 heterodimereket prezentáló sejtekhez (APC) kapcsolódva a CD4⁺ T-sejteket ismerik fel. Az aktivált CD4⁺ T-sejtek által kibocsátott cytokinek vezetnek az epithel károsodásához. Az aktivált fibroblastok és makrofágok a mátrix-metalloproteinázok (MMP-1, MMP-3) segítségével az extracelluláris mátrix (ECM) degradációját idézik elő. Emellett bizonyos gluten peptidek (p31-p43) fokozzák az aktivált dendritikus sejtek IL-15 szekrécióját, ami az intraepitheliális lymphocyták aktivációjához vezet (NKG2D receptorokat expresszálnak). Ezek a sejtek cytotoxikus lymphocytává alakulnak át és az enterocyták további károsodását okozzák (az NKG2D ligandja az enterocyták felszínén lévő MIC-A). A plasmasejtek termelik a coeliakia specifikus ellenanyagokat.

A CD specifikus autoantitestek célpontja a TG2, ami összefüggésben lehet azzal, hogy a immunreakciót megindító deamidált gluten peptidek részben a TG2 működése révén keletkeznek. A deamidáció negatív töltést kölcsönöz a molekulának, ami elősegíti a HLA-DQ2 és DQ8 molekulákhoz való kötődést a fehérjekötő „zsebekbe” történő illeszkedéssel (50). A pH csökkenésével (pH 6,0 - pH 7,3) drámaian emelkedik a deamidált peptidek aránya, ami azt eredményezi, hogy a deamidáció a bél enyhén acidotikus kompartmentjeiben a leghatékonyabb (51). Egyes deamidált gliadin peptidek a TG2 felszíni epitópjaihoz hasonló háromdimenziós epitópot alkothatnak (22,52). Ez a homológia szerepet játszhat a TG2 elleni autoimmun reakció beindításában, azonban a klasszikus haptén-carrier mechanizmus szerepe is valószínű (53). A szekvencia specifikus TG2 részt vesz az intestinális T-sejtek által

felismert epitópok szelekciójában is. A TG2 és a gluten molekulákból álló komplexek a gluten-reaktív helper T-sejtek segítségével közreműködnek a TG2 specifikus B-sejtek immunglobulin termelésében, ami TG2 ellenes IgA és IgG típusú autoantitestek képződéséhez vezet (1. ábra). A gliadin analóg anyagokkal végzett újabb kísérletek azt mutatják, hogy ezek képesek a TG2 aktív formáját tartósan nyitva tartani (54). Ez felveti annak lehetőségét, hogy a TG2 szerkezetében a gluten hatására bekövetkező szokatlan változások is közrejátszhatnak a CD-re jellemző kóros immunológiai történések eredetében.

A TG2-specifikus autoantitesteknek (TGA) a CD patomechanizmusában betöltött szerepe még tisztázatlan, de valószínűleg nincs jelentős gátló hatásuk a TG2 *in vivo* enzimaktivitására (55). Sőt, egyes szubsztrátok esetében az enzimhez kötött antitestek fokozni képesek a TG2 kereszt kötő működését (56). Az extracelluláris fibrinogénhez kötött TGA lerakódása a szövetekben azonban korai tünete lehet a CD-nek akkor, amikor a keringésben még nem mutathatók ki az autoantitestek vagy a bélben nincs boholy atrophia (57). Sejtes modellekben végzett kísérleti mérésekkel igazolták, hogy ezek az antitestek többféle biológiai hatással rendelkeznek, pl. gátolják a bélhámsejtek differenciálódását és fokozzák azok proliferációját (58,59).

2.1.2.4 Gluten-specifikus T-sejtek

A DQ2 vagy DQ8 molekulák által prezentált gluten peptideket a CD4⁺ T-lymphocyták ismerik fel. Az aktivált CD4⁺ T-sejtek Th1 és Th2 cytokineket termelnek. A szöveti destrukcióért a Th1 (IFN- γ , IL-1, TNF- α) cytokinek a felelősek, amelyek a bél fibroblastjaival mátrix-metalloproteinázokat (MMP-1, MMP-3) és egyéb mediátorokat termelnek (1. ábra). Az aktivált fibroblastok és makrofágok az MMP-k segítségével az extracelluláris matrix (ECM) degradációját idézik elő, amely fontos szerepet játszik a CD mucosális transformációjában és ennek következtében a boholyatrophia és crypta hyperplasia kialakulásában (60). A Th1 sejtes infiltrációt elősegítő IFN- γ termelést az IL-21 szabályozza, és ennek a túltermelődését mutatták ki a coeliakiás mucosában (61).

Az aktivált gliadin-specifikus T-sejtek helper működésének eredményeként CD specifikus autoantitestek termelődnek a TG2 ellen (TGA). A TGA a típusos szerológiai markere az aktív betegségnek és a glutenmentes diéta alatt eltűnik a perifériás vérből.

2.1.2.5 Innate immunválasz

A CD-hez vezető korai pathológiás történések magukba foglalják az innate immunrendszer aktivációját is (62). Az intestinális epithelium a fő szabályozója a makromolekulák korlátlan átjutásának az intakt intercelluláris kapcsolatuk révén. Az intestinális morfológia gyors megváltozásában állatkísérletes tapasztalatok alapján szerepet játszhat a fokozott bélpermeabilitás, amit a különböző gliadin derivátumoknak a tight junction-ra gyakorolt hatásával magyaráznak (63). A zonulin dependens folyamat a protein kináz C (PKC) mediált aktin polimerizációjával és ennek következtében az intracelluláris cytoskeleton átrendeződésével vezet a tight junction megnyílásához és az intestinális permeabilitás rapid megnövekedéséhez. Drago és mtsai human coeliakiás mucosán fokozott zonulin felszabadulást és a szignal transzdukció aktiválódását tapasztalták (64). Legújabb bizonyítékok alapján a szolubilis zonulin felszabadulása a gliadin által stimulált submucosális makrofágok aktiválódásának a következménye (65).

Bizonyos gluten peptidek (p31-p43) az innate immunrendszer mikrobiális mintázatfelismerő receptorain, a Toll-like receptorokon (TLR) keresztül is felismerődnek. Ez a CD4⁺ T-sejtek aktivációjához vezet a proinflammatorikus és kemotaktikus cytokinek felszabadulása útján (66). A CD-ben megfigyelhető TLR2 és TLR4 expresszió fokozódás Th1 immunválaszt indukál, mely megelőzheti a deamidált gluten peptidek és a HLA-DQ2 és DQ8 molekulák kapcsolódásával aktivált adaptív CD4⁺ T-sejt választ (67).

A betegség fontos diagnosztikai jellemzője az intraepitheliális lymphocyták (IEL) számának megszorodása és aktivációja. Az intraepitheliális CD8⁺ T-lymphocyták NK sejt receptorokat (NKG2D) expresszálnak a felszínükön. Az NKG2D ligandja az enterocyták felszínén lévő MICA, amit a stressz, pl. a fertőzések és az IL-15 indukál (68). Az intraepitheliális T-lymphocyták elpusztítják a MICA molekulát expresszáló enterocytákat direkt killing mechanizmussal, vagy a TCR aktivációs küszöb csökkentésével. Ebben a folyamatban az IL-15 központi szerepet játszik (62). Az IL-15 fokozza az epitheliális sejt felszíni ligandoknak (pl. MICA) a megjelenését az intestinális epitheliális sejteken, ami a cytotoxicus, TCR független NK-szerű sejtek célpontja. Az IL-15 termelődés szabályozásában szerepe lehet a HLA-DQ molekulákhoz nem kötődő gluten peptideknek (p31-p43) is (69).

2.1.3 Klinikai tünetek

2.1.3.1 Klasszikus CD

A vékonybél krónikus, malabszorpcióhoz vezető betegségét eredetileg az angol Samuel Gee írta le 1888-ban. Az akkor jellemzett 1-5 éves gyermekek fő tünete a hasmenés és a kahexia volt, a klinikai megjelenési formák gyakorisága azonban megváltozott az elmúlt 20-40 év során. A leggyakoribb tünetként számon tartott hasmenés prevalenciája Lo és mtsainak 227 betegről szóló megfigyelése alapján 73%-ról 43%-ra csökkent, ami valószínűleg a szerológiai módszerek széleskörű elterjedésével van kapcsolatban (70). A klasszikus malabszorpcióval járó esetek száma csökkent, ugyanakkor gyakoribbá váltak az oligoszimptomás formák (izolált alacsonyynövés, izolált anaemia) és az extraintestinális megjelenések.

A CD típusos klinikai manifesztációja a krónikus hasmenés, a haspuffadás, a súlycsökkenés, az anorexia, a hányás, a hasi fájdalom és az irritabilitás. Ezek a tünetek legtöbbször a gluten bevezetését követően néhány héttel vagy hónappal jelentkeznek, általában még kétéves kor előtt (71). A gyakori vizes hasmenéssel, jelentős hasi distensióval, dehidrációs shockkal jellemzett coeliakiás krízis jelentkezésével napjainkban már alig lehet számolni, de a 20. század elején még gyakori volt. Az obstipatio, a rectum prolapsus és a szájnyálkahártya ulceratio az egyéb gasztrointesztinális tünetekhez sorolhatók.

Felnőttekben leggyakoribb prezentációs tünetnek számít a fáradékonyság, az anaemia, a hasi fájdalom és a székletürítés ritmusának a megváltozása. A CD a kalcium és a D-vitamin anyagcsere megváltozását eredményezheti, ezért az osteopenia és az osteoporosis okozta csonttörés jól ismert tünete a felnőttkori betegségnek (72,73). Késői menarche, amenorrhoea, csökkent fertilitás és a visszatérő spontán abortus is gyakoribb CD-ben (74).

Izolált transzamináz-szint emelkedés háttérében Volta és mtsai szerint 9%-ban CD áll (75) és a glutenmentes diéta hatására a CD betegekben a kóros enzimszintek és a máj nem-specifikus hisztológiai elváltozásai normalizálódnak (76).

Változatos neurológiai tüneteket is leírtak a CD kapcsán, így összefüggésbe hozták többek között epilepsiával, ataxiával, neuro- és myelopathiával. A tünetek kiváltásában a genetikailag meghatározott egyéneknél a gluten toxicitás és az autoimmun mechanizmusok állnak. A leggyakoribb neurológiai tünet az ataxia, amit a cerebellum perivasculáris lymphocytás infiltrációja, a gerincvelő és a perifériás idegek károsodása okoz (77). A patológiás elváltozások predilekciós helye a cerebellum, ahol a Purkinje sejtek elpusztulását a cerebellum atrophiaja és gliosisa követi.

A dermatitis herpetiformis (DH) olyan krónikus, viszkető, vesiculosus bőrbetegség, amely genetikai predispozíció esetén glutenintolerancia következtében jön létre általában a 20-40. életév között. A betegek közel 100%-ában kimutathatók a glutenszenzitív enteropathia hisztológiai tünetei (78), habár nincs szoros összefüggés a bőrtünetek súlyossága és a vékonybél nyálkahártya károsodás mértéke között. A DH az intestinális glutenszenzitivitás következménye, de nem tekinthető a glutenre adott direkt dermális válasznak (79). Hisztológiai vizsgálattal a dermális papillák csúcsán IgA csapadék mutatható ki, a lerakódott IgA TG3 specifikus és keresztreakál a vékonybélben található TG2-vel. Fentiek miatt a DH a CD bőrtünetekkel járó formájának és nem egy társuló betegségnek számít.

2.1.3.2 CD alcsoportok

Az autoimmun betegségben szenvedők és az első fokú rokonok vizsgálata, valamint a populációszűrések világítottak rá a CD tünetmentes, de kimutatható vékonybél károsodással rendelkező csendes (silent) formájára. Gyermekkorban a CD betegek majdnem 25%-a diagnosztizálható célzott szűréssel, amikor a betegek klinikailag még tünetmentesek (1). A betegség felkutatása ilyenkor szerológiai tesztekkel történik.

A silent CD-t meg kell különböztetni a betegség latens vagy potenciális formájától, amikor a vékonybél szerkezete gluten fogyasztás mellett nem mutat szövettani eltérést, később mégis boholyatrophia kialakulásával kell számolni. Ilyenkor is kimutatható azonban a CD-re jellemző megemelkedett intraepithelialis γ/δ T-lymphocytá szám.

2.1.3.3 Társuló betegségek

A CD autoimmun betegség, amely gyakran társul más autoimmun vagy szisztémás betegségekkel. Duggan a CD-t nagy imitátornak nevezte és 33 olyan kórképet sorolt fel, amely bizonyítottan társulhat a betegséggel (80). Néhány ezek közül, pl. az 1-es típusú diabetes mellitus, az autoimmun thyreoiditis és az autoimmun hepatitis összefüggést mutat a gluten bevitellel, míg a Down szindróma, a Turner szindróma és a szelektív IgA hiány nem (81).

Arató és mtsai magyarországi adatai szerint 1-es típusú diabetes mellitusban a subtotalis boholyatrophiaival járó CD előfordulása 8,3% (82). Egy észak-olaszországi vizsgálat CD-ben 27% gyakorisággal mutatott ki klinikai, szubklinikai vagy potenciális autoimmun betegséget (83). Leggyakoribb az 1-es típusú diabetes mellitus és a Hashimoto thyreoiditis volt, amit

gyakoriságban az alopecia, a juvenilis rheumatoid arthritis, a vitiligo és az autoimmun thrombocytopenia követett.

A CD-hez zsírmáj, primer biliaris cirrhosis, primer sclerotizáló cholangitis és autoimmun hepatitis is társulhat (76). A májkárosodás mértéke változó és a prognózis általában attól függ, hogy a májat érintő autoimmun folyamat milyen mértékben reagál a gluten megvonására.

Gyakoribb a CD előfordulása Down szindrómában is, egyes tanulmányok szerint az esetek 7-8%-ában mutatható ki csendes coeliakia (84,85). Ventura és mtsai CD betegekben az epilepsia és a cerebralis calcificatio kapcsolatát észlelték (86).

2.1.4 Diagnózis

2.1.4.1 Laboratóriumi vizsgálatok

Az általános laboratóriumi eltérések a felszívódás zavara miatt jönnek létre és nem specifikusak a betegségre. Vashiányos anaemia, alacsony szérum összfehérje, albumin, kalcium, koleszterin és prothrombin szint a CD gyanúját erősítik. A széklet zsírtartalom mérése nem specifikus vizsgálat és szerepe elhanyagolható a CD diagnózisában.

2.1.4.2 Képalkotó vizsgálatok

A radiológiai vizsgálatoknak limitált jelentősége van a diagnózis felállításában és elvégzésük csak differenciáldiagnosztikai probléma vagy szövődmények jelentkezése esetén javasolt. Nem-specifikus tünetként értékelhető a vékonybelek dilatációja és jelentősen fokozott folyadéktartalma, valamint az elvékonyodott nyálkahártyaredő (81,86).

2.1.4.3 Szerológiai vizsgálatok

CD gyanúja esetén elsőként a specifikus szerológiai tesztek kell alkalmazni (87). Az ellenanyag tesztek alkalmasak a tünetszegény betegek felismerésére, a betegség aktivitásának le mérésére és a diétás compliance ellenőrzésére is a kezelt betegekben.

2.1.4.3.1 Endomysium elleni antitest (EMA)

Az endomysium az izomrostokat körülvevő kötőszöveti struktúra és komplex fehérje, a majom és human kollagén matrixban található és főként reticuláris rostok alkotják. Az EMA legfőbb target antigénje a TG2, ezért az EMA vizsgálat TG2 specifikus antitesteket mutat ki a vérből immunfluoreszcens vizsgálattal a TG2-ben gazdag szövetekhez való kötődésük alapján (12). A teszt szenzitivitása 95-99%-os, specificitása 98-100% (88).

IgA és IgG típusú EMA létezik, az IgG EMA azonban csak a betegek egy részénél mutatható ki. Az IgA antitest vizsgálatok értékeléséhez ismerni kell a szérumban lévő IgA koncentrációt, mert szelektív IgA-hiányos CD (2-5%) esetén csak az IgG típusú EMA értékelhető (8,89).

A reticulín (ARA) és a jejunális (JEA) antitestek kimutatása reticulín rostokat tartalmazó szöveteken (vese, máj) történik és értékelésük ugyanaz, mint az EMA-é. Ezek az antitestek a reticulín rostok felszínén lévő TG2-vel ragálnak, azaz gyakorlatilag megegyeznek az EMA antitestekkel (90). A nyolcvanas évek közepén végzett vizsgálatok alapján az ARA szenzitivitása 97%, specificitása 98% volt (91).

2.1.4.3.2 Transzglutamináz autoantitest (TGA)

A TG2 eredetileg egy cytosol eredetű enzim, amely azonban az extracelluláris matrixba is kikerül. Az itt jelen lévő kalcium hatására aktiválódik, és kereszt kötést hoz létre különböző extracelluláris matrix proteinek között, mivel a donorproteinek glutaminjait az akceptorproteinek lizinjeivel kapcsolja össze. A gliadinok, amelyek aminosav összetételének legalább egyharmadát a glutamin teszi ki, az enzim kiváló szubsztrátjaként szolgálnak (91). A CD patomechanizmusában ismertetett T-helper válasz olyan B-sejtek éréséhez vezet, amelyek a gliadin, a TG2, illetve ezek komplexei ellen autoantitesteket termelnek.

Az IgA típusú TGA mérése savóból, vagy plazmából ELISA módszerrel történik tisztított tengeri malac, vagy human rekombináns transzglutamináz antigén felhasználásával. A teszt szenzitivitása 98-100%, specificitása 95-99% (12). Az IgG típusú teszt szelektív IgA hiányos CD betegek felkutatásában hasznos. A TGA kimutatása az ELISA eljárás révén kisebb laboratóriumokban is lehetséges. A TGA kimutatásán alapuló tesztek azonban nem érik el az EMA kimutatás közel 100%-os specificitását, annak ellenére, hogy az EMA reakció értékelésében a szubjektív elemek az eljárás használatát megnehezítik és emiatt csak a vizsgálatban jártas, nagy centrumokban megbízható.

2.1.4.3.3 TGA alapú gyorseszteszt

A gyorseszteszt az IgA típusú TGA-t teljes vérből mutatja ki a beteg friss vagy alvadésgátolt vérmintájában lévő vörösvértestekből hemolízissel felszabadult, saját transzglutamináz antigénhez történő kötődésük alapján (92). A laterális flow formátumú gyorseszteszt szenzitivitása 97%, specificitása 94-97% (93). A teszt újabban módosított változata jelzi, ha a vizsgált vérminta IgA hiányos.

A teszt előnye a gyors és egyszerű helyszíni kivitelezés, nem igényel tisztított, vagy rekombináns transzglutamináz antigént és alkalmas szűrővizsgálatok, valamint a glutenmentes diéta követésére egyaránt (94).

2.1.4.3.4 Gliadin antitest

A gliadin ellen képződő IgG és IgA típusú anti-gliadin antitestek kimutatását napjainkban a megfelelő specificitás hiánya miatt nem használjuk. Izolált pozitivitása emésztőszervi tünetek esetén sem jelent CD-t (95). A hagyományos gliadin antitest kimutatásnál specifikusabb a TG2 által deamidált gliadin peptidok ellen termelődött antitestek detektálása ELISA módszerrel (96). Ez a teszt gyakran akkor is pozitív, amikor a TGA a vérből nem, vagy bizonytalanul mutatható ki (97). Egyes deamidált gliadin peptidok a TG2 felszíni epitópjaihoz hasonló háromdimenziós epitópokat alkothatnak és valószínűleg TG2 specifikus antitesteket mérnek.

2.1.4.4 Szövettani vizsgálat

A CD diagnózisa a disztális duodenális vagy jejunális biopszia hisztológiai leletén alapul (98). Watson kapszulával, vagy endoszkóppal vett minta egyaránt alkalmas a feldolgozásra. A CD diagnosztizálásához 1970-ben felállított eredeti ESPGHAN (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) kritériumokat 1990-ben módosították. Eszerint a betegség kezdetén kimutatott CD-re jellemző szövettani eltérést és a glutenmentes diéta hatására észlelt egyértelmű klinikai választ kell figyelembe venni és nem szükséges újra dokumentálni a gluten terhelést követő szövettani relapsust. Felnőtt aszimptomás betegekben ajánlott egy későbbi biopszia elvégzése is glutenmentes diéta mellett a mucosa szöveti felépülésének demonstrálására. A vékonybél szöveti szerkezete CD-ben dinamikus változáson megy keresztül, amelynek kezdőpontja a normális mucosa és a végpontja a totalis boholiatrophia. Diagnosztikus kritériumként a módosított Marsh klasszifikációt használjuk. A diagnózist a Marsh III. fokozatú eltérések erősítik meg.

2.1.4.4.1 Diagnosztikus kritériumok

Emelkedett IEL

Az IEL szám emelkedése a legkorábbi és egyben a legérzékenyebb index a gluten mucosára gyakorolt patológiás hatásának le mérésére (99). Az ép vékonybél nyálkahártyára maximum

40 IEL/100 enterocytá arány a jellemző. Ennél nagyobb IEL érték a mucosában folyó kóros immunológiai folyamat indikátora és egyetlen tünete lehet a glutenszenzitivitásnak (100). Az IEL aktivált cytotoxicus T-sejtekből áll (101). Az IEL szám emelkedés latens CD esetén is kimutatható, amikor architekturális eltérések még nincsenek, viszont szaporodnak azok a megfigyelések, hogy a mucosában a TG2 elleni antitest reakció jelenléte ellenére az IEL nem magas (57). Az IEL emelkedés önmagában nem specifikus a CD-re, autoimmun enteropathia, giardiasis, egyéb infekció, trópusi sprue, ételallergia és intestinális lymphoma is okozhatja. Egyre nagyobb az igény a glutenszenzitivitás kimutatására olyan esetekben, amikor a klasszikus ellapult bolyhok még nem láthatók. Ilyenkor a megemelkedett IEL alkalmas a korai patológiás történés jellemzésére, de hangsúlyozni kell, hogy önmagában az emelkedett IEL alapján a diagnózist igazoltnak tekinteni nem lehet.

A lamina propria sejtes infiltrációja

CD-ben a lamina propria sejtes infiltrációja fokozott. A plasmasejtek vannak túlsúlyban, a T-sejtek emelkedése kisebb mértékű. Változó számban neutrophil és eosinophil granulocyták, mastocyták is megtalálhatók. A sejtes infiltráció analízise hasznos, de nem specifikus a diagnózis felállítására szempontjából.

Crypta hyperplasia

A bélkárosodás kezdeti fázisában elongált crypták találhatók normális villusokkal, majd a bolyhok teljesen ellapulnak, vagy teljesen hiányozhatnak is és a crypták hyperplasiássá válnak. Korábbi feltételezések szerint a folyamat háttérében a mesenchymális sejtek által termelt hepatocytá növekedési faktor és az intestinális γ/δ T-sejtek által termelt keratinocytá növekedési faktor áll (102,103). A totális boholyatrophia és crypta hyperplasia kialakulását az ECM degradációja okozza az MMP-k hatására (60). A crypta hyperplasia jelentős diagnosztikus adat, amely megkülönbözteti a CD-t más eredetű, hyporegeneratív boholyorvadással járó állapotoktól (pl. irradiáció), és fontos komponens a CD-re jellemző csökkent boholy/crypta arány kiszámításához.

Boholyatrophia

Az enyhe boholyatrophia kis- és közepes fokban megrövidült és legömbölyített villusokból áll. Kifejezett boholyatrophia esetén csak a villusok sáterszerű maradéka látható, míg a totális

boholyatrophia, vagy „flat” mucosa a bolyhok eltűnését és a nyálkahártya teljes ellapulását jelenti. A hisztológiai elemzés során a boholy/ crypta arány megadása kötelező.

2.1.4.4.2 Módosított Marsh kritériumok

A Marsh szerint osztályozott szövettani változások felismerése nagy fejlődést biztosított CD diagnosztizálásában.

Marsh 0: normális mucosa, az IEL kisebb, mint 40/100 enterocytá

Marsh I: infiltratív típus - normális boholyszerkezet, emelkedett IEL szám

Marsh II: hyperplasiás típus - normális boholyszerkezet, crypta hyperplasia, emelkedett IEL szám

Marsh III/a,b,c: destructiv típus - parciális, subtotális, totális boholyatrophia

Marsh IV: hypoplasticus típus - flat mucosa, normális IEL szám és normális crypta magasság

2.1.4.5 HLA-DQ tipizálás

HLA-DQ2 heterodimérek a CD betegek legalább 90-95%-ában jelen vannak, míg a maradék 5-10% a HLA-DQ8 molekulákat kódoló allélokat hordozza (38). Mivel az átlag populáció 30-40%-ában kimutathatók ezek az allélok, a DQ2 vagy DQ8 hordozás önmagában nem igazolja a CD fennállását. Kórjelző szövettani vizsgálati eredmény és a vérben vagy a szövetekben kimutatható TGA esetén nem szükséges HLA tipizálást végezni a definitív diagnózis felállításához. A HLA-DQ allélok jelenléte vagy hiánya fontos a betegség rizikójának felmérésére a családtagok között és ajánlott azokban az esetekben, amikor a diagnózis nem bizonyított és a beteg glutenmentes diétát folytat (104).

2.1.5 Kezelés

Jelenleg a diétás kezelés az egyetlen elfogadott mód a CD terápiájában, ami a gluten teljes megvonását jelenti az étrendből. A glutenmentes diétát a beteg egész életében folytatni kell. A búza, rozs és árpa, valamint származékaik a tiltott ételek közé tartoznak. A zab fogyasztása általában nem ajánlott, mert a kereskedelemben kapható formája szennyezett lehet gluten tartalmú magvakkal.

A diagnózis felállításakor észlelt hiányállapotok csak a kezelés első időszakában igényelnek szubsztitúciót, a mucosa komplett felépülését követően már nem. Szigorú glutenmentes diéta

mellett a klinikai válasz néhány héten belül bekövetkezik, a hisztológiai javulás hónapokat, akár éveket is igénybe vehet.

A glutenmentes étrend nehézségei sarkallják a kutatókat biztonságos alternatívák kidolgozására. Ezek közül a legígéretesebb a gluten enzimatisz degradációja. A prolyl oligopeptidáz képes erre, azonban a gyomorban uralkodó acidotikus pH mellett inaktív. Ennek lehetséges alternatívája az *Aspergillus niger*-ben lévő prolyl endoproteáz, amely a gyomorban lévő pH érték mellett is működőképes (105). A legújabb eredmények szerint a kóros immunválasz megakadályozása a HLA-DQ2 molekulákhoz nagy affinitással kötődő blokkoló peptidekkel is lehetséges (106).

2.1.6 Szövődmények

2.1.6.1 Refrakter sprue

A felnőttkori betegek 7-30%-a nem reagál a glutenmentes diétára. A non-responder állapot lehet primer, amikor a frissen felismert CD nem reagál a megkezdett diétára, vagy szekunder, amikor a jól reagáló betegnél változatlan diétás fegyelem ellenére relapsus lép fel. Klinikailag refrakter betegséget leggyakrabban diétahiba tart fenn, vagy a perzisztáló tünet más társuló betegség következménye, ételintolerancia, pancreas elégtelenség. Az ulceratív jejunitis és az ún. enteropathia asszociált T-cell lymphoma (EATCL) diétára refrakter súlyos boholyatropiát tartanak fenn a vékonybélben és ez valójában már nem maga a CD, hanem annak szövődménye. Ilyenkor általában kóros, a gluten dependenciájukat már elvesztett lymphocita klónok jelenléte mutatható ki. O' Mahony és mtsai szerint refrakternek látszó CD esetén először a CD valódiságáról kell meggyőződni, ezt követően ki kell zárni a lymphomát, majd egyéb betegséget kell keresni (107). A kezelésben az elemi diéta mellett a steroidoknak, a cyclosporinnak és az azathioprinnak van szerepe. Súlyos klinikai állapot esetén a fenti kezelés mellett teljes parenterális táplálásra is szükség lehet.

A refrakter sprue prognózisa rossz, ezért az egyéb kezelési lehetőségek, mint az infliximab és az IL-15 blokkolása, intenzív kutatások tárgyát képezik napjainkban (24).

2.1.6.2 Enteropathia asszociált T-cell lymphoma (EATCL)

Az ulceratív jejunitis és az EATCL ugyanazon betegség különböző manifesztációja. A tünetek általában a jejunumot érintik, de az ileumban és extraintesztinálisan is manifesztálódhat. Legfontosabb tünetek a hasmenés, a fogyás, a láz és a malabszorpció. A prognózis rossz, a betegek csak 20%-a él tovább 30 hónapnál (108).

2.1.6.3 Rosszindulatú daganatok

A CD-ben a rosszindulatú daganatok előfordulása kétszerese az átlagnépességének. A lymphoma után (szájüreg, garat, nyelőcső, illetve vékonybél-lokalizációban) az adenocarcinoma a második leggyakoribb rosszindulatú daganat. Nem egyértelmű a glutenmentes diéta és daganatok jelentkezése közötti összefüggés. A legújabb adatok szerint a non-Hodgkin lymphoma rizikója állandó a glutenmentes diéta ellenére (109). Egyes szerzők az emlő carcinoma csökkent rizikóját közölték coeliakiás betegekben (110).

2.1.6.4 Hyposplenia

A CD haematológiai szövödményei között jelentős szerepe van a hypospleniának. Gyakorisága az irodalomban eltérő. Corazza és mtsai a vizsgált betegek 32,8%-ában mutatta ki és a prevalenciát legjobban a gluten expositio tartama befolyásolta (111). A hypospleniás CD betegek a memória B-sejtek károsodott működése miatt fogékonyak a tokos baktériumok - különös tekintettel az invazív *S. pneumoniae*-ra - által okozott fertőzésekre. A lép hypofunkciója kifejezettebb, ha a CD más autoimmun betegséggel, refrakter állapottal, ulcerativ jejunitissal és EATCL-val jár (112).

2.2 Hepatitis B fertőzés

A krónikus hepatitis B vírus (HBV) fertőzés globális egészségügyi probléma, amely több mint, 350 millió embert érint a földünkön. A fertőzés akut és krónikus betegséget okozhat, amely a cirrhosist és a hepatocellularis carcinomát is magában foglalja (113). Évente megközelítőleg egy millió ember hal meg akut vagy krónikus HBV infekció következtében, ami az egyik legfontosabb fertőző betegséggé nyilvánítja. A HBV fertőzés és a vírusátvitel hatékony kontrollját a vakcináció jelenti (114). Az aktív immunizálás gondolata Csapó (1963) nevéhez fűződik és a modern immunizálás első lépéseit is ennek az elképzelésnek köszönhetjük. Az első generációs inaktív, plazma derivált vakcinát 1982-ben vezették be, míg a második generációs rekombináns DNS vakcina általános használatra 1986-tól érhető el. A WHO 1991-ben tett javaslatot a föld lakosságának átfogó immunizálására (115). Magyarország a krónikus HBsAg hordozás tekintetében az alacsony prevalenciájú (0,5-1,0%) területekhez tartozik, a serdülők védőoltása 1999-től kötelező.

A HBV protektív immunitást indukáló antigénje a HBsAg. Az ellene irányuló immunválasz T-sejt dependens és a védettséget a specifikus neutralizáló anti-HBs antitest jelenléte

biztosítja. Számos tanulmány igazolta a rekombináns DNS vakcina nagyfokú hatékonyságát, immunogenitását és biztonságát (114,116,117). Szabályosan végzett vakcináció után a protektív szintet $\geq 10\text{IU/l}$ anti-HBs ellenanyag koncentráció jelenti (118-120). Az egészséges, immunkompetens immunizáltak 4-10%-a azonban képtelen megfelelő mennyiségű protektív ellenanyag képzésére (121,122).

A humán HBV vakcinációs elégtelenség oka máig ismeretlen. Az életkor, az elhízás, a dohányzás, az alkohol és droghasználat, a fertőzések, az immunszupprimált állapot és a vakcináció módja, valamint genetikai tényezők egyaránt befolyásolják (123-127). A protein antigénekre adott ellenanyagválasz az MHC-II génekhez kötött és a HBV vakcinára adott immunválaszt a HLA-DR és DQ molekulák által prezentált immunogén peptidek határozzák meg (128,129). A DR3;DQ2 vagy DR7;DQ2 haplotípusok elégtelen immunválaszra hajlamosítanak (130-133). Irodalmi adatok szerint a CD és a HBV non-responder állapot egymással kapcsolatban vannak (134,135). A non-responderok fogékonyak maradnak a HBV fertőzés iránt, ezért fontos a rekombináns HBsAg-re adott elégtelen immunválasz tanulmányozása.

2.3 Haptoglobin polimorfizmus

A haptoglobin (Hp) egy transzportprotein, az ún. akut fázis fehérjék egyik döntő képviselője. Fő élettani funkciója, hogy az intravaszkuláris szabad hemoglobint a lebontásában részt vevő sejtekhez szállítja. Ezáltal fontos antioxidáns szerepe van, mert megvédi a sejteket a szabad hemoglobin toxikus hatásától. Emellett direkt angiogenetikus, gyulladásgátló és immunmoduláns hatást gyakorol az extravaszkuláris szövetekre és testnedvekre (136, 137).

A Hp az α_2 -globulin frakcióban vándorol. Ugyanúgy két-két nehézláncból és könnyűláncból épül fel, mint az immunglobulinok. A két lánc típus bioszintézisét külön-külön kromoszómahely szabályozza. A molekula polimorfizmusát a 16-os kromoszómán (16q22) elhelyezkedő, az α láncot kódoló gén két allélja – Hp1 és Hp2 – határozza meg. A genetikai polimorfizmus három fő fenotípusban nyilvánul meg: *1-1*, *2-1* és *2-2*. A Hp *1-1* genotípusa kis molekulású homodimerek (2 $\alpha_1\beta$ alegység), a *2-1* genotípus különböző hosszúságú lineáris polimerek, a *2-2* genotípus különböző nagyságú ciklikus polimerek (különböző számú $\alpha_2\beta$ alegység) képződését eredményezi. Az egymástól szerkezetileg jól elkülönülő Hp

fenotípusok különböző mértékű antioxidáns, scavenger és immunmoduláns tulajdonságokkal rendelkeznek, és ezek kapcsolatot mutatnak egyes gyulladásoos betegségek lefolyásával (138).

A Hp a monocytákon-makrofágokon expresszáldó CD163 és a granulocytákon, NK sejteken és a lymphocytákon található CD11b(CR3) receptorokhoz kapcsolódik. Képes közvetlenül is kötődni a CD4⁺ és a CD8⁺ T-lymphocyták többségéhez. Befolyásolja a szervezetben a Th1/Th2 típusú folyamatok egyensúlyát azáltal, hogy jelentősen csökkenti a Th2 típusú cytokin felszabadulást (139).

A legújabb kutatások szerint a CD163 receptor nemcsak a szabad hemoglobin clearance legfontosabb szabályozója, hanem jelentős immunmoduláló szerepe is van és olyan kulcsfontosságú gyulladásgátló anyagok szintézisét befolyásolja, mint az IL-10, a hemoxigenáz és a bilirubin (140). Ugyanakkor a glukokortikoidok és az IL-10 növelik, míg a TNF- α és az IFN- γ csökkentik a CD163 expresszióját (141). A Hp 2-2 molekula kötődik a legnagyobb affinitással a makrofágok CD163 receptorához, így azokat a leghatékonyabban aktiválja és ezáltal erőteljes szöveti károsodást indukál. Vannak olyan megfigyelések is, ami szerint az aktivált makrofágok a Hp 2-2-hemoglobin komplex és a CD163 kötődes hatására szignifikánsan alacsonyabb IL-6 és IL-10 termelést váltanak ki, mint a Hp 1-1-hemoglobin komplex (142).

A T-lymphocytákhoz közvetlenül kötődo és a CD163 receptorhoz kapcsolódo Hp molekuláknak egyaránt fontos, fenotípus függő biológiai és klinikai következményei vannak, amelyek számos ponton befolyásolhatják a CD pathomechanizmusát.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Betegek

A vizsgálatokban gyermekkorban és felnőttkorban diagnosztizált CD betegek vettek részt. A CD diagnózisát minden esetben vékonybél szövettani vizsgálattal igazoltuk, kórjelző mértékű (Marsh III) boholyatrophia alapján. A diagnosztikus hatékonyságot vizsgáló tanulmányokban szereplő kontrolloknál a CD fennállását szintén vékonybél szövettani vizsgálattal zártuk ki (2. táblázat).

	Biocard- dal mért TGA	HBV immuni- záció	Non-organ specifikus antitestek	CMV szeroló- gia	Anti- glikán antitestek
Igazolt CD, n	168*	128*	57	40	42
Kontrollok, n	107**	113	45	41**	100
Gastro-oesophagealis reflux	15		8	1	
IBD	14		4		
Irritábilis bél szindróma	2				
Táplálékallergia	8		3	6	
Postinfectios lactase defectus	7		2	8	
Cong.sucrase-isomaltase defektus	5				
Nemspecifikus krónikus hasmenés	29		8	21	
Visszatérő hasi fájdalom	2		12		
Intestinalis lymphangiectasia	1			1	
Cystás fibrosis	1		1		
Shwachman-Diamond syndroma	1				
Familiaris adenomatous polyposis	4				
Retardált növekedés	6			1	
Evészavar	2			3	
Tisztázatlan anaemia	7				
Családban előforduló coeliakia	3		2		
Gilbert-kór			2		
Obstipatio			2		
Recidiváló aphthosis			1		
Egészséges		113			100

2. táblázat: A kontrollok diagnózisa a különböző betegcsoportokban.

*Retrospektív és prospektív klinikai vizsgálatok együttesen

**Vékonybélbiopsiával értékelt kontrollok

3.1.1 Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard™ gyorstesztel

A módszer előzetes tesztelésére 121 korábban diagnosztizált CD beteg és 107 kontroll, normál boholyszerkezettel rendelkező beteg tárolt vérmintáit használtuk.

211 személyt (medián életkor 12,1 év, szélső értékek 0,6-72 év) prospektíven vizsgáltunk a DE OEC Gyermekklinikáján és a Heim Pál Gyermekkórházban Budapesten. Közülük 37-nél a CD a klinikai tünetek alapján nagyon valószínű volt (A csoport), 52-nek emésztőszervi vagy más tünetei voltak, de egyéb kórkép lehetősége is fennállt (B csoport), 122 személy pedig tünetmentes elsőfokú rokona volt a már ismert CD betegeknek (C csoport). A Biocard tesztet a helyszínen végeztük, vagy végeztettük el a betegekkel (illetve a szüleikkel). Pozitív eredmény esetén vékonybél biopsziát javasoltunk. Az eredményeket összehasonlítottuk az ugyanakkor vett savómintákból laboratóriumi módszerekkel meghatározott EMA és TGA eredményekkel. A vizsgálatba bevont minden személy normál szérum IgA szinttel rendelkezett.

A Biocard gyorsteszt további értékelésére populációsűrészt végeztünk Jász-Nagykun-Szolnok megyében az iskolaköteles korba lépő, 1998.06.01-1999.05.31 között született gyermekek körében 2005-ben. 2690 gyermek (az iskolaköteles populáció 77%-a) került a tanulmányba. Közülük 5 esetben már ismert volt a CD, és másik 9 gyermeknél egy éven belül történt EMA vizsgálat negatív eredménnyel. Náluk eltekintettünk a szűrővizsgálattól, így 2676 gyermek került szűrésre 120 helyi védőnő bevonásával.

3.1.2 Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése CD-ben

128 vékonybél szövettani vizsgálattal igazolt CD beteg és 113 EMA és TGA negatív kontroll került a tanulmányba. A betegek a DEOEC Gyermekklinikáján, a Heim Pál Gyermekkórházban Budapesten, a Markusovszky Kórházban Szombathelyen és a Hetényi Géza Kórházban Szolnokon álltak kezelés és gondozás alatt.

1. csoport

22 CD beteget soroltunk az 1. csoportba (11 leány, 11 fiú, medián kor: 8,8 év, szélső értékek 4-12,5 év), akik a HBV elleni védőoltást prospektív módon, glutenmentes diéta alatt kapták 2004. április 01. és 2006. március 31. között. Az oltóanyagot (*Engerix B*, GlaxoSmithKline, 10µg) 3 alkalommal (0., 1. és 6. hó) intramuscularisan alkalmaztuk. A védőoltás előtt minden beteg negatív volt a HBV markerekre (HBsAg, anti-HBc, HBe antigén, anti-HBe, anti-HBs). Anti-HBs meghatározásra vért a 2. és a 3. védőoltás után egy hónappal vettünk. A perifériás

véna punkciója során nyert vérből a szérumot centrifugálással szeparáltuk és a mintákat a meghatározásig minden csoportban -20°C-on tároltuk.

2. csoport

106 CD beteg (67 leány, 39 fiú) a hepatitis B elleni, életkorhoz kötött kötelező védőoltását az általános iskola 8. osztályában kapta meg 1999. szeptember 01. és 2006. március 31. között függetlenül a diagnózistól és a diétás státusztól. 79 betegben a CD ismert volt a vakcináció időpontjában és betegek már korábban glutenmentes diétát kezdtek. 27 esetben (25,5%) a diagnózis felállítása később történt meg, így a vakcináció alatt a betegek korlátlanul fogyasztottak glutent. A vakcináció az Országos Epidemiológiai Központ által évente meghatározott oltási naptár szerint történt (három adag - 0., 1. és 6. hó - *Engerix B* 10 µg vagy *H-B-VAX II*, Merck Sharp Dohme 5 µg, ill. két adag - 0. és 6. hó - *Engerix B* 20 µg vagy *H-B-VAX II* 10 µg). Az ajánlás alapját korábban már publikált nemzetközi hatékonysági vizsgálatok képezték (143). Anti-HBs meghatározásra szérumot a betegektől (medián kor: 16,7 év) a védőoltás után eltérő időpontokban (átlagosan 28 hónap múlva, szélső értékek: 2-75 hónap), más célból végzett vérvétel során gyűjtöttünk. A diétás compliance megítélésére ugyanakkor EMA és TGA ellenőrzés is történt.

3. csoport

113 hasonló életkorú egyént soroltunk a kontroll csoportba (70 leány, 43 fiú), akik a HBV vakcinációt ugyanolyan módon kapták meg, mint a 2. csoport tagjai 1999. szeptember 01. és 2004. március 31. között. A kontrollok mindannyian negatívak voltak a CD marker antitestjeire (EMA illetve TGA). Anti-HBs meghatározásra vért a betegektől (medián kor: 16,1 év) a védőoltás után eltérő időpontokban (átlag 23 hónap, szélső értékek: 4-52 hónap) vettünk, hasonlóan a 2. csoportban leírtakhoz.

4. csoport

A korábbi vizsgálat alapján protektív anti-HBs ellenanyag szinttel nem rendelkező CD betegeknek booster vakcinációt ajánlottunk fel. A 2. csoportból 37 beteg részesült egy alkalommal 20µg *Engerix B* védőoltásban. Anti-HBs meghatározásra vért a védőoltás után egy hónappal vettünk. Ebben a periódusban a betegek mindannyian szigorú glutenmentes diétát tartottak.

3.1.3 Lymphocita sejtfelszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegeknél

57 vékonybél szövettani vizsgálattal igazolt CD beteg (39 leány és 18 fiú, medián életkor: 11,9 év, szélső értékek: 1,7-32 év) és 45 EMA és TGA negatív kontroll (20 leány és 25 fiú, medián életkor: 12 év, szélső értékek: 2,8-20,6 év) vérmintáját teszteltük a lymphocita sejtfelszíni antigénstruktúrákra (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ és CD56⁺) és a poliszisztémás autoimmun betegségek marker autoantitestjeire (ANF, ENA, anti-DNS, Sm, Sm/RNP, SS-A, SS-B, Scl-70, Jo-1, centromer, citoskeleton). Minden CD és kontroll beteget a DE OEC Gyermekklinika Gasztroenterológiai szakrendelésén gondoztunk és a vizsgálatokat 2004. január 01. és 2007. október 31. között végeztük. Az autoantitestek kimutatásához vénás vérből centrifugálással szeparált savót, a sejtfelszíni markerek meghatározásához heparinnal alvadásgátolt vérmintát gyűjtöttünk. A vizsgálat időpontjában minden esetben EMA és TGA meghatározást is végeztünk.

3.1.4 CMV fertőzés lehetséges betegség provokáló hatásának vizsgálata

A CMV fertőzés CD-t kiváltó lehetséges szerepét egy-két éves életkor közötti, malabszorpció klinikai képével jelentkező 41 CD betegben (32 leány és 9 fiú, medián életkor: 1,5 év, szélső értékek: 0,9-2 év) és 40 hasonló korú kontrollban (16 leány és 24 fiú, medián életkor: 1,5 év, szélső értékek: 0,9-1,9 év) vizsgáltuk. A kontrolloknál szintén malabszorpció klinikai tünetei miatt történt vékonybél biopszia 1987. május 01. és 2003. január 31. között. A fenti életkori csoport kiválasztását az indokolta, hogy a CMV fertőzés általában krónikus és a CD kezdete későbbi diagnózis esetén pontosan nem határozható meg. A CD semmiképp sem kezdődik előbb, mint a gluten fogyasztásának megkezdése, és ebben a csoportban már néhány hónap alatt manifeszt malabszorpciós tünetek jelentek meg. Ugyanakkor feltételezhető volt, hogy erre az életkorra az anyai eredetű antitestek már teljesen eltűntek a keringésből. A CD és kontroll betegek diagnóziskor vett vérmintáiban retrospektív módon IgG és IgM típusú CMV ellenanyagokat határoztunk meg. A vénás vérből centrifugálással szeparált szérum mintát a vékonybél biopszia időpontjában vettük le és az ellenanyag vizsgálat időpontjáig -40°C-on tároltuk.

3.1.5 Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata

42 vékonybél biopsziával igazolt CD beteg (9 férfi, 33 nő, átlag életkor: 40,7 év, szélső értékek: 15-78 év) vérmintáját vizsgáltuk a diagnózis felállításakor *Saccharomyces cerevisiae* elleni (gASCA) IgG, anti-mannobioside carbohydrate elleni (AMCA) IgG, anti-chitobioside

carbohydrate elleni (ACCA) IgA és bakteriális külső membrán protein elleni (anti-OMP) IgA ellenanyagokra. Közülük 30 beteg szérum mintáját újraértékeljük hosszú távú, szigorú glutenmentes diéta alatt is. A két vérminta levétele között eltelt átlagos idő intervallum 49 hónap volt (medián: 28,5 hónap, szélső értékek: 10-159 hónap). A diétás compliance igazolására EMA és TGA vizsgálatokat is végeztünk a szérum mintákból.

Kontroll csoportként 100 magyar, egészséges EMA és TGA negatív véradó (47 férfi, 53 nő, átlag életkor: 36,6 év, szélső értékek: 22-43 év) szerepelt.

3.2 Módszerek

3.2.1 Szöveti vizsgálat

A vékonybél szövettani vizsgálatához a mintavétel felső endoscopyával (gyermeknél általános érzéstelenítéssel) a duodenum disztális szakaszából vagy Watson kapszulával (metoclopramide és midazolam adásával) a duodenojejunális határról történt. A vékonybélbiopsziás minták értékelésére rutin szövettani vizsgálatot (DE OEC Patológiai Intézet), morfometriát és fagyasztott, nem beágyazott metszeteken immunhisztokémiai vizsgálatokat használtunk.

3.2.2 A coeliakia-specifikus antitestek meghatározása

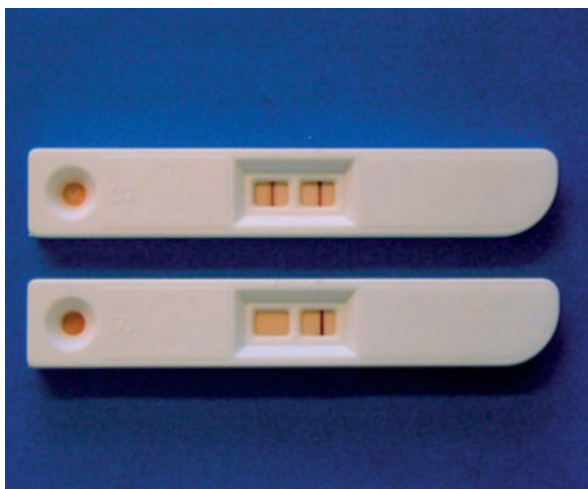
Az IgA és IgG típusú EMA antitestek kimutatása indirekt immunfluoreszcens vizsgálattal történt. Minden betegnél kértünk szérum immunglobulin izotípus meghatározást nefelometriás módszerrel. IgG típusú EMA és TG2 meghatározást végeztünk, ha a szérumban az IgA < 0,2 g/l volt (90). Az IgA típusú TGA kimutatása ELISA technikával történt (*Celikey™*, *Phadia GmbH*, Freiburg, Németország). A tesztelés során antigénként *E. coli* által termelt, human rekombináns, kalciummal aktivált TG2 szolgált (4, 144).

A vizsgált betegek EMA eredményei 1988-tól, a TGA eredmények 2002-től álltak rendelkezésünkre. Az EMA és TGA pozitivitás konkordanciája 99,2% volt a laboratóriumban (104).

3.2.3 Kereskedelmi CD gyorseszteszt

A gyorseszteszt lateral flow eljárásan alapuló, egyszerűen kezelhető immunkromatográfiás teszt (*Biocard Celiac Disease Test*, *Ani-Biotech*, Vantaa, Finnország), mely IgA típusú TGA-t mutat ki teljes vérből. A vérmintákat a vizsgálathoz ujjbegyből vettük egy 10 µl-es

kapillárisba és a mellékelt pufferben hemolizáltuk. Ezt követően három cseppet a tesztkazettában baloldalon elhelyezkedő mélyedésbe cseppentettünk (145). A kazettában a vérminta a kapilláris erő hatására oldalirányban halad és kapcsolatba lép a membránhoz kötött reagensekkel. Ha a vérmintában van TG2 antitest, akkor az a vörösvértestekből hemolízis során felszabadult saját TG2 antigénnel komplexet képez és reagál a kazettában lévő, kolloidális arannyal jelölt anti-IgA reagenssel, ami a kazetta baloldali (teszt) ablakában egy vörös vonal formájában válik láthatóvá 5-10 perc alatt (2. ábra). Ha nincs a vérben TG2-specifikus antitest, akkor csak a vörösvérsejt TG2 kötődik meg a vonal mentén. Mivel nincs rajta IgA antitest és anti-IgA reagens, így nem lesz látható. A tesztkazetta tartalmaz egy disztálisan elhelyezkedő kontroll vonalat is (jobboldali kontroll ablak), mely az anti-IgA reagenst közvetlenül köti meg és jelzi, hogy a vérminta megfelelően végighaladt a tesztútvonalon. Az eredmény pozitív, ha mindkét vonal (a bal tesztvonal és a jobb kontroll vonal is) látszik, negatív, ha csak a kontroll vonal látszik és nem értékelhető, ha nincs kontrollvonal. A második generációs Biocard kitben a jobboldali tesztvonal a beteg vérében lévő totál (nem-specifikus) IgA-t ismeri fel, így alkalmas az IgA hiány felfedezésére, mert IgA hiány esetén a kontroll ablakban sem képződik vonal. A teszt elvégezhető EDTA-s, vagy citrátos alvadásgátolt vénás teljes vérrel is. Ugyanazon minták felhasználásával a gyorseszteszt elvén működő ELISA eljárással is vizsgáltuk a betegeket, és az eredményeket összehasonlítottuk 2 különböző kereskedelmi, szérummintákkal dolgozó TGA kimutatási eljárással (*Celikey™*, *Phadia GmbH*, Freiburg, Germany és *INOVA Diagnostics*, San Diego, USA).



2. ábra: Transzglutamináz antitest helyszíni kimutatása *Biocard™* *Celiac Disease* gyorseszteszttel.
Felül egy pozitív, alul egy negatív eredmény látható.

3.2.4 Anti-HBs szerológia

Az anti-HBs ellenanyag meghatározása szendvics elven alapuló ELISA technikával a kereskedelmi forgalomban kapható kittel történt (*Hepanostica*, bioMérieux, Netherlands). Az anti-HBs assay a HBsAg összes altípusával szemben termelődő közös ellenanyag mérésére alkalmas, szenzitivitása 99,3%, specificitása 99,4%. A meghatározás a gyári előírások szerint történt. Az anti-HBs ellenanyag koncentrációját IU/l mértékegységben fejeztük ki és negatívnak tekintettük a 10 IU/l alatti értéket. 10 IU/l és 100 IU/l között low responderekről, ≥ 100 IU/l felett high responderekről beszéltünk.

3.2.5 Lymphocyta szubpopulációk

A CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ és CD56⁺ felszíni antigénstruktúrákat hordozó lymphocyták arányát flow cytometriával (*COULTER EPICS XL-4*) mértük heparinnal alvadásgátolt vérből, fluoreszcens festékkel konjugált monoklonális ellenanyagokkal. A vizsgálatokhoz az alábbi ellenanyagokat használtuk: anti human CD3-FITC/CD56-PE, CD3-PerCP (*Becton Dickinson*, USA), CD4-FITC/CD8-RPE/CD3-RPE-Cy5 (*DAKO*, Denmark), CD19-PC5 (*Beckman Coulter*, France). Minden mintából legalább 5 000 lymphocyta került vizsgálatra és az eredményként megadott százaléktételek az adott CD markerre pozitív lymphocyták arányát mutatják.

3.2.6 Non-organ specifikus autoantitestek

A poliszisztémás autoimmun betegségekre jellemző marker autoantitestek egy részének [anti-DNS (*Orgentec GmbH*, Mainz, Germany), ENA, Sm, Sm/RNP, SS-A, SS-B, Scl-70, Jo-1 (*Hycor Biomedical GmbH*, Kassel, Germany)] tesztelése a szérumból ELISA módszerrel, más részének [ANF, centromer, citoszkeleton (*IMMCO Diagnostics Inc*, Buffalo, New York, USA)] a kimutatása Hep2 sejten indirekt immunfluoreszcenciával történt a gyártó utasítása szerint.

3.2.7 CMV szerológia

Az IgG és IgM típusú CMV ellenanyagok mérése ELISA módszerrel történt a kereskedelmi forgalomban kapható kittel (*Trinity Biotech Captia*, Jamestown, USA). A meghatározás a gyártó útmutatása szerint történt. A CMV IgG meghatározásakor az ISR (Immun Status Ratio) értéket a beteg minta optikai denzitásának és a kalibrátor Cut-off értékének hányadosából számoltuk ki, $\geq 1,10$ ISR akut, vagy korábban lezajlott CMV fertőzést igazolt. A gyártó által megadott szenzitivitás 99,2%, a specificitás 94,1% volt. A CMV IgM értéket

abszorbanciában fejeztük ki. Pozitívnak tekintettük az eredményt, ha a beteg minta abszorbanciája meghaladta a Cut-off kontrollok abszorbanciájának középértékét. A pozitív eredmény akut, vagy nem régi (6 hónapon belüli) CMV fertőzést igazolt. A teszt szenzitivitása 100%, specificitása 97,6% volt.

3.2.8 gASCA IgG, AMCA IgG, ACCA IgA ellenanyag meghatározás

A perifériás vérből nyert szérum mintákat centrifugálással szeparáltuk és -70 °C-on tároltuk a mérésekig. Kereskedelmi forgalomban kapható kittestet használtunk a gyártó útmutatása szerint a gASCA IgG, AMCA IgG, ACCA IgA (*IBDX®*, *Glycominds Ltd.*, Lod, Israel) meghatározásra. Az eredményeket milliliterre vonatkoztatott egységekben (U/ml) fejeztük ki, amit a minta és a kalibrátor optikai denzitásából (OD) számoltunk ki. A küszöb (Cut-off) értékek gASCA IgG esetén 50U/ml, AMCA IgG esetén 100U/ml és ACCA IgA esetén 90U/ml volt. A Cut-off érték alatt mért mintákat negatívnak tekintettük.

3.2.9 OMP ELISA assay

A bakteriális külső membrán protein (OMP) elleni IgA meghatározás ELISA módszerrel történt a kereskedelmi forgalomban kapható kittel a gyártó útmutatása szerint (*QUANTA Lite OMP PLUS ELISA*, *INOVA Diagnostics*, San Diego, CA). Az eredményeket milliliterre vonatkoztatott egységekben (U/ml) fejeztük ki, a gyártó által megadott Cut-off érték 25U/ml volt.

3.2.10 Haptoglobin fenotípus meghatározás

A vizsgálatokat -70°C-on tárolt szérum mintákból végeztük. A haptoglobin (Hp) fenotípusanalízis Papp és mtsai által korábban ismertetett sodium-dodecil-szulfát poliakrilamid gradiens gél elektroforézist (SDS-PAGE) követően Millipore polivinilidén-difluorid (PVDF) immobilion-P transfer membrán (*Millipore*, Bedford, MA) segítségével immunoblottal történt (146).

3.2.11 HLA-DQ tipizálás

A HLA-DQ haplotípusok DNS szintű meghatározása szekvencia-specifikus primerekkel (*Olerup-SSP*), alacsony felbontású kittel (*DQ Low resolution bulk*, *Genovision*, Norway), PCR technikával történt. Első lépésben a β -láncot határoztuk meg. Nem egyértelmű eredmény esetén DQB1*02, ill. DQB1*03 szubtipizálás is történt, vagy az α -láncot is megvizsgáltuk (104).

3.2.12 Statisztikai analízis

Az eredményekből statisztikai módszerekkel következtettünk az összefüggésekre. A különböző csoportok közötti szignifikáns különbség kifejezésére a Chi-négyzet tesztet használtuk és szignifikánsnak tekintettük a különbséget $p < 0,05$ érték esetén.

Annak eldöntésére, hogy a HBV vakcináció következtében létrejött szerokonverzió szignifikánsan különböző-e a betegcsoportokban, a Chi-négyzet próbát használtuk.

A vizsgálatokhoz kapcsolódó konfidencia intervallumokat (CI) a Wilson módszer segítségével alkottuk meg, 95%-os konfidencia szint mellett. Az elemzéshez a SISA programot használtuk (<http://home.clara.net/sisa/>).

Egy másik vizsgálat során azt elemeztük, hogy van-e kapcsolat az anti-HBs koncentráció valamint a vakcinációtól a vizsgálatig eltelt időintervallum hossza között. A felhasznált statisztikai próba azt tesztelte, hogy a koncentráció és az eltelt idő közötti Pearson-féle korrelációs együttható szignifikánsan különbözik-e nullától. A próba nullhipotézise az volt, hogy a korrelációs együttható nulla, azaz hogy a kapcsolat nem szignifikáns.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard™ gyorstesztel

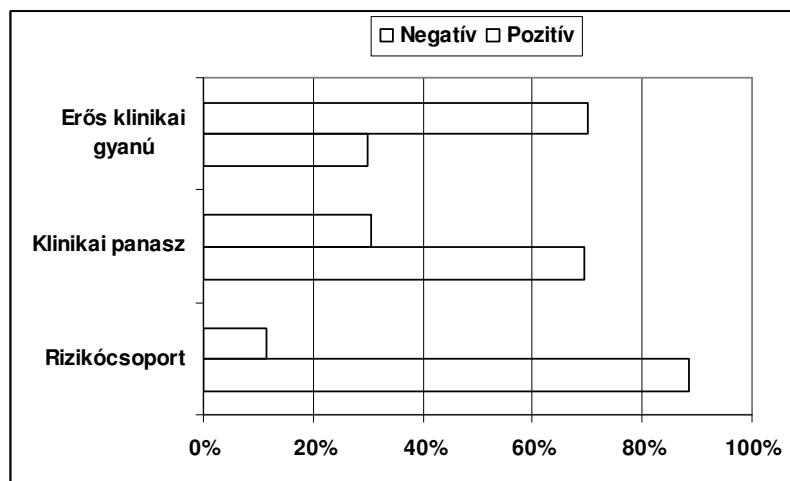
A tárolt vérmintákkal végzett előzetes tesztelés során a Biocard gyorsteszt szenzitivitása 97%, specificitása 94% volt a kezeletlen CD betegekben és a normál vékonybél szerkezettel rendelkező kontrollokban.

A prospektíven vizsgált 211 esetből összesen 55 személy (26,1%; 95% CI: 20,6-43,4%) volt pozitív a Biocard gyorstesztel. Erős klinikai gyanú esetén (A csoport) ez a vizsgált betegek 70,2%-a, emésztőszervi vagy egyéb klinikai panasz esetén (B csoport) 30,7%-a, míg a rizikócsoportban (C csoport) 11,5% volt (3. ábra). 21 esetben (9,9%; 95% CI: 6,6-14,7%) a gyorstesztet a betegek önállóan, segítség nélkül végezték el. Az eredmények 97,2%-ban egyeztek az EMA eredményekkel. A pozitív betegek közül 47-nél (85,5%; 95% CI: 73,4-92,4%) történt vékonybél biopszia, amely 46 esetben (97,9%; 95% CI: 88,9-99,6%) súlyos boholyatropiát, egy betegnél enyhe boholy eltéréseket és a coeliakia antitestek in situ, vékonybélben való jelenlétét igazolta. Ezért mindezeket a betegeket korrekt pozitívnak tartjuk. 156 személynél a Biocard teszt negatív volt, de az EMA vagy TGA eredmény pozitivitása miatt 2 esetben vékonybél biopszia történt, amely súlyos boholyatropiát igazolt. A 211 beteg közül 150-nél (71,1%; 95% CI: 64,6-76,8%) állt rendelkezésre Celikey tesztel mért TGA eredmény (3. táblázat), amely 96,7%-ban mutatott egyezést a Biocard gyorsteszt eredménnyel.

	Szérum EMA (n=150)		Szérum TGA (n=150)	
	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív
Gyorsteszt pozitív (n)	44	3	44	3
Gyorsteszt negatív (n)	2*	101	2*	101

3. táblázat. A gyorsteszt eredményének összehasonlítása a laboratóriumi endomysium antitest (EMA) és transzglutamináz antitest (TGA) meghatározás eredményével 150 prospektíven vizsgált személynél

*Az egyik beteg negatív volt az EMA vizsgálattal és pozitív a TG2 ELISA-val, a másik fordítva.



3. ábra: A Biocard pozitív betegek aránya a prospektíven vizsgált betegcsoportokban: erős klinikai gyanú (n=37), klinikai panasz (n=52), és coeliakia rizikója (n=122) esetén.

A friss vérből történő vizsgálatoknál a specificitás magasabbnak adódott, mint a tárolt vérmintáknál. Az EMA eredményekhez viszonyítva a szenzitivitás 95,5%, a specificitás 97,2% volt. A gyorstesztel prospektíven vizsgált coeliakiás csoportban rövidebb idő telt a beteg első jelentkezésétől a vékonybél biopszia elvégzéséig és kevesebb egyéb irányú invazív vizsgálatra került sor, mint a retrospektív csoportban (4. táblázat). A különbség a két csoport között szignifikáns volt ($p=0.009$).

	Csak laboratóriumi EMA/TGA kimutatás n=121	Helyszíni gyorsteszt alkalmazása n=46
A biopsziáig eltelt napok száma, medián (szélső értékek)	43** (1-127)	13** (0-93)
<3 nap	2.5 %	30 %
<8 nap	14 %	45 %
<15 nap	32 %	54 %
Egyéb invazív vizsgálatok száma	8	0
Colonoscopia	2	0
Hasi CT	2	0
Laparotomia	1	0
Irrigoscopia	1	0
Provokációs növekedési hormon teszt	2	0

4. táblázat: A coeliakia diagnosztikus folyamatának összehasonlítása a hagyományos módon kivizsgált és helyszíni gyorstesztel szűrt coeliakiás betegeknél. ** $p=0.009$

Jász-Nagykun-Szolnok megyében a helyi védőnők a teljes 6 éves korú populáció 77%-át, 2676 gyermeket szűrtek meg a Biocard gyorseszttel 2005-ben. Minden védőnő átlagosan 18 (szélső értékek: 4-95) gyermek helyszíni vizsgálatát végezte el. A Biocard gyorseszttel 28 esetben (1,05%) mutatott pozitív eredményt. Közülük 25 szülő adta beleegyezését a vékonybél biopsziához, minden esetben igazolódott a kórjelző (Marsh III) boholyatrophia (prediktív érték: 100%). Minden Biocard pozitív beteg pozitív volt a laboratóriumi EMA és TGA antitestekre is.

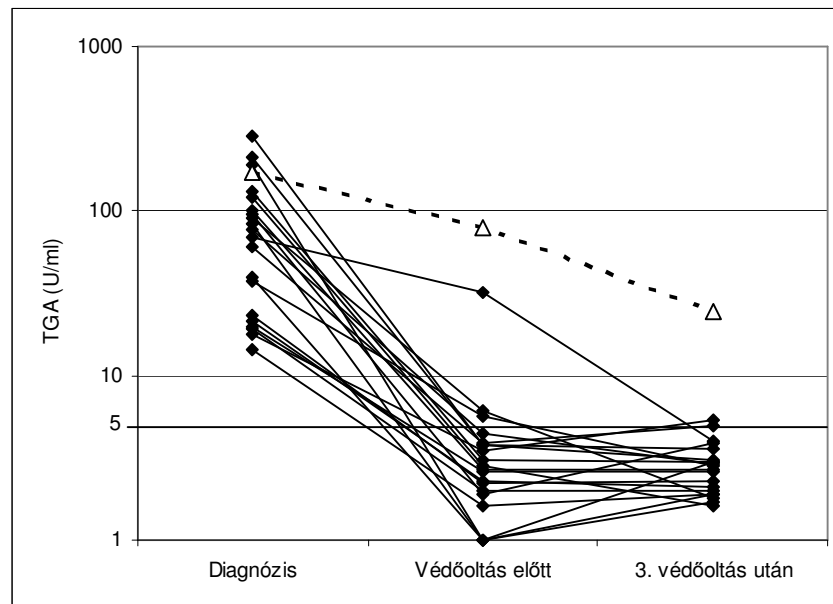
A gyermekek 97,5%-ától állt rendelkezésre laboratóriumi EMA és TGA ELISA meghatározásra is alkalmas kapilláris vérminta. 42 minta volt pozitív az IgA és IgG típusú EMA és 41 minta az IgA típusú TGA ellenanyagokra. Ezen kívül egy IgA hiányos beteget találtunk, akinél az IgG típusú EMA volt pozitív és a jejunális biopszia alátámasztotta a CD fennállását. A 14, Biocard teszttel a helyszínen negatívnak minősített, de IgA EMA pozitív beteg közül 12 esetben történt sikeres szövettani mintavétel, amely 6 betegben mutatott kórjelző vékonybél atrophiat. A fennmaradó 6 beteg HLA-DQ2 hordozó, a szövettani vizsgálat során emelkedett IEL és foltos TGA depozitumok látszottak, ami jelenleg nem meríti ki a CD diagnosztikus kritériumait.

A populáció szűrés kapcsán 32 (1,19%; 95% CI: 0,8-1,7%) új CD beteg (24 leány, 8 fiú) került felismerésre. A vizsgált 6 éves populációban korábban már 5 CD beteget diagnosztizáltak a klinikai tünetek alapján, így 2005-ben a vékonybél biopsziával igazolt CD előfordulása 6 éves életkorban 1,38%, az antitest pozitívitás prevalenciája 1,79% volt Magyarországon. A vizsgálat a magas részvételi arány miatt reprezentatívnak tekinthető a magyar népességre.

Eredményeink alapján a biopsziával igazolt CD betegek felismerését illetően a védőnők által végzett gyorseszttel szenzitivitása 78,1%, specificitása 100%. A laboratóriumi IgA és IgG típusú ellenanyag meghatározás eredményeihez viszonyítva a szenzitivitás 65,1% és a specificitás 100%. A CD betegek mintáit laboratóriumi körülmények között, a gyorseszttel értékelésében jártassággal rendelkező személyzet által vakon végzett összehasonlítással viszont azt találtuk, hogy a Biocard teszt valódi szenzitivitása 96,8 % volt.

4.2 Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése coeliakiában

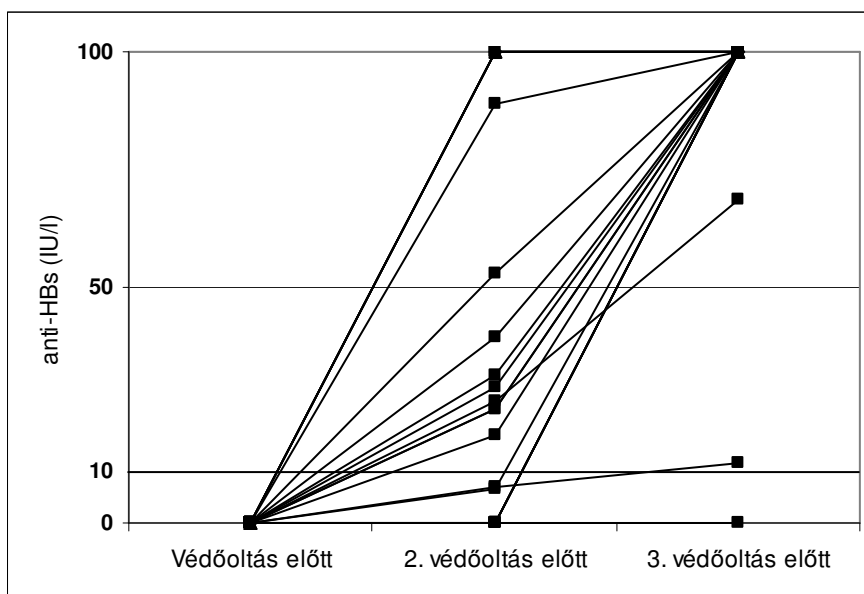
A prospektíven immunizáltak (1. csoport) negatívnak bizonyultak a HBV fertőzést jelző markerekre (HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBs és anti-HBc) és a TGA antitestek a HBV vakcináció kezdetén már jórészt negatívak voltak illetve a kezdeti értékekhez képest jelentős csökkenést mutattak (4. ábra).



4. ábra: A CD aktivitási markerek (TGA) értékei a prospektív HBV immunizáció idején (n=22) glutenmentes diéta mellett

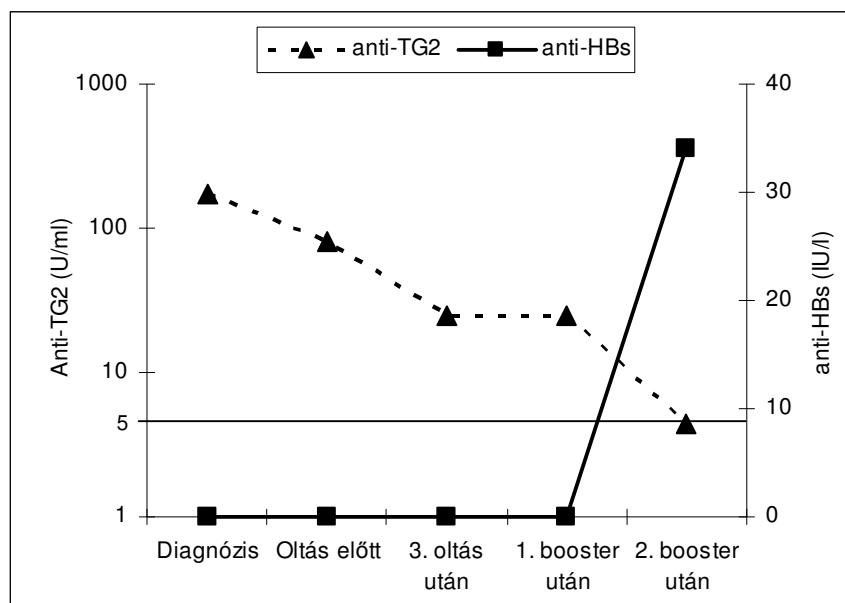
A folyamatos vonal a respondereket, a szaggatott vonal a non-responder beteg értékeit mutatja. A normális TGA koncentráció felső határa 5U/ml.

Oltási reakció vagy szövődmény nem jelentkezett a védőoltások után. Az anti-HBs szerokonverzió 95,5% (95% CI: 78,2-99,2%) volt az 1. csoportban. 19 betegben az anti-HBs ellenanyag koncentráció >100 IU/l volt (high responderek), két betegben 10-100 IU/l közötti (low responderek). Egy betegben az alap és a booster védőoltást követően sem alakult ki protektív ellenanyag szint. 13 betegben (59,1%; 95% CI: 38,7-76,8%) már a második védőoltás után egy hónappal protektív szint (≥ 10 IU/l) feletti, közülük 5 betegben >100 IU/l ellenanyag koncentrációt mértünk. Hat esetben csak a harmadik védőoltás után egy hónappal jelentek meg az anti-HBs ellenanyagok (5. ábra).



5. ábra: Az anti-HBs ellenanyagok termelődésének kinetikája prospektíven immunizált coeliakiás betegekben glutenmentes diéta mellett (n=22) A protektív anti-HBs ellenanyag szintet ≥ 10 IU/l koncentráció jelenti.

Minden beteg hordozta a HLA-DQ2 allélt homo- vagy heterozygota formában és 20 (90,1%) beteg a védőoltási sorozat végére negatív coeliakia ellenanyag státusszal rendelkezett. Egy CD beteg nem válaszolt ellenanyagképzéssel az alap és a booster oltásra és a diétás non-compliance következtében a coeliakia ellenanyagok pozitívak maradtak. Ez a non-responder beteg a DQ2 allélt homozygota formában hordozta, diabetesben is szenved és egyéb non-organ specifikus autoantitestekre is pozitivitást (anti-DNA, ANA, ANCA és cytoskeleton autoantitest) mutatott. Ismételt és elmélyített diétás oktatást követően, két évvel a CD diagnózisának felállítását követően végül sikerült elérni a negatív coeliakia ellenanyag státuszt. Ezt követően végzett HBV vakcináció után nála is protektív anti-HBs szintet mértünk (6. ábra).



6. ábra: Az anti-HBs ellenanyag és a TGA (anti-TG2) koncentráció közötti korreláció a non-responder betegben, aki nem válaszolt protektív ellenanyag termeléssel az alap és a booster HBV immunizációra

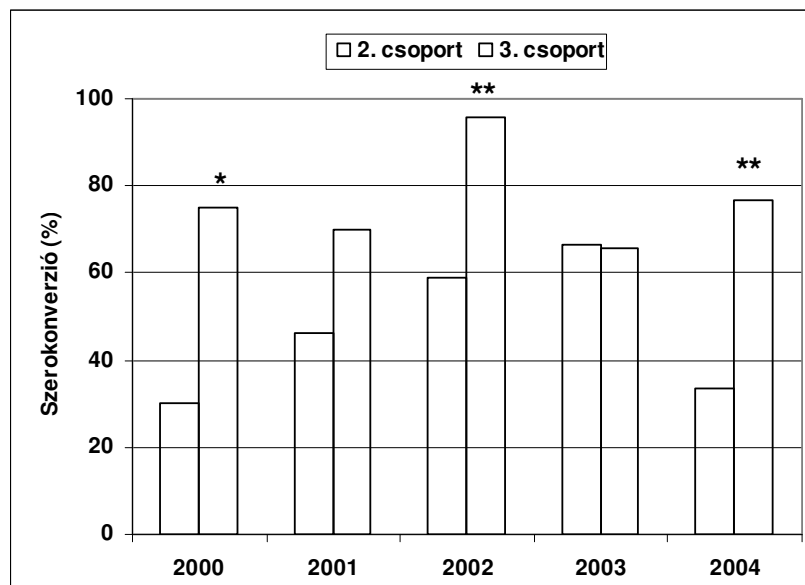
A protektív anti-HBs ellenanyag szintet ≥ 10 IU/l koncentráció jelenti. A normális TGA küszöb értéke 5U/ml.

Betegek/Kontrollok	1. csoport	2. csoport	Kontrollok
Összes (n)	22	106	113
Lányok (%)	11 (50)	67 (63,2)	70 (61,9)
Fiúk (%)	11 (50)	39 (36,8)	43 (38,1)
Median kor (év)	8,8	16,7	16,1
A tesztelésig eltelt idő (hónap)	1	28	23
Szerokonverzió (%)	21 (95,5)	54 (50,9)	85 (75,2)

5. táblázat: A betegek és a kontrollok klinikai adatai és a HBV védőoltást követően kialakult szerokonverzió aránya (%).

A 2. csoport tagjai a HBV vakcinációt az általános iskola 8. osztályában, az iskolai kötelező kampány oltás keretén belül kapták meg függetlenül a CD diagnózisától és a diétás státusztól. Protektív anti-HBs koncentráció a 106 beteg közül 54-ben (50,9%; 95% CI: 41,6-60,3%) alakult ki (5. táblázat). A 113 kontroll egyén közül 85-ben mértünk protektív anti-HBs koncentrációt, a különbség a két csoport között szignifikáns volt ($p < 0,001$). Az egészséges kontrollokban mért pozitivitási arány megfelelt az Országos Epidemiológiai Központ más korcsoportokban rendelkezésre álló adatainak. A betegekben és a kontrollokban mért szerokonverziót évenkénti bontásban is összehasonlítottuk egymással. 2003-ban gyakorlatilag

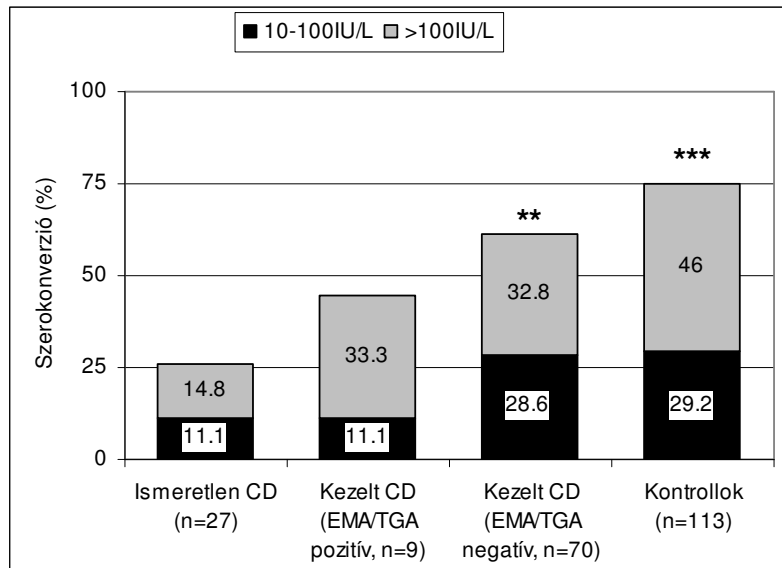
egyforma arányban alakult ki protektív védettség a két különböző csoportban ($p=0,94$), míg 2000-ben, 2002-ben és 2004-ben az eredmények szignifikánsan különböztek egymástól (7. ábra). Az egészséges serdülőkben (3. csoport) 2002-ben volt a legmagasabb a szerokonverzió, ami szignifikánsan különbözött a 2001-ben ($p=0,012$) és a 2003-ban ($p=0,006$) oltottak eredményétől.



7. ábra: A protektív anti-HBs ellenanyag szinttel rendelkezők aránya a védőoltás éve szerint csoportosítva [2. csoport (betegek): $n=106$ és 3. csoport(kontrollok): $n=113$].

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

A 2. csoportban 27 esetben (25,5%) ismeretlen volt a CD a vakcináció időpontjában, közülük a protektív titerrel válaszolók aránya a 25,9% (95% CI: 13,2-44,7%) volt, ami szignifikánsan kisebb, mint a kontrollokban talált arány ($p < 0,001$). 79 esetben a CD ismert volt a HBV immunizáció alatt, közülük 70 beteg szigorú glutenmentes diétát folytatott, amit a negatív EMA és TGA eredmény igazolt. A szerokonverzió 61,4% (95% CI: 49,7-71,9%) volt közöttük, ez nem különbözött szignifikánsan a kontrolloktól ($p=0,102$). Kilenc beteg rendszeresen megszegte a glutenmentes diétát, ennek bizonyítékeként a HBV vakcináció idején pozitív coeliakia ellenanyag státusszal bírt. A válaszolók aránya náluk 44,4%-nak (95% CI: 18,9-73,3%) adódott, ami átmenetet jelent a még nem diagnosztizált CD betegek, vagyis kezeletlenek és a szigorúan diétázók között (8. ábra).



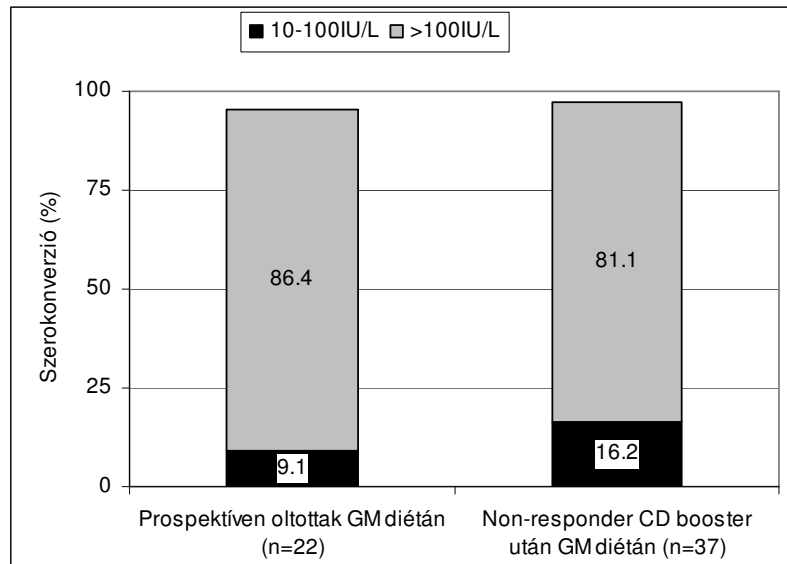
8. ábra: A protektív anti-HBs ellenanyag szinttel rendelkezők aránya (2. csoport: n=106 és 3. csoport: n=113).

A betegség aktivitását az EMA és TGA vizsgálatokkal ellenőriztük. A CD betegek eredményeit a kontrollokhoz hasonlítottuk.

** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

A kontrollokban az ellenanyag koncentráció alakulását az oltás és a vérvétel között eltelt időtartam nem befolyásolta, a korrelációs koefficiens $-0,0902$ ($p=0,348$) volt. A CD betegek esetében a korrelációs koefficiens $-0,2261$ ($p=0,019$) volt, ami csekély kapcsolatra utal az anti-HBs koncentráció és a védőoltástól a tesztelésig eltelt időtartam között. Az anti-HBs koncentráció azonban nem mutatott jelentős csökkenést azokban a betegekben, akikben rendelkezésre állt 2-3 éves idő különbséggel több szérum minta.

Az 52 anti-HBs negatív CD beteg közül 37 egyezett bele a booster vakcinációba, akik a védőoltás idején mindannyian ellenőrzött glutenmentes diétát folytattak. Közülük 36-ban (97,3%; 95% CI: 86,2-99,5%) alakult ki protektív ellenanyag szint a védőoltás után egy hónappal (9. ábra).

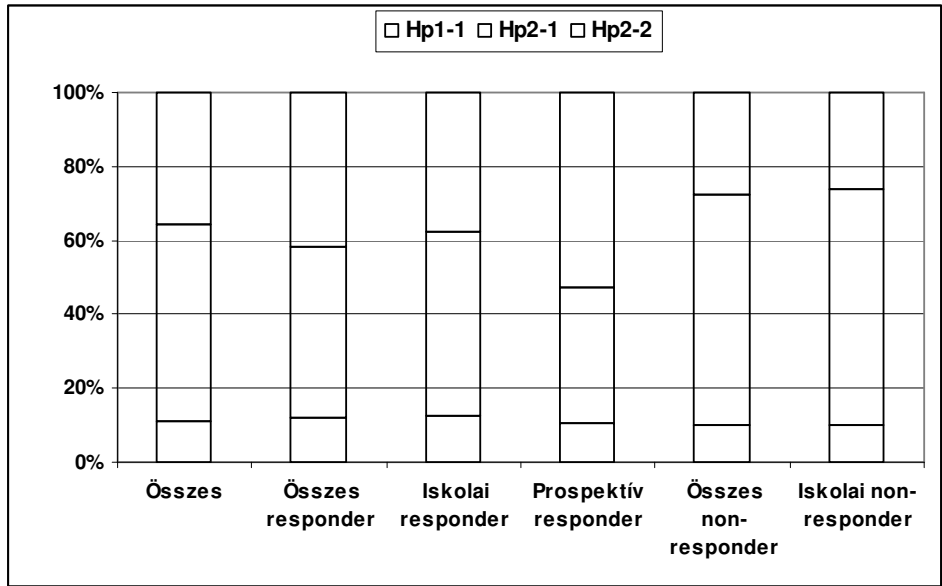


9. ábra: A szerokonverzió aránya a prospektíven immunizáltakban (n=22) és a korábbi iskolai védőoltás után negatív anti-HBs szinttel rendelkezőkben (n=37) a booster oltás után, $p=0,704$.

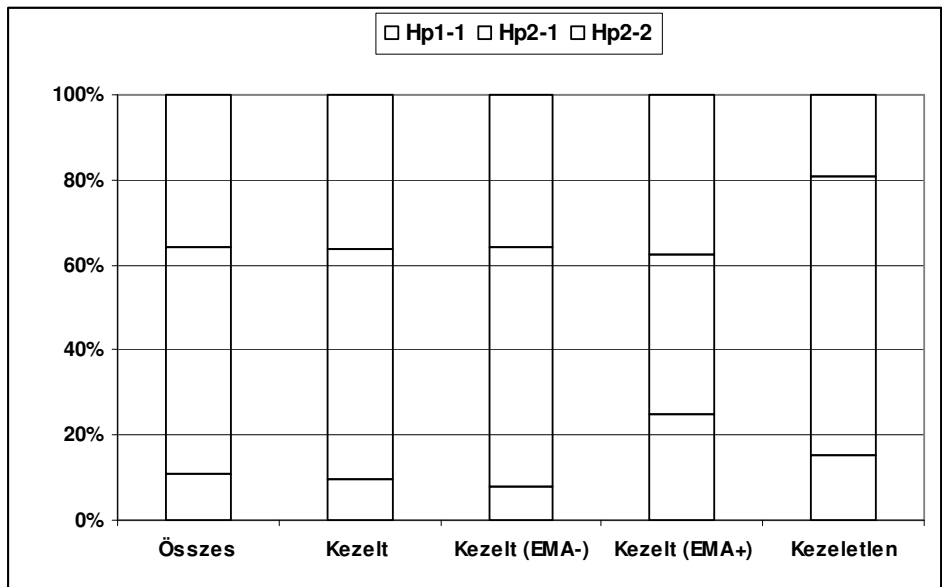
GM: *glutenmentes diéta*

A 2. csoport betegei közül 53 (50%) esetben állt rendelkezésre a HLA-DQ tipizálás eredménye. Két beteg HLA-DQ8 pozitív volt, mindketten protektív ellenanyag termeléssel válaszoltak az iskolai védőoltásra. A többi 51 beteg HLA-DQ2 pozitív volt. A szerokonverzió a homozygotákban 64,3% (95% CI: 38,8-83,7%), a heterozygotákban 51,4% (95% CI: 35,9-66,6%) volt. Nem volt szignifikáns különbség a két csoport között.

Tekintettel arra, hogy korábbi vizsgálataink során azt találtuk, hogy a Hp polimorfizmus befolyásolhatja a CD klinikai lefolyását (147), a 128 CD beteg közül 118 esetben (92,2%) Hp fenotipizálást is végeztünk. Leggyakoribb a Hp 2-1 fenotípus volt (53,4%), ezt követte a Hp 2-2 (35,6%), majd a Hp 1-1 (11%) fenotípus. A Hp polimorfizmus nem mutatott összefüggést CD-ben a HBV immunizáció eredményével (10. ábra), sem a betegség aktivitásával, sem pedig a betegek diétás státuszával (11. ábra). Habár a prospektív csoportban gyakoribb volt a Hp 2-2 fenotípus (55%) prevalenciája, a különbség nem volt szignifikáns az összes ($p=0,242$) és az iskolai oltásban részesült (2. csoport) betegekhez viszonyítva sem ($p=0,145$).



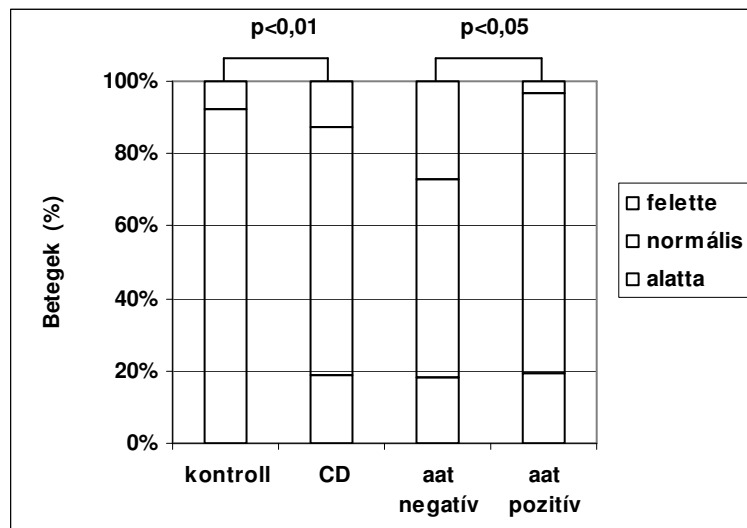
10. ábra: A haptoglobin fenotípusok előfordulása a HBV immunizációra adott ellenanyagválasz függvényében coeliakiás betegekben.
 Respondernek tekintettük a ≥ 10 IU/l feletti, protektív anti-HBs titerrel rendelkezőket.



11. ábra: A haptoglobin fenotípusok előfordulása az összes (n=118) és az iskolai hepatitis B védőoltásban részesült (2. csoport) betegekben.
 A coeliakia aktivitását az EMA és TGA vizsgálatokkal ellenőriztük.

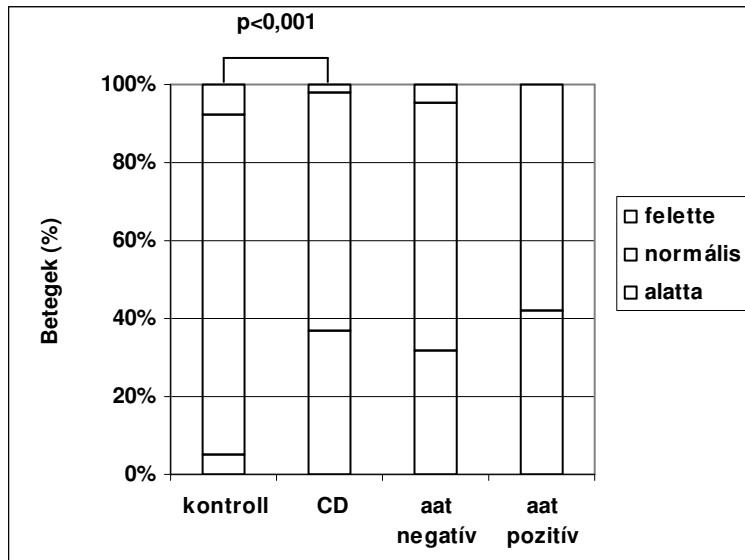
4.3 Lymphocytá sejt felszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegeknel

A coeliakiásokban a $CD3^+$ ($p < 0,01$) és a $CD4^+$ ($p < 0,001$) sejtarány szignifikánsan kisebb, a $CD19^+$ ($p < 0,05$) sejtarány szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollokban mért értékek (12-16. ábra). A $CD3^+$ ($p < 0,05$) sejtek aránya szignifikánsan nagyobb volt a non-organ specifikus autoantitestre negatív coeliakiásokban (12. ábra). Hat CD betegben (10,5%) kettős pozitív ($CD3^+/CD56^+$) sejteket detektáltunk 1-9% arányban, közülük négy esetben (66,6%) pozitívak voltak a coeliakia ellenanyagok.



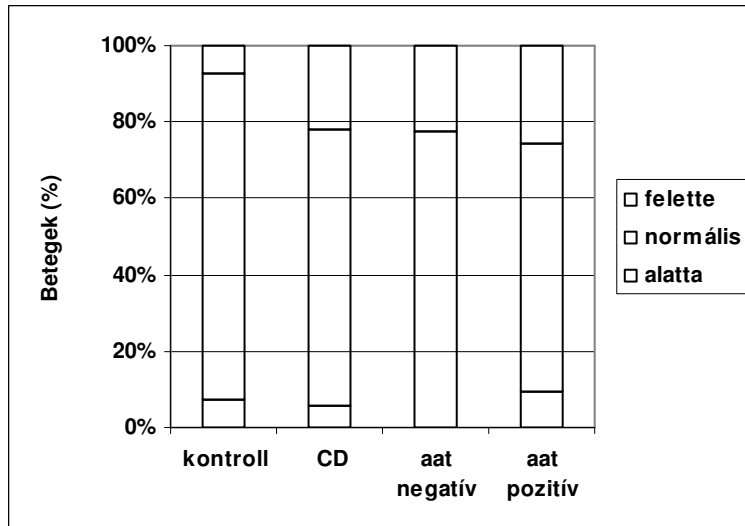
12. ábra: $CD3^+$ sejtarány az egyes csoportokban [kontroll és coeliakiás (CD) betegek, coeliakiás non-organ specifikus antitestekre negatívak (aat negatív) és coeliakiás non-organ specifikus antitestekre pozitívak (aat pozitív)].

Az oszlopokon belüli különböző mintázat a betegek %-os arányát mutatja aszerint, hogy a $CD3^+$ sejtarányuk a normális tartományba esett, alatta, vagy felette helyezkedett el.



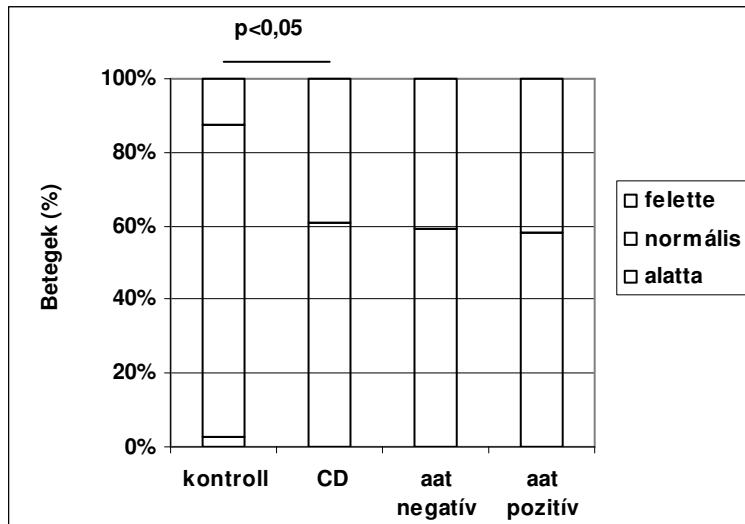
13. ábra: CD4⁺ sejtarány az egyes csoportokban [kontroll és coeliakiás (CD) betegek, coeliakiás non-organ specifikus antitestekre negatívak (aat negatív) és coeliakiás non-organ specifikus antitestekre pozitívak (aat pozitív)].

Az oszlopokon belüli különböző mintázat a betegek %-os arányát mutatja aszerint, hogy a CD4⁺ sejtarányuk a normális tartományba esett, alatta, vagy felette helyezkedett el.



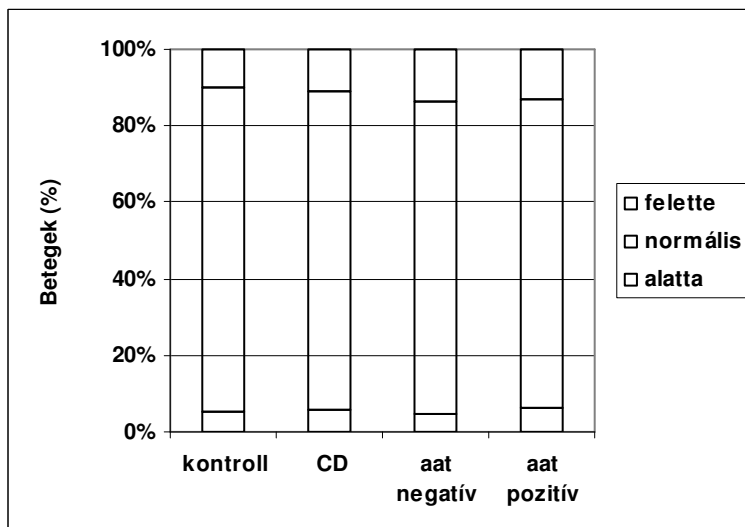
14. ábra: CD8⁺ sejtarány az egyes csoportokban [kontroll és coeliakiás (CD) betegek, coeliakiás non-organ specifikus antitestekre negatívak (aat negatív) és coeliakiás non-organ specifikus antitestekre pozitívak (aat pozitív)].

Az oszlopokon belüli különböző mintázat a betegek %-os arányát mutatja aszerint, hogy a CD8⁺ sejtarányuk a normális tartományba esett, alatta, vagy felette helyezkedett el.



15. ábra: CD19⁺ sejtarány az egyes csoportokban [kontroll és coeliakiás (CD) betegek, coeliakiás non-organ specifikus antitestekre negatívak (aat negatív) és coeliakiás non-organ specifikus antitestekre pozitívak (aat pozitív)].

Az oszlopokon belüli különböző mintázat a betegek %-os arányát mutatja aszerint, hogy a CD19⁺ sejtarányuk a normális tartományba esett, alatta, vagy felette helyezkedett el.



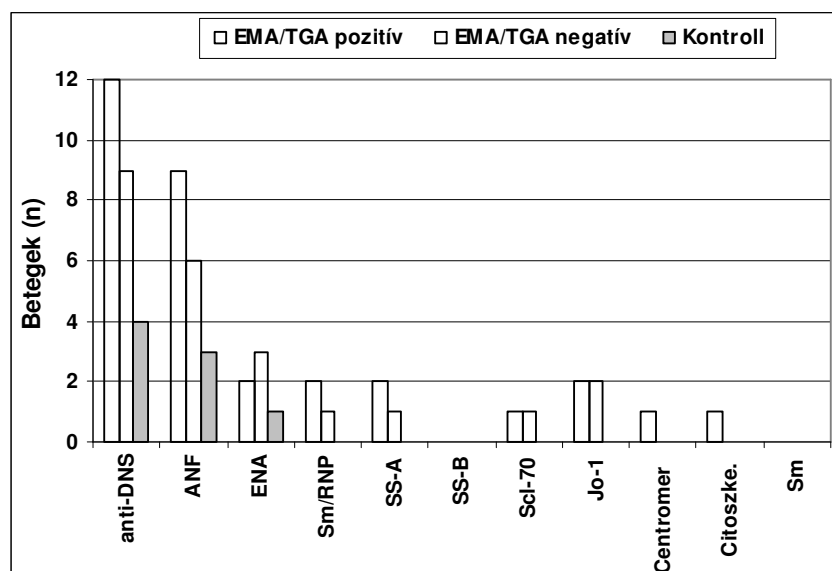
16. ábra: CD56⁺ sejtarány az egyes csoportokban [kontroll és coeliakiás (CD) betegek, coeliakiás non-organ specifikus antitestekre negatívak (aat negatív) és coeliakiás non-organ specifikus antitestekre pozitívak (aat pozitív)].

Az oszlopokon belüli különböző mintázat a betegek %-os arányát mutatja aszerint, hogy a CD56⁺ sejtarányuk a normális tartományba esett, alatta, vagy felette helyezkedett el.

Az 57 CD beteg közül 27-ben (47,4%; 95% CI: 35-60,1%) voltak pozitívak az aktív betegséget jelző EMA és TGA ellenanyagok. Harminckét (56,1%; 95% CI: 43,3-68,2%) beteg volt pozitív legalább egy, 11 (19,3%) pedig kettő vagy több vizsgált egyéb autoantitestre (17. ábra). Leggyakoribb az anti-DNS pozitivitás volt (36,8%; 95% CI: 25,5-49,8%), és ez a non-organ specifikus autoantitestekre pozitívak 65,6%-át (95% CI: 48,3-79,6%) érintette. Ez volt az egyetlen eltérés az összes autoantitest pozitív beteg 34,3 %-ában. Az anti-DNS pozitívak 28,6%-ában az ANF és 23,8%-ában az ENA is pozitív volt. 21 betegben az anti-DNS meghatározást 6 hónap múlva glutenmentes diéta mellett is megismételtük és az eredményeket a TGA koncentráció alakulásával párhuzamosan a 18. ábrán tüntettük fel.

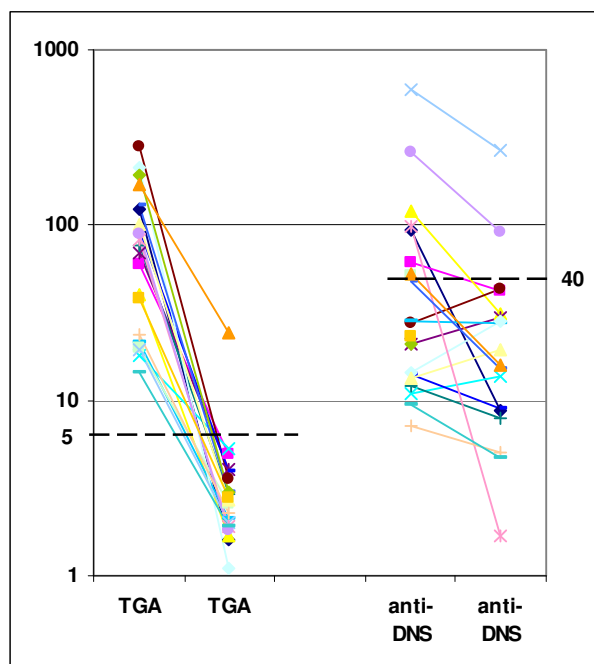
A legalább egy autoantitestre pozitív betegek közül 21-ben (65,6%; CI: 48,3-79,6%) pozitívak voltak a CD aktivitását jelző EMA vagy TGA ellenanyagok és a különbség a non-organ specifikus autoantitest szempontjából negatív csoporthoz viszonyítva szignifikáns volt, ($p < 0,01$).

A kontrollok 17,8%-ában (95% CI: 9,3-31,3%) mutattunk ki non-organ specifikus autoantitestet, négy esetben ANF (8,9%), három esetben anti-DNS (6,7%) és egy esetben ENA (2,2%) pozitivitás fordult elő. Egy beteg (2,2%) volt pozitív a vizsgált autoantitestek közül kettőre (anti-DNS, ANF). A CD betegekben szignifikánsan gyakoribb ($p < 0,001$) volt a non-organ specifikus autoantitest pozitivitás, mint a kontrollokban (17. ábra).



17. ábra: Non-organ specifikus autoantitestek előfordulása coeliakiás (n=57) és kontroll (n=45) betegekben.

A coeliakiás betegekben szignifikánsan gyakoribb ($p < 0,001$) volt a non-organ specifikus autoantitest pozitivitás.



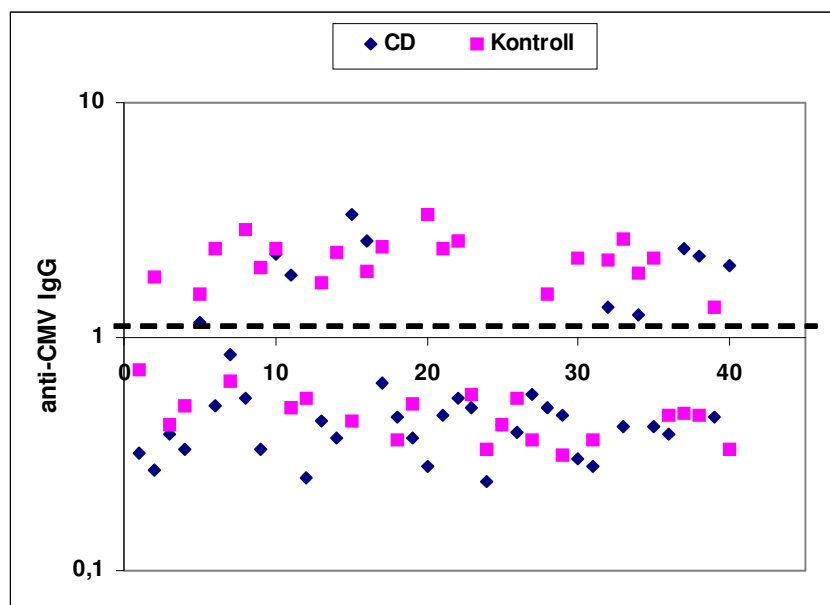
18. ábra: Coeliakia (TGA) és anti-DNS autoantitestek együttes előfordulása (n=21). A TGA meghatározás a diagnózis felállításakor és 1,5 év (medián) múlva történt. Az anti-DNS meghatározást a fenti időtartam alatt végeztük, a két mérés között átlagosan 6 hónap telt el.

A normálisnak tekintettük a TGA értéket 5 U/ml, az anti-DNS-t 40U/ml felső határig, amit az ábrán szaggatott fekete vonallal tüntettünk fel.

4.4 A CMV fertőzés lehetséges betegség provokáló hatásának vizsgálata

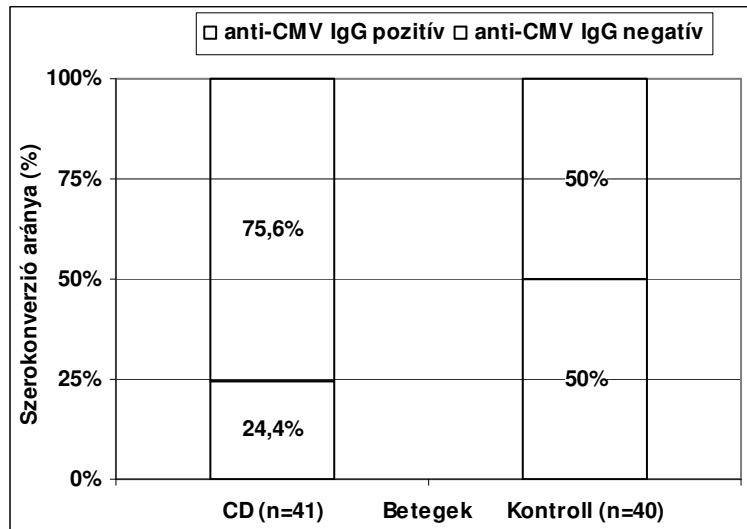
Nigro és mtsai szerint nyolc hetes korban az anyai CMV ellenanyagok 10-20%-a perzisztál, ezért egyéves kor felett az anyai ellenanyagok jelenlétével már nem kell számolnunk (148).

Anti-CMV IgM és IgG pozitivitást a 81, 1-2 év közötti életkorban vizsgált beteg közül 3 esetben (3,7%; 95% CI: 1,3-10,3%) mutattunk ki. A 41 vékonybél szövettani vizsgálattal igazolt CD beteg (32 leány és 9 fiú, medián életkor: 1,5 év, szélső értékek: 0,9-2 év) közül 10 esetben (24,4%; 95% CI: 13,8-39,3%) mutattunk ki IgG típusú anti-CMV ellenanyagot, anti-CMV IgM pozitívitas egy esetben sem igazolódott. A krónikus hasmenés miatt vizsgált nem coeliakiás kontroll csoportban (16 leány és 24 fiú, medián életkor: 1,5 év, szélső értékek: 0,9-1,9 év) az anti-CMV IgG pozitívitas aránya 50% volt (95% CI: 35,2%-64,8%) és közülük három betegben (7,5%; 95% CI: 2,6-19,9%) az anti-CMV IgM ellenanyag is pozitív volt. Ebben a csoportban (kontroll) az anti-CMV IgG pozitívitas szignifikánsan gyakrabban fordult elő ($p=0,017$), mint a CD betegekben (19-20. ábra).



19. ábra: Az anti-CMV koncentrációk alakulása a malabszorpció miatt vizsgált betegekben (CD=41 beteg, Kontroll=40 beteg). A fekete szaggatott vonal feletti területen lévő pontok a pozitív mintákat ($ISR \geq 1,10$) mutatják, ($p=0,017$).

A nem coeliakiás betegcsoportban a magas CMV szeropozitivitás ellenére nem volt súlyos boholyatrophia. Ebben a csoportban 32 betegnél (80%) állt rendelkezésre quantitativ mérési eredmény a disaccharidáz enzimek aktivitásáról. A normál és csökkent disaccharidáz enzimaktivitási értékek aránya azonos volt a CMV szeropozitivak és szeronegativak között. Ennek alapján a CMV fertőzés a kefeszegély enzimek károsodásával sem állt összefüggésben. Az összes beteg ($n=81$) adatait figyelembe véve, a fiúk fogékonyabbak voltak a CMV fertőzésre, mint a lányok ($p=0,0068$). A coeliakiás lányok 18,8%-a mutatott anti-CMV IgG pozitivitást, míg a coeliakiás fiúkban a CMV szerokonverzió aránya 44,4% volt, a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns ($p=0,112$). A kontroll csoportban a lányok 37,5%-a, a fiúk 58,3%-a volt anti-CMV IgG pozitív, ami nem volt statisztikailag szignifikáns ($p=0,196$). A CMV szeropozitivás meglepően magas (50%) aránya különösen figyelemre méltó a nem coeliakiás betegcsoportban, mert e betegek többségénél (2. táblázat) a klinikai kivizsgálás idején oki diagnózist felállítani nem sikerült.



20. ábra: Az anti-CMV IgG pozitivitás aránya coeliakiás (CD) és kontroll betegekben.

A kontroll csoportban az anti-CMV IgG pozitivitás szignifikánsan gyakrabban fordult elő ($p=0,017$), mint a coeliakiás betegekben.

4.5 Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata

A gASCA IgG, AMCA IgG, ACCA IgA és az anti-OMP IgA ellenanyagok prevalenciája szignifikánsan nagyobb volt a CD diagnózisának felállításakor, mint az egészséges kontrollokban (6. táblázat). A CD betegek 69,1%-a volt pozitív legalább egy vizsgált ellenanyagra a diagnózis időpontjában.

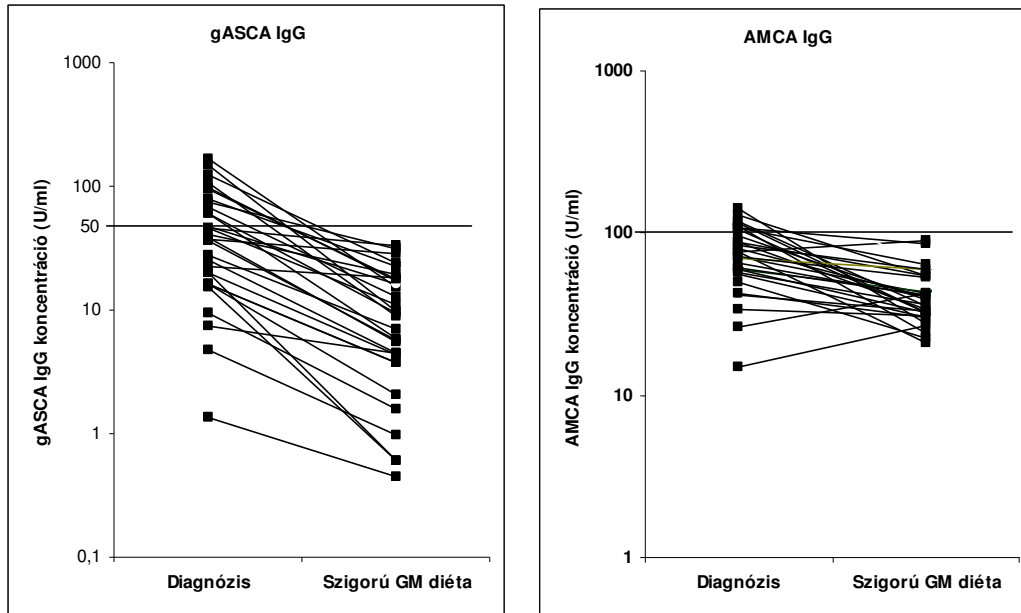
	CD betegek	Kontrollok
Betegek (n)	42	100
gASCA IgG pozitívak (%)	15 (35,7) *	14 (14)
AMCA IgG pozitívak (%)	11 (26,2) **	0 (0)
ACCA IgA pozitívak (%)	12 (28,6) **	6 (6)
Anti-OMP IgA pozitívak (%)	18 (42,9) *	20 (20)

6. táblázat: az anti-glycan és az anti-OMP antitestek előfordulása CD betegekben és egészséges kontrollokban

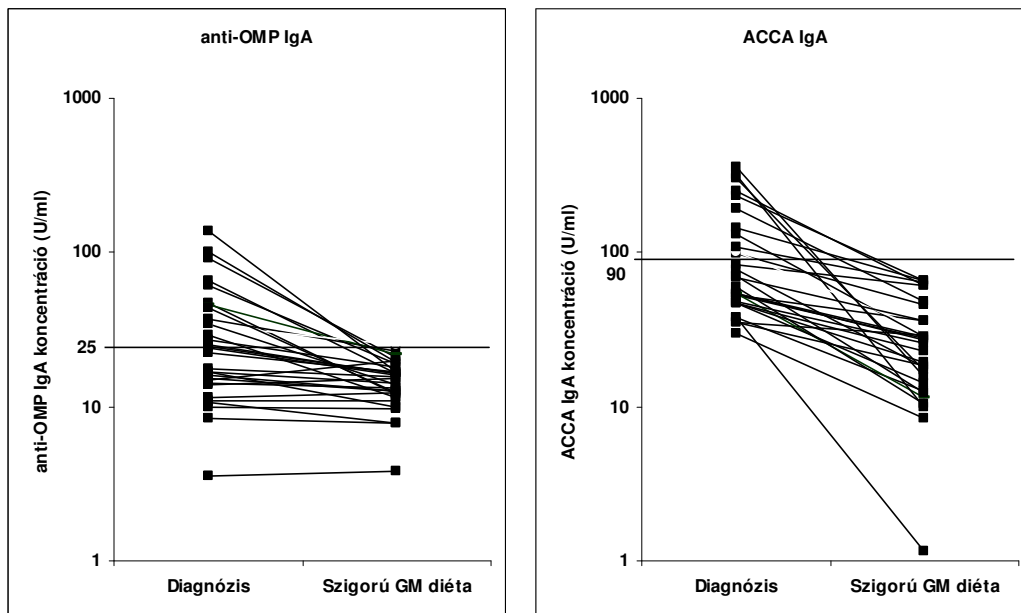
* $p<0,01$; ** $p<0,001$

Az anti-glycan ellenanyagok pozitivitása (gASCA IgG 12, AMCA IgG 9 és ACCA IgA 11 betegben) teljesen eltűnt, és minden ellenanyag koncentrációja szignifikánsan ($p<0,001$)

csökkent a gluten elimináció hatására (21-22 ábra). Az IgA típusú anti-OMP ellenanyag a 14 betegből egy esetben pozitív maradt az EMA és TGA negatívvá válásának ellenére, de a titer ebben a betegben is jelentősen csökkent a 135 hónapos glutenmentes diéta alatt (33,2U/ml-ről 25,4U/ml-re).



21. ábra: a CD betegek (n=30) gASCA és AMCA IgG ellenanyag titerének változása szigorú glutenmentes (GM) diéta mellett
Cut-off értékek gASCA IgG esetén 50U/ml, AMCA IgG esetén 100U/ml



22. ábra: a CD betegek (n=30) ACCA és anti-OMP IgA ellenanyag titerének változása szigorú glutenmentes (GM) diéta mellett
Cut-off értékek anti-OMP IgA esetén 25U/ml, ACCA IgA esetén 90U/ml

5. MEGBESZÉLÉS

A tanulmány során értékelt immunreakciók a CD különböző immunológiai aspektusait és a betegek ellátásának különböző fázisait vizsgálták (pathomechanizmus, diagnózis, állapotfelmérés, társult problémák menedzselése). Ezek a témák több ponton érintkeznek és segíthetik mind a betegség teljesebb megértését, mind a betegek jobb gyakorlati ellátását. A betegségre jellemző fő (TG2 elleni) immunreakció mellett nem elhanyagolható egyéb kóros eltéréseket találtunk, melyekben maga a gluten is szerepet játszhat, és amelyek a megfelelő kezelési eredmény elérése érdekében klinikailag is figyelembe veendőek. Összefüggést lehetett igazolni a kezeltségi állapottal, a TG2 elleni antitestek kimutathatóságával és a glutenmentes diéta betartásának minőségével. Emellett az infektív ágensekre adott válasz defektusa tükrözheti a coeliakiás betegek immunrendszerének primer zavarát is, ami szerepet játszik a gluten-érzékenység létrejöttében, habár a jelen vizsgálatok alapján a CMV általunk feltételezett kóros szerepe nem igazolódott.

5.1 Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard™ gyorstesztel

A népesség legalább 1%-át érintő CD népegészségügyi probléma. A betegség változó súlyosságú emésztőszervi, extraintesztinális vagy általános tünetekkel jelentkezik. Felismerése a jellegzetes tünetek alapján is gyakorlott orvost igényel, gyakran hosszú időt vesz igénybe és a diagnózis felállítása csak a szövődmények (pl. osteoporosis, degeneratív szervi károsodások, kisagy ataxia, autoimmun kórképek, lymphoma) kapcsán történik meg.

A specifikus és szenzitív szerológiai tesztek megjelenése új horizontot nyitott a CD diagnosztikájában és az új betegek megtalálásában. A coeliakia antitest vizsgálatoknak azonban nem mindig megfelelő a specificitása és a prediktív értéke, a kimutatás sem mindenhol hozzáférhető (4). A laboratóriumi diagnosztika „gold standardjának” tekintett EMA vizsgálat értékelése helyenként szubjektív, nagy gyakorlatot igényel és nagyszámú minta értékelésére nehezen alkalmas.

Mióta ismert, hogy a coeliakia antitestek valójában a TG2 enzimmel reagálnak, az antitesteket tisztított vagy rekombináns transzglutamináz alkalmazásával, ELISA módszerrel is lehet mérni (149). A kereskedelmi forgalomban kapható kitékkel azonban eltérő, fals pozitív és negatív eredmények egyaránt előfordulhatnak. Ennek oka az, hogy a transzglutamináz nagyon sérülékeny, a tárolást nehezen bírja illetve a rekombináns enzimek térszerkezete vagy

stabilitása nem teljesen azonos a természetes enzimével (150). Ezt a hibát küszöböli ki a beteg saját, friss transzglutamináz antigénjének felhasználásával a Biocard gyorseszttel, ami egyszerűségénél fogva gyors, ágyemelletti vizsgálatra is alkalmas.

Vizsgálatunk azt mutatja, hogy a Biocard helyszíni gyorseszttel hatékonyan és gyorsan ki lehet válogatni azokat a személyeket, akiket tovább kell vizsgálni. Az eredmények 97,2%-ban egyeztek a laboratóriumi EMA és 96,7%-ban a TGA leletekkel. Archív vérmintákkal összehasonlított saját vizsgálataink azt igazolták, hogy a friss vérből történő vizsgálatoknál a specificitás még magasabb, mint a tárolt vérmintáknál. Mégsem ez magyarázza, hogy a Biocard tesztet elsősorban friss vérmintával végezzük. A mindennapi gyakorlatban az jelentős előnyt a beteg és a vizsgáló számára, hogy az eredmény azonnal rendelkezésre áll. Ennek különösen a súlyos állapotban kórházba kerülő betegek kivizsgálása során van nagy szerepe, akiknél tumor, gyulladós bélbetegség, anyagcsere betegségek fennállása is felmerül. Nem mindegy ugyanis, hogy hány invazív vizsgálat (CT, szcintigráfia, endoscopia, laparoscopia) után születik meg a helyes diagnózis, és hogy ezek mekkora megterhelést jelentenek a beteg és az egészségügyi ellátó számára. A Biocard tesztel elvégzett vizsgálataink azt igazolták, hogy az így felismert betegeknél kevesebb invazív diagnosztikára került sor, és a CD betegek közel fele az első jelentkezést követő 3 napon belül túlelt a vékonybél biopszián. A feleslegesen elvégzett vizsgálatok és beavatkozások így elkerülhetők, a súlyos állapotú betegeknél csökken a hospitalizáció időtartama, ami jelentős költség megtakarítást jelent az egészségügyi szolgáltató számára is.

Ma a CD diagnózisához még feltétlenül szükséges a vékonybél szövettani vizsgálata, amihez elsősorban a hosszú távú, felnőttkori ellátás biztonsága érdekében kell ragaszkodni (151, 152). Bár a pozitív Biocard eredmény igen jó prediktív értékű és gyakorlatilag ekvivalensnek tekinthető a pozitív EMA eredménnyel, csupán ennek alapján glutenmentes diétát elkezdni nem szabad, a beteget gasztroenterológiai centrumba kell irányítani.

2005-ben szűrést végeztünk 6 éves gyermekek körében, Jász-Nagykun-Szolnok megyében a helyi védőnők segítségével, akik a teljes 6 éves korú populáció 77%-át, 2676 gyermeket szűrtek meg a Biocard gyorseszttel. A pozitív személyeknél közvetlenül a gyorseszttel eredményét követően, minden egyéb szerológiai vizsgálat közbeiktatása nélkül történt meg a vékonybél biopszia, melynek találati aránya 100% volt. A védőnők laboratóriumi EMA és TGA ELISA meghatározásra is vettek kapilláris vérmintát, amelyből az IgA és IgG típusú EMA antitesteket is meghatároztuk, szimultán, kettős immunfluoreszcens jelöléssel kombinált indirekt immunfluoreszcens vizsgálattal. Az összesített eredmények alapján a védőnők az antitest-pozitív gyermekek 78%-át ismerték fel a helyszínen, illetve ezeknél vállalták a

vékonybél biopsziára való közvetlen küldést. A laboratóriumban végzett Biocard tesztelésnél a védőnők által fel nem ismert betegek többsége igen halvány tesztvonalat mutatott és ezeknél a plazmából mérhető EMA és TGA is alacsony vagy határérték eredményt adtak. A felmérés szerint 2005-ben a vékonybél biopsziával igazolt CD előfordulása 6 éves korban 1,4%, az antitest pozitívítás prevalenciája 1,79% volt Magyarországon. A vizsgálat a magas részvételi arány miatt reprezentatívnak tekinthető a magyar népességre.

A Biocard tesztet sikerrel tudták maguk a betegek/szülők is elvégezni, ami igen fontos előrelépést jelenthet a glutenmentes diéta önellenőrzésében is. Kellő időtartamú diéta után ugyanis a kezdetben pozitív Biocard teszt negatívvá válik. Újabb pozitívítás megjelenése viszont diéta hibákat jelez. Egy további előnyt jelent, hogy az orvosi ellenőrzés kapcsán kiderített pozitív eredményről azonnal visszajelzést kap a beteg és a gondozást végző orvos, ezért közvetlenül a teszt elvégzése után, idővesztés nélkül nyílik lehetőség a szigorú glutenmentes diéta támogatására.

A tünetmentes családtagok között (11,5%) és a normál népességben is szűrtünk ki új CD betegeket. A gyorseszteszt alkalmazása a rizikócsoportokban egyértelműen előnyös. A családtagoknál a diagnózis elfogadása és a diéta megszervezése viszonylag könnyen megy. Magyarországon még nem minden CD diagnózis esetén végzik el automatikusan az elsőfokú rokonok szűrését. Ezért a gyorseszteszt elterjedésével esély van arra, hogy az eddiginél jóval több új beteget ismerjenek fel az alapellátásban is.

A normál népességből kiszűrt coeliakia antitest pozitív személyek nagy többségének valójában jelentős egészségi problémái voltak (anaemia, növekedés elmaradás), ezért felismerésük globális költség-haszon hatását tovább kell elemezni. Vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy az ujjbegyből vett teljes vérből a gyorseszteszt alkalmazásával elvégzett coeliakia szűrés effektív és megbízható és a saját TG2-t kereskedelmi ELISA vizsgálatokban is eredményesen fel lehet használni, melyek elve a gyorsesztesztéhez hasonló, de nagyobb kapacitással, laboratóriumi méretekben is elvégezhető. Ezek költsége várhatóan sokkal alacsonyabb a hagyományos szűrőmódszerekénél és az egészségügy számára jelentősen leegyszerűsítene a coeliakia ellátását.

Itt ismét meg kell említeni, hogy a pozitív antitest eredmény (Biocard vagy laboratóriumi) csupán segítség a betegség felismerésében és nem biztosít végleges diagnózist. A kiszűrt személyeket figyelmeztetni kell erre és támogatni abban, hogy az endoscopos vagy biopsziás vizsgálatra eljussanak.

A Biocard gyorseszteszt negatív eredményt adhat IgA hiány esetén. Ezért ismert IgA hiány esetén, vagy ha a klinikai tünetek nagyon erős gyanút keltenek a CD fennállására, a betegek a

hagyományos módon tovább vizsgálándók. A Biocard teszt egy újabb, IgA szenzitív változatával maga az IgA hiány is felismerhető, így a továbbiakban a célzott laboratóriumi vizsgálat elvégezhető.

A Biocard teszt fals negatív eredményt ad akkor is, ha szérum mintákat próbálnak vele tesztelni, mivel akkor a rendszerben nincs ott a vörösvérsejtekből felszabaduló saját TG2 antigén.

A gyorseszttel végzett vizsgálatnak nem célja, hogy a gasztroenterológiai kivizsgálást pótolja. Az azonnali eredmény azonban a szakorvos számára is jelentős támpontot adhat, hogy a kivizsgálást milyen irányban folytassa. A teszt elvégzése nem igényel speciális laboratóriumi felszerelést és ott is kivitelezhető, ahol nincs lehetőség a vérminták tárolására. A vizsgálatnak helye van a háziorvosi gyakorlatban is az új betegek felkutatásában és a CD betegek diétás státuszának ellenőrzésében.

5.2 Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése coeliakiában

Vizsgálatunkban a HBV vakcinációt követően csökkent humorális immunválaszt detektáltunk a kezeletlen coeliakiás serdülőkben. A glutenmentes diétát tartó prospektíven immunizált betegekben azonban az egészségesekhez hasonló arányban alakult ki szerokonverzió.

Mai ismereteink szerint Európában és az USA-ban a lakosság 1%-a szenved CD-ben (153), ezért a HBV vakcinációs sikertelenségnek fontos népegészségügyi vonatkozása van. A hazánkban érvényes védőoltási naptár szerint a serdülők HBV védőoltása életkorhoz kötötten (14. év – általános iskola 8. osztály) kötelező. Gyakran előfordul, hogy ilyenkor a CD diagnózisa még ismeretlen, ezért a HBV immunizáció alatt az egyén még folyamatos gluten expositionnak van kitéve. Habár az USA-ban a HBV vakcináció már csecsemőkortól ajánlott, Park és mtsainak tanulmánya szerint az immunizációt átlagosan csak 3 éves korra, vagy később fejezik be, amikor a gluten terhelés már szintén jelentősnek tekinthető (135).

A HBsAg iránti immunválasz T-sejt dependens és eredményeként specifikus neutralizáló ellenanyagok (anti-HBs) keletkeznek, ami több ponton kapcsolódik az MHC determinált mechanizmusokhoz. Az immunfolyamatokban kulcsszerepet játszó T-helper sejtek az APC által bekebelezett, valamint feldogozott protein fragmens és az MHC-II osztályú antigén (HLA-DR, -DQ, -DP) együttesét ismerik fel. Ennek a folyamatnak bármely szakaszában bekövetkező károsodás a specifikus neutralizáló ellenanyagok képződésének elmaradásával járhat.

A korábbi kutatások arra utaltak, hogy a HBV elleni vakcinációt követő non-responder állapot az egyébként egészségesekben, nem áll összefüggésben a HBsAg defektív felvételével és feldolgozásával (154,155). A HLA régió polimorfizmusa, amelynek fontos szerepet tulajdonítunk a protein antigének prezentációjában, azonban nagyban hozzájárul a HBV iránti csökkent ellenanyag válaszhoz (132,156). Godkin és mtsai a külső (envelope) és belső (core) HBV peptideknek a HLA glycoproteinekhez való kötődését vizsgálták és az eredményeik alátámasztották a HLA-DR3 molekulák direkt közreműködését a HBV non-responder állapotban (133). A feldolgozott antigén MHC-II molekulákhoz való kapcsolódásával együtt, vagy nélküle is zavart szenvedhet a T-sejt aktiváció (157,158).

A HBsAg specifikus Th1 sejtek hiányát (159), az inadekvát Th1/Th2 cytokin termelést (160-162) és a Th sejtek csökkent CD40L expresszióját is összefüggésbe hozták a nem megfelelő ellenanyagválasszal (163). Más gének, különösen, amelyek az immunregulációs cytokineket kódolják, további moduláló effektust fejtenek ki az immunválaszra. Ebből a megfontolásból figyelmet érdemelnek az IL-2 és IL-12 termelést kódoló gének, mivel ezeknek a molekuláknak a rekombináns formáját egyre gyakrabban használják vakcinák adjuvánsaként állat- és humánkísérletekben egyaránt (126).

Avanzini és mtsai azonban nem találtak összefüggést az ellenanyag produkciója és a T-sejt válasz között. Véleményük szerint a T-sejtek működése inkább a HBsAg iránti expositio kinetikáját, mint az anti-HBs válasz nagyságát befolyásolta (164).

CD-ben a gliadin fehérjék specifikus, deamidált glutamin maradványai és a HLA-DQ2 vagy DQ8 molekulák interakciója indukálja a T-lymphocyták proliferációját (39,153). Vizsgálatunkban a szerokonverzió szignifikánsan kisebb volt a kezeltlen betegekben, mint a kezelt és jó compliance-val bíró betegekben vagy a kontrollokban. Mivel mind a gliadin peptidek, mind a HBsAg protein fragmentumok a HLA-DQ2 molekulákhoz kötődnek, a kompetíciójuk aktív CD-ben elégtelen anti-HBs ellenanyag produkciót eredményezhet.

A vakcináció idején még fel nem ismert és ezért nem kezelt coeliakiás serdülőknél meglepően magasnak (74,1%) találtuk az anti-HBs szeronegatív arányát. Noh és mtsai felnőtt CD betegek eredményeit retrospektív módon elemezve, a non-responder arányát hasonlóan magasnak (68%) találta (134), Park és mtsai coeliakiás gyermekekben 54%-os non-responder arányt figyelt meg (135). A korábbi retrospektív tanulmányok azonban nem elemezték egymástól függetlenül a kezelt és kezeltlen CD betegek eredményeit. Vizsgálatunkban szigorú glutenmentes diéta mellett, prospektív immunizációval (1. csoport) az egészséges emberekével megegyező, normális responder rátát (95,5%) tudtunk elérni,

viszont a responderok aránya csak 50,9% volt, ha az immunizációt a diagnózistól és a diétás státusztól függetlenül végeztük el (2. csoport).

Az ellenőrzött, szigorú glutenmentes diéta mellett végzett sikeres prospektív, primer és booster oltások, valamint a coeliakia ellenanyagok pozitivitása és a non-responder állapot között megfigyelt összefüggés azt sugallja, hogy leginkább a CD aktivitásának van szerepe a HBV vakcináció sikertelenségében. Ennek megfelelően az újonnan diagnosztizált és korábban immunizált CD betegekben szükségesnek tarjuk az anti-HBs ellenanyag koncentráció meghatározását és szeronegativitás esetén a CD specifikus autoantitestek (EMA, TGA) eltűnése után javasoljuk az újabb, szabályosan végzett oltási sorozat elkezdését. Másrészt a hepatitis B non-responder állapot hátterében fel nem ismert CD is állhat. Park és mtsai arra hívták fel a figyelmet, hogy a jelenlegi védőoltási stratégia mellett és a növekvő számú CD betegek miatt az univerzális HBV vakcináció ellenére is reális veszélyt jelent a HBV iránti fogékonyság perzisztálása. Saját eredményeink azt mutatták, hogy a gluten bevitelnek jelentős negatív szerepe van aktív CD-ben a HBV vakcinációt követő immunválasz kialakulására, ami alapján felmerül az igény egyéb vakcina antigénekre adott immunválasz tanulmányozására is a coeliakiás betegekben.

Az általunk vizsgált egészséges serdülőkben (3. csoport) a szerokonverzió aránya 75,2% volt, ez alacsonyabbnak látszik az elvárhatónál. Rusvai és mtsai egy hazai vizsgálatban HBsAg pozitív anyák 0. és 6. hónap között oltott, 15 hónapos gyermekeiben hasonló, 74%-os szerokonverzióról számoltak be (165) és nem publikált adataik szerint egészségügyi dolgozók körében végzett felmérésükben is csak 68% volt a szerokonverzió aránya. Vizsgálatunkban a csökkent szerokonverziós rátát az is magyarázhatja, hogy a szerológiai vizsgálat és a védőoltás időpontja között hosszabb idő (átlagosan 2 év) telt el. Hosszú távú követéses vizsgálatok azt mutatták, hogy egészséges gyermekekben 10 évvel a védőoltás után az anti-HBs ellenanyagok perzisztálása 48-64% között változik (166,167). Vizsgálatunk szerint az egészséges serdülőkben, 2002-ben volt a legmagasabb a szerokonverzió, de nem találtunk összefüggést a védőoltás módja és az anti-HBs ellenanyag koncentráció között. A kontroll csoportból nem áll rendelkezésre olyan adat, amely egy hónappal a védőoltások adása után vizsgálja az anti-HBs koncentrációt, ezért nem zárható ki, hogy az ellenanyag titer gyors csökkenése okozza a prospektíven immunizáltakban mért eredményhez viszonyított eltérést. A korábban kezeletlen CD betegek 97,3%-a a negatív coeliakia ellenanyag státusz elérése után (4. csoport) protektív immunválaszt produkált, ami az immun memória perzisztálását mutatja a glutenmentes diéta mellett. A gyengülő anti-HBs ellenanyag titer azonban még

memória T-sejtek jelenlétében sem képes minden esetben megelőzni a de novo HBV fertőzést (168).

A Hp egy haemkötő, jelentős antioxidáns és immunmoduláló funkcióval bíró akut fázis fehérje. Genetikailag két allél (Hp1 és Hp2) kódolja és három fő fenotípusa ismert (Hp1-1, 2-1 és 2-2). A Hp fenotípusok közötti funkcionális különbségek számos betegség prevalenciáját és klinikai megjelenését befolyásolhatják. Munkacsoportunk más társzerzőkkel együtt CD betegekben elsőként vizsgálta a Hp polimorfizmus megoszlását (147). Az eredmények azt mutatták, hogy a CD betegekben a Hp fenotípus megoszlása eltér az átlag populációtól (a Hp2-1 fenotípus szignifikánsan gyakoribb volt) és ez összefügg a prezentációs tünetekkel.

A különböző Hp fenotípusok vakcinációra kifejtett hatását eddig kevés tanulmány vizsgálta. Nevo és mtsai szerint a Hp2-2 fenotípusú betegek jobban reagáltak a typhoid vakcinációra, mint a Hp1-1 hordozók (169). Ellentétben ezzel, egy másik vizsgálatban a HBV immunizációt követő ellenanyagválasz mértéke és kinetikája éppen a Hp2-2 fenotípusú egyéneknél volt gyengébb, összehasonlítva a Hp1-1 és Hp2-1 hordozókkal (170). Az immunizált CD betegekben a 2-1 fenotípus előfordulása gyakoribb volt a másik két Hp fenotípushoz viszonyítva, a különbség azonban nem volt szignifikáns. Saját vizsgálatunkban nem találtunk összefüggést az anti-HBs szerokonverzió aránya és a Hp fenotípusok között a különböző csoportokban és a glutenmentes diéta betartása sem különbözött jelentősen a fenotípusok között. Ez a megfigyelés nem zárja ki a Hp-nak mind az innate, mind pedig az adaptív immunrendszer szabályozásában betöltött komplex, esetenként a fenotípustól függő immunmoduláló hatását a HBV vakcinációra. A kérdés eldöntésére nagyobb betegszámú vizsgálat és különböző kontroll, valamint etnikai csoportokban elvégzett tanulmányok is szükségesek. A Hp polimorfizmus vizsgálatával szerzett eredményeink is támogatják azt az elképzelésünket, hogy a gluten bevitelnek jelentős szerepe van aktív CD-ben a HBV vakcinációt követő immunválasz kialakulásában.

5.3 Lymphocytá sejt felszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegekben

CD-ben az immunológiai eltérések nem korlátozódnak a vékonybélre, ezért a perifériás vér lymphocytáinak vizsgálata fontos információt szolgáltat az autoimmun és a malignus folyamatok felderítésére. Viszonylag csekély azon közlemények száma, amely CD-ben

vizsgálta a perifériás vér lymphocytáinak CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ és CD56⁺ antigénstruktúráit. Közülük Vetvicka és mtsai nem találtak eltérést a T- és B-sejt, valamint a CD4⁺/CD8⁺ arányban coeliakiások és egészségesek között és a CD4⁺/CD8⁺ arány nem mutatott összefüggést a betegség aktivitásával és a glutenmentes diétával (171). Hasonló következtetésre jutottak Arató és mtsai is (172). Di Sabatino és mtsai szerint a perifériás lymphocyták abszolút számának csökkenése CD-ben a lymphocyták intesztinális kompartmentalizációját tükrözi, míg az NK és cytotoxikus sejtek csökkenése a malignitás előfordulását növeli (173). Egy további munkájukban bebizonyították, hogy aktív CD-ben a perifériás lymphopeniáért a Fas-mediált apoptosis felelős, amely egyben az anti-phospholipid autoantitestek termelődését is fokozza (174).

Vizsgálatunkban a CD betegek perifériás vérében kimutatott CD3⁺ és CD4⁺ T-lymphocytá arány szignifikáns csökkenése az intesztinális T-sejt aktiváció következménye lehet, amit a keringő CD19⁺ B-sejtek arányának szignifikáns növekedése kísért. Hat betegben a CD3⁺/CD56⁺ sejtek jelenléte is a T-sejt aktivációra utalt, közülük négy esetben pozitívak voltak a coeliakia ellenanyagok.

Az autoantitest termelés fontos jellemzője az autoimmun betegségeknek, amit a saját antigének elleni immuntolerancia elvesztése jelez. A nem-szövet specifikus autoantitestek jelenléte poliszisztémás autoimmun betegségekre hívhatja fel a figyelmet. Lerner és mtsai CD betegek autoantitestjeit vizsgálva 23%-ban anti-DNS, 14%-ban anti-cardiolipin autoantitesteket mutatott ki (175). Da Rosa Utiyama és mtsai a coeliakiás betegek 25%-ában legalább egy autoantitestet detektált, a betegek első fokú rokonaiban ez az arány 17,8% volt, és az egyik leggyakrabban kimutatott autoantitest az ANA volt (176). Volta és mtsai a szövet-specifikus autoantitestek előfordulását tanulmányozta és a 70 coeliakiás beteg 26%-a volt pozitív legalább egy vizsgált autoantitestre. Ha a CD más autoimmun betegséggel társult, 80%-ban tudtak pozitívást detektálni, míg társuló autoimmun betegség nélküli CD-ben az előfordulás csak 11% volt (177).

A non-organ specifikus autoantitestek prevalenciája vizsgált betegeinkben magasabb volt (56,1%), mint az irodalomban találtak. Ennek magyarázatául szolgálhat a kisebb betegszám, az eltérő életkor és az aktív CD betegek magas aránya. Vizsgálatunkban a legalább egy autoantitestre pozitív betegek 65,6%-ában voltak pozitívak a coeliakia ellenanyagok és a betegség aktivitását mérő TGA koncentráció csökkenésével párhuzamosan az anti-DNS autoantitestek eltűnését tapasztaltuk.

A CD-hez társuló organ- és non-organ specifikus autoantitestek keletkezésére több lehetséges mechanizmus kínálkozik. Az egyik ilyen a molekuláris mimikri, amely során az immunválasz

az autoantigénekkal (TG2) megegyező, vagy azokkal keresztreagáló bakteriális, virális antigénekkal szemben alakul ki (178). Egy másik lehetséges mechanizmus szerint az autoimmun betegségek előrehaladtával egyre több epitóp ellen jelennek meg autoantitestek (epitóp spreading), ami az autoimmun betegség kiterjedését fokozza (179). Ezen kívül a folyamatos gluten bevitel CD fennállása esetén szöveti károsodást eredményez és a növekvő számú szöveti antigének kóros autoimmun folyamatot indítanak el. Ennek bizonyítékául humán calreticulin és zonulin ellenes ellenanyagokat sikerült kimutatni kezeletlen CD betegekben (180).

Számos korábbi tanulmány foglalkozott a glutenmentes diéta és az IDDM, a rheumatoid arthritis, valamint az autoimmun pajzsmirigy betegségek közötti kapcsolattal (181-184). Állatkísérletekben a gluten kizárása az étrendből védelmet jelentett az autoimmun diabetes kifejlődése ellen (185). Humán vonatkozásban azonban az eredmények azt mutatták, hogy a diabeteshez asszociált autoantitestek a gluten expozíciótól függetlenül változnak (186). Ugyanakkor Ventura és mtsai coeliakiás betegekben szignifikánsan gyakoribbnak találta az autoimmun betegségeket, mint egészséges kontroll csoportjukban. Eredményeik alapján CD-ben az autoimmun betegség prevalenciája a gluten expositio időtartamával függött össze, vagyis minél később diagnosztizálták a CD-t, annál gyakoribb volt az egyéb autoimmun betegségek társulása (187). Ezzel ellentétben, Sategna Guidetti és mtsai szerint felnőtt CD betegekben az ún. valószínűsítő gluten expozíció nem volt különböző az autoimmun betegséggel rendelkező és nem rendelkező coeliakiásokban (188).

A különböző nem-szövet specifikus autoantitestek gyakori jelenlétét a CD-vel összefüggő szöveti károsodás általános indikátorának tartjuk, amely glutenmentes diéta alatt fokozatosan eltűnhet. A gyulladás során az apoptotikus sejtek eltávolítása deficiens és ezek kapcsolatba kerülve az immunrendszerrel, autoimmun folyamatot indíthatnak el az általános sejtalkotókkal szemben. A TG2-nek szerepet tulajdonítanak a nem-coeliakia specifikus autoantitestek kifejlődésében is. Huo és mtsai a TG2 aktivitás jelentős fokozódását észlelték az insulin szekretáló sejtek apoptózisa során, ami felveti a TG2 lehetséges pathogenetikai szerepét az IDDM-ben és hozzájárulhat a CD és az IDDM gyakori társulásához (189).

Az autoimmun betegségekre jellemző klinikai tünetek nélkül észlelhető kóros immunológiai lelet önmagában nem jelent autoimmun betegséget, de nem hagyható figyelmen kívül sem, mert felfedhet a CD-vel egyidejűleg létező kóros immunológiai mechanizmust. Mai napig nem létezik egységes ajánlás a klinikailag tünetmentes autoimmun betegség standardizált szűrésére. A coeliakiához társuló autoimmun betegség felismerésének elmaradása vagy késése klinikailag releváns, de másrésztől megelőzhető szövődményekhez vezethet.

Eredményeink alapján szükségesnek tartjuk a CD aktív stádiumában a non-organ specifikus autoantitest vizsgálat elvégzését, azonban ellenőrzött glutenmentes diéta mellett, betegségi tünetek nélkül nem indokolt rendszeres szűrést végezni.

5.4 CMV fertőzés lehetséges betegség provokáló hatásának vizsgálata

A vírus fertőzések szerepét CD-ben eddig több tanulmány vizsgálta. Feltételezések szerint a vírus a molekuláris mimikri révén, vagy az immunregulációra gyakorolt direkt hatásával indítja el az autoimmun folyamatot. A bél lymphoid szövetében replikálódó vírusok (enterovírus, rotavírus) aktiválhatják a lamina propriában lévő makrofágokat, dendritikus és egyéb sejteket és a cytokin környezet megváltoztatásával kedveznek a gluten által indukált autoimmun történéseknek. A vírus infekció hatására termelődő I. és II-es típusú interferonok növelhetik az intestinális permeabilitást és elősegítik a HLA-DQ2 és DQ8 molekulák expresszáldását az APC felszínén (190). A fertőzés által okozott szöveti destrukció során a TG2 fokozott termelődésével is számolni kell, aminek szintén pathogenetikai szerepe lehet a CD indukálásában.

Stene és mtsai prospektív tanulmánya szerint a rotavírus fertőzés genetikailag fogékony fiatal gyermekekben megnövelheti a CD rizikóját (191). Ennek direkt bizonyítékát Zanoni és mtsai szolgáltatották. Aktív CD betegek szérumában egy olyan autoantigén peptidet azonosítottak, amely homológiát mutatott többek között a rotavírus strukturális VP-7 proteinje és a TG2 autoantigénje, valamint a TLR4 között. Az ellene termelődő ellenanyag ELISA és Western blot tesztekben képes volt felismerni a VP-7 fehérjét és keresztreakált a TLR4 molekulával (192). Fenti adatok mellett szól, hogy a rotavírus polyclonalis B-sejt aktivációt okoz, ami azt sugallja, hogy a fertőzésben fontos szerep jut a TLR4-en keresztül az innate immunválasznak (193).

A 12-es típusú adenovírus szaporodási ciklusában képződő korai fehérje, az E1B és az α -gliadin parciális homológ szekvenciákkal rendelkeznek, ami az immunológiai keresztreaktivitás révén szerepet játszhat a CD kialakulásában. Ezt a hipotézist támogatja, hogy Kagnoff és mtsai kezeletlen CD betegek szérumának 89%-ában adenovírus 12 elleni neutralizáló antitesteket talált, ugyanakkor az adenovírus 18 és az echovírus 11 fertőzést nem tudták bizonyítani (194). A perzisztáló adenovírus fertőzés etiológiai szerepe ellen viszont az szól, hogy CD betegek biopsziás mintáiban az E1B vírus protein prevalenciája alacsonynak

bizonyult (195). Carlsson és mtsai sem találtak összefüggést a terhesség alatti enterovírus fertőzés és a 15 évesnél fiatalabb gyermekekben diagnosztizált CD prevalenciája között (196). Saját betegcsoportunkban a CMV esetleges kóroki szerepét vizsgáltuk. A CMV fontos humán kórokozó, az általa okozott betegség a tünetmentes formától az életet veszélyeztető, súlyos generalizált fertőzésig változhat, és a gasztrointesztinális rendszert is érinti. A CMV lehetséges etiológiai szerepét a CD autoimmun mechanizmusában a korábban általunk is észlelt magas anti-DNS antitest pozitivitási arány vetette fel, valamint homológ szekvenciák jelenléte a TG2 N-terminális domain-jében. Emellett Lunardi és munkatársai kimutatták (197), hogy a CMV késői proteinjével keresztreakciót mutathatnak a sclerosis multiplexben szenvedő betegek savóiban lévő antitestek.

A CMV fertőzés során a bélrendszer lumenális infekciója gyakori manifesztáció, leginkább oesophagitis, duodenitis és colitis jelentkezik, amelyekkel elsősorban az immunológiailag károsodott egyéneknél, így AIDS, szervtranszplantáció, immunszuppresszív kezelés esetén kell számolni. Az immunkompetens gyermekek CMV asszociált gasztrointesztinális fertőzése azonban szokatlan megjelenésnek számít. Az irodalomban közölt néhány esetben a CMV fertőzés általában valamilyen gasztrointesztinális alapbetegséggel együtt lépett fel, így tehéntejfehérje allergiával (198), Menetrier betegséggel (199), vagy eosinophil gastroenteritissel (200). Egy 12 hónapos csecsemőben invagináció és intesztinális perforáció járt a CMV enteritissel (201). Intraktábilis hasmenés hátterében is diagnosztizáltak akut CMV infekciót (202, 203).

Az akut fertőzést jelző anti-CMV IgM és IgG pozitivitást vizsgált betegeink 3,7%-ában mutattuk ki. Patra és mtsai egy nyolcéves vizsgálati periódusban 6580 válogatás nélküli endoszkópos, gasztrointesztinális mucosális biopsziás mintát értékelt és 9‰ gyakorisággal találtak CMV pozitivitást a jellegzetes zárványok megléte alapján (204). A pozitív minták közel egyharmada (31,5%) immunkompetens betegekből származott. Az általunk detektált mintegy tízszeres pozitivitást magyarázhatja, hogy minden vizsgált beteg emésztőszervi betegségben szenvedett, a fertőzés kimutatása eltérő módszerrel történt és a minták fiatal gyermekekből származtak. Tu és mtsai a CMV specifikus Th1 immunválasz csökkenését tapasztalták fiatal gyermekekben (205). A felnőttekhez viszonyított eltérés megmagyarázhatja a vírus gyors szóródását és az egyébként immunkompetens betegeknél okozott átmeneti immunszuppressziót, ami sokkal jellemzőbb ebben az életkorban.

A szövettani vizsgálattal igazolt CD betegeknél ritkább volt a korábbi CMV fertőzést jelző IgG pozitivitás, mint a boholyatropiát nem mutató csoportban. Eredményeink nem támasztották alá azt a hipotézist, hogy a CMV fertőzés trigger faktorként szerepelne a CD

immunológiai történéseinek indukálásában. A kontroll csoportban észlelt szignifikánsan gyakoribb, 50%-os IgG és a 7,5%-os IgG/IgM pozitivitás felveti a CMV fertőzés kóroki szerepét az intractábilis hasmenés hátterében, ezért fiatalkori, makacs diarrhoea esetén immunkompetens betegekben is érdemes a szerológiai vizsgálatot elvégezni.

5.5 Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata

A glikozidos kötéssel összekapcsolt, azonos monoszacharid egységekből felépülő glikánok a vörösvértetek, az immunsejtek és a mikroorganizmusok uralkodó sejtfelszíni komponensei. A humorális és celluláris immunrendszer fontos molekulái, mivel szerepet játszanak a sejtek közötti kapcsolat létrejöttében, az innate immunválaszban és az ellenük termelődő antitestek ismerik fel a patogének felszínén lévő szénhidrát komponensekből felépülő antigéneket. Ezek az ellenanyagok az egészséges emberek szérum össz-IgG és IgM koncentrációjának jelentős hányadát képezik, de összefüggésbe hozhatók számos autoimmun betegséggel is (206,207). Ez magyarázza, hogy az anti-glycan antitesteket a gyulladásos és autoimmun betegségek lehetséges biomarkereként tartják számon.

Hasonló megfigyelések születtek a *Saccharomyces cerevisiae* elleni antitestekkel (ASCA) kapcsolatban is. A sütő- és sörélesztőben található *Saccharomyces cerevisiae* sejtfalában lévő oligomannóz struktúra az innate immunrendszer sejtsejtes elemei, a makrofágok mannozreceptorához kötődve TNF- α és egyéb citokinek felszabadulását eredményezi. Elképzelhető tehát, hogy ezek a mikrobiális antigének olyan kóros folyamatot indítanak el, aminek a gasztrointesztinális nyálkahártya károsodása lesz a következménye. Az ASCA kimutatásával eddig elsősorban gyulladásos bélbetegségekben (IBD) szereztek tapasztalatot (208-210). Barta és mtsai 16 CD beteg szérumában vizsgálták az ASCA előfordulását és relatív magas prevalenciát találtak (211).

Vizsgálatunkban a gASCA, AMCA, ACCA és az anti-OMP ellenanyagok prevalenciája szignifikánsan magasabb volt a CD betegekben, mint az egészséges kontrollokban. Ez az eredmény az IBD és a CD közötti hasonlóságra irányítja a figyelmet. Az irodalomban nem található nagy CD beteganyagban anti-glycan ellenanyag vizsgálat, ezért tartjuk fontosnak a megfigyelésünket. A bél epitheliumán áthatoló mikrobiális antigének szisztémás ellenanyag választ indukálnak CD-ben. A betegség kezdetén a 42 beteg közel 70%-a volt pozitív legalább egy vizsgált antitestre, ami a mikrobiális antigénekkal szembeni tolerancia elvesztését tükrözi. Az endogén bélflórával szemben kialakult immunreakciónak szerepe lehet a CD

patogenezisében is. A bél lumenében jelenlévő bakteriális antigének az innate immunrendszer stimulálásával vezetnek a CD4⁺ T-sejtek aktivációjához. Ennek bizonyítékául Forsberg és mtsai a pálcika alakú baktériumok gyakoribb adherenciáját mutatták ki CD betegek jejunális mucosájában az egészséges kontrollokhoz viszonyítva (212). Collado és mtsai is találtak különbséget az egészséges és az aktív CD betegek széklet bakteriológiai vizsgálatakor, ami összefüggésben volt az epidemiológiai adatokkal és a CD-ben talált anyagcsere eltérésekkel (213).

Az antimikrobiális antitestek jelenléte a szérumban a gluten által provokált gyulladás következtében másodlagosan megnőtt intestinális permeabilitással is összefüggésbe hozható, amit az anti-glycan és a coeliakia antitestek együttes jelenléte között megfigyelt kapcsolat is alátámaszt. Betegeinkben a szigorú glutenmentes diéta alatt az anti-glycan ellenanyagok pozitivitása teljesen eltűnt, és minden ellenanyag koncentrációja szignifikánsan csökkent.

A nem-specifikus antitestek széles spektrumát írták eddig le CD-ben. Diagnosztikus értékük eltérő, legtöbbjük összefügg a szöveti károsodás mértékével. A különféle mikrobiális antigénekkal szembeni antitestek klinikai jelentősége CD-ben még kevésbé ismert, diagnosztikus markerként való alkalmazásuk kétséges. Magas titerben való jelenlétük felveti a hosszú ideje fennálló szöveti károsodást, ill. jó diétás compliance mellett CD betegekben az IBD társulását. További klinikai tanulmányok szükségesek a szerológiai vizsgálatok klinikai jelentőségének valódi megismeréséhez.

5.6 ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. A TG2 autoantitestek gyors, helyszíni kimutatása javítja a betegek felismerésének határfokát, valamint lehetővé teszi a családtagok és a populáció minimálisan invazív szűrését. A diétázó CD betegek gyors teszttel végzett ellenőrzése hatással van a diétás fegyelemre és idővesztés nélkül alkalmazható az intervenció.
2. A gluten bevitelnek jelentős negatív szerepe van aktív CD-ben a HBV vakcinációt követő immunválasz kialakulásában. A glutenmentes diétát tartó prospektíven immunizált CD betegekben az egészségesekhez hasonló arányban alakul ki szerokonverzió. A HBV oltás után szeronegatív coeliakiás betegeknél a revakcinációt ellenőrzött glutenmentes diéta alatt ajánlott elvégezni. A HLA-DQ2 hordozás önmagában nem jár a HBV vakcinációra adott elégtelen humorális immunválasszal. A Hp fenotípusok nem befolyásolják az anti-HBs szerokonverziót.

3. A non-organ specifikus autoantitestek magas prevalenciáját igazoltuk CD betegekben. A non-organ specifikus autoantitestek pozitivitása esetén indokolt coeliakia szűrést végezni.
4. A CMV fertőzésnek nincs trigger szerepe a CD kialakulásában. Intractábilis hasmenésben immunkompetens betegekben acut CMV fertőzést igazoltunk.
5. A mikrobiális antigének ellen termelődő antitestek járulékos markerek a CD diagnosztikájában és gluten eliminációjával eltűnnek a keringésből.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az európai populáció legalább 1%-át érintő CD az egyik leggyakoribb autoimmun betegség. Felismerésének fő eszköze a betegségre jellemző szerológiai tesztek alkalmazása. A coeliakia specifikus autoantitestek a TG2 ellen irányulnak. Vizsgálataink során a betegek saját vörösvérsejtjeiben található TG2 felhasználásán alapuló, laboratóriumi felszerelést és jártasságot nem igénylő módszert alkalmaztuk a CD diagnosztikájában. A helyszíni gyorseszteszt segítségével az eredmények gyorsabban állnak a vizsgáló orvos rendelkezésére és a teszt nem orvos egészségügyi személyzet vagy maga a beteg által otthon is elvégezhető. Az ujjbegyből nyert teljes vérrrel végezhető gyorseszteszt a vérmennyiséget és a vérvételi módszert tekintve is kisebb megterheléssel alkalmazható kisgyermekeknél, mint a hagyományos, perifériás vénából történő vérvétel a savóvizsgálatokra. A gyorseszteszttel végzett ellenőrzés és a kóros eredmény alapján végzett intervenció rövidebb időt igényel és csökkenti az egyéb irányú invazív vizsgálatok számát, ugyanakkor javítja a diétás fegyelmet és betegek kezeltségi állapotát, valamint lehetővé teszi a családtagok és a populáció minimálisan invazív szűrését.

A coeliakiára jellemző HLA-DR3:DQ2 haplotípusok befolyásolják a T-lymphocyták aktivációját és gyakorlatilag az immunrendszer cytokin termeléssel összefüggő minden aspektusát. Azt vizsgáltuk, hogy a protein természetű HBsAg-re adott protektív ellenanyag termelésben megnyílvánuló lymphoproliferatív válasz sérül-e coeliakiában. Eredményeink arra utalnak, hogy a HLA-DQ2 hordozás önmagában nem jár a hepatitis B vakcinációra adott elégtelen humorális immunválasszal. Az ellenanyagválasz csökkent volt a még fel nem ismert és ezért még nem kezelt CD betegekben, azonban a prospektíven immunizált, glutenmentes diétát tartókban normális immunválasz alakult ki. A non-responder állapot tehát nem állandó kísérő jelensége a betegségnek, ezért a revakcinációt a gluten eliminációja után érdemes elvégezni. Nem találtunk vizsgálatunkban összefüggést a hepatitis B vakcinációra adott immunválasz és a betegek haptoglobin polimorfizmusa között.

A coeliakiára nem specifikus szerológiai vizsgálatok alkalmazása napjainkban is vitatott. Vizsgálataink során kerestük a non-organ specifikus autoantitestek és az anti-glycan antitestek diagnosztikai értékét és ezek összefüggését a glutenmentes diétával. Az eredményeink azt mutatják, hogy jelenlétük kapcsolatban van a betegség aktivitásával, ami egyrészt a szöveti károsodás, másrészt a mikrobiális antigénnel szembeni tolerancia elvesztésének a következménye. Egyéb autoimmun betegség hiányában ezek a másodlagos antitestek a gluten eliminációjára eltűnnek a keringésből. Más célból végzett vizsgálatuk pozitív eredmény

esetén felveti coeliakia fennállását is, ezért javasolt ilyen esetekben a betegségre specifikus antitestek szűrő vizsgálata. Vizsgáltuk még az anti-CMV ellenanyagok prevalenciáját krónikus hasmenésben, és azt találtuk, hogy jelenlétük nem függött össze a coeliakiával.

Értekezésemben a CD-ben alkalmazható betegségre specifikus és egyéb kiegészítő szerológiai vizsgálatok felhasználásának különböző módjait kívántam bemutatni. Alkalmazásuk segítséget nyújt mind a betegség diagnózisának felállításában, mind a diétás intervenció követésében, valamint a fertőző betegségek elleni prevencióban is. A patomechanizmusban betöltött szerepük további kutatást igényel.

SUMMARY

Celiac disease (CD) which affects at least one percent of the population in Europe is one of the most frequent autoimmune diseases. The main tools for diagnosing the disease are specific serological tests followed by confirmatory small intestinal histology in positive cases. Celiac specific autoantibodies target the enzyme tissue transglutaminase (TG2).

In our studies, we showed that CD can be detected by a rapid method based on the use of TG2 antigen in the patients' own red blood cells, which does not need either laboratory equipment or skills. The CD rapid test enables the doctor to get the results more quickly. Furthermore, it can be done by the patient himself at home. Whole blood fingertip sampling requires less blood and it is less stressful for small children than traditional venous blood sampling for serum examinations. Screening by the onsite rapid test and biopsy intervention following a positive result need less time and diminish the number of other invasive tests. Rapid antibody determinations also improve the dietary compliance and the status of the patients. Family members and the population can also be screened by a minimally invasive method in this way.

HLA-DR3:DQ2 haplotypes that are specific to CD affect the activation of T lymphocytes and practically all aspects of the immune response related to cytokine production. In our study, we examined whether production of protective antibodies to the protein-like HBsAg is diminished in CD. We found that HLA-DR3:DQ2 carriers do not necessarily have insufficient humoral immune response to HBV vaccination. Specific antibody production was lower in undiagnosed and therefore untreated CD patients. However, patients prospectively immunized on a gluten-free diet showed normal immune response. We concluded that the non-responder status is not permanent in CD, so revaccination is indicated after gluten elimination. No

correlation was found between the immune response to the HBV vaccination and haptoglobin polymorphism of the patients.

The use of serological tests that are non-specific to CD has long been disputed. Our study also evaluated the diagnostic value of non-organ specific autoantibodies and anti-glycan antibodies as well as how they are affected by the gluten free diet. We found that their presence depends on the activity of CD. That is partly due to tissue damage and partly to the loss of tolerance to microbial antigens. The above antibodies seem to be secondary, and in the absence of other autoimmune diseases, they disappear from blood when gluten is eliminated. When they are present or found accidentally during other examinations, CD should be suspected, however use of these tests is not sensitive enough to find all CD patients. The prevalence of anti-CMV antibodies was also studied in patients with chronic diarrhoea, but their presence was not found to be related to CD.

The aim of my thesis was to present the different ways how disease specific TG2-targeted antibody tests and other serologic tests can be applied in clinical settings and how are they immunologically interrelated. They are useful to facilitate the diagnosis of CD and the monitoring of the dietary intervention, as well as the prevention of contagious diseases. The role they play in the pathomechanism of CD needs further studies.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Ravikumara M, Nootigattu V, Sandhu B. Ninety percent of celiac disease is being missed. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007; 45: 497-9.
2. Parnell ND, Ciclitira PJ. Review article: coeliac disease and its management. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 1999; 13: 1-13.
3. Bingley PJ, Williams AJ, Norcross AJ, Unsworth DJ, Lock RJ, Ness AR, et al. Undiagnosed coeliac disease at age seven: population based prospective birth cohort study. *BMJ* 2004; 328: 322-3.
4. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho KL, Korponay-Szabo IR, Sarnesto A, et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 1322-8.
5. Ivarsson A, Persson LA, Nystrom L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatrica* 2000; 89: 165-71.
6. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, et al. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA* 2005; 293: 2343-51.
7. Ivarsson A, Hernell O, Nystrom L, Persson LA. Children born in the summer have increased risk for coeliac disease. *Journal of Epidemiology and Community Health* 2003; 57: 36-9.
8. Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Czinner A, Goracz G, Vamos A, Szabo T. High prevalence of silent celiac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1999; 28: 26-30.
9. Dowd B, Walker-Smith J. Samuel Gee, Aretaeus, and the coeliac affection. *British Medical Journal* 1974; 2: 45-7.
10. Dicke WK. Coeliakie. MD Thesis, Utrecht 1950.
11. Dicke WK, Weijers HA, Van DE Kamer JH. Coeliac disease. II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatrica* 1953; 42: 34-42.
12. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature Medicine* 1997; 3: 797-801.

13. Davidson LS, Fountain JR. Incidence of the sprue syndrome; with some observations on the natural history. *British Medical Journal* 1950; 1: 1157-61.
14. Mylotte M, Egan-Mitchell B, McCarthy CF, McNicholl B. Incidence of coeliac disease in the West of Ireland. *British Medical Journal* 1973; 1: 703-5.
15. Logan RF, Rifkind EA, Busuttil A, Gilmour HM, Ferguson A. Prevalence and "incidence" of celiac disease in Edinburgh and the Lothian region of Scotland. *Gastroenterology* 1986; 90: 334-42.
16. van Stirum J, Baerlocher K, Fanconi A, Gugler E, Tonz O, Shmerling DH. The incidence of coeliac disease in children in Switzerland. *Helvetica Paediatrica Acta* 1982; 37: 421-30.
17. Stevens FM, Egan-Mitchell B, Cryan E, McCarthy CF, McNicholl B. Decreasing incidence of coeliac disease. *Archives of Disease in Childhood* 1987; 62: 465-8.
18. Ascher H, Holm K, Kristiansson B, Maki M. Different features of coeliac disease in two neighbouring countries. *Archives of Disease in Childhood* 1993; 69: 375-80.
19. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, Coppa GV, Giorgi PL, Pierdomenico R, et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatrica. Supplement* 1996; 412: 29-35.
20. Grodzinsky E, Franzen L, Hed J, Strom M. High prevalence of celiac disease in healthy adults revealed by antigliadin antibodies. *Annals of Allergy* 1992; 69: 66-70.
21. Fasano A. Where have all the American celiacs gone? *Acta Paediatrica. Supplement* 1996; 412: 20-4.
22. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Archives of Internal Medicine* 2003; 163: 286-92.
23. Johnston SD, Watson RG, McMillan SA, McMaster D, Evans A. Preliminary results from follow-up of a large-scale population survey of antibodies to gliadin, reticulin and endomysium. *Acta Paediatrica. Supplement* 1996; 412: 61-4.
24. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *New England Journal of Medicine* 2007; 357: 1731-43.
25. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *New England Journal of Medicine* 2003; 348: 2517-24.

26. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, et al. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2007; 26: 1217-25.
27. Kolho KL, Farkkila MA, Savilahti E. Undiagnosed coeliac disease is common in Finnish adults. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1998; 33: 1280-3.
28. Csizmadia CG, Mearin ML, von Blomberg BM, Brand R, Verloove-Vanhorick SP. An iceberg of childhood coeliac disease in the Netherlands. *Lancet* 1999; 353: 813-4.
29. West J, Logan RF, Hill PG, Lloyd A, Lewis S, Hubbard R, et al. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut* 2003; 52: 960-5.
30. Tatar G, Elsurur R, Simsek H, Balaban YH, Hascelik G, Ozcebe OI, et al. Screening of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors for celiac disease screening in the Turkish population. *Digestive Diseases and Sciences* 2004; 49: 1479-84.
31. Korponay-Szabo IR, Szabados K, Pusztai J, Uhrin K, Ludmany E, Nemes E, et al. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *BMJ* 2007; 335: 1244-7.
32. Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, Pizarro B, la Motta G, de Barrio S, et al. Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *American Journal of Gastroenterology* 2001; 96: 2700-4.
33. Hovell CJ, Collett JA, Vautier G, Cheng AJ, Sutanto E, Mallon DF, et al. High prevalence of coeliac disease in a population-based study from Western Australia: a case for screening? *Medical Journal of Australia* 2001; 175: 247-50.
34. Shamir R, Lerner A, Shinar E, Lahat N, Sobel E, Bar-or R, et al. The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors. *American Journal of Gastroenterology* 2002; 97: 2589-94.
35. Pratesi R, Gandolfi L, Garcia SG, Modelli IC, Lopes de Almeida P, Bocca AL, et al. Prevalence of coeliac disease: unexplained age-related variation in the same population. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2003; 38: 747-50.
36. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002; 50: 624-8.

37. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Human Immunology* 2003; 64: 469-77.
38. Kaukinen K, Partanen J, Maki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *American Journal of Gastroenterology* 2002; 97: 695-9.
39. Quarsten H, McAdam SN, Jensen T, Arentz-Hansen H, Molberg O, Lundin KE, et al. Staining of celiac disease-relevant T cells by peptide-DQ2 multimers. *Journal of Immunology* 2001; 167: 4861-8.
40. Risch N. Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *American Journal of Human Genetics* 1987; 40: 1-14.
41. Louka AS, Sollid LM. HLA in coeliac disease: unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens* 2003; 61: 105-17.
42. van Heel DA, Hunt K, Greco L, Wijmenga C. Genetics in coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 323-39.
43. Zhernakova A, Alizadeh BZ, Bevova M, van Leeuwen MA, Coenen MJ, Franke B, et al. Novel association in chromosome 4q27 region with rheumatoid arthritis and confirmation of type 1 diabetes point to a general risk locus for autoimmune diseases. *American Journal of Human Genetics* 2007; 81: 1284-8.
44. Dewar D, Pereira SP, Ciclitira PJ. The pathogenesis of coeliac disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2004; 36: 17-24.
45. Vader LW, Stepniak DT, Bunnik EM, Kooy YM, de Haan W, Drijfhout JW, et al. Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains. *Gastroenterology* 2003; 125: 1105-13.
46. Shan L, Qiao SW, Arentz-Hansen H, Molberg O, Gray GM, Sollid LM, et al. Identification and analysis of multivalent proteolytically resistant peptides from gluten: implications for celiac sprue. *J Proteome Res* 2005; 4: 1732-41.
47. Fesus L, Piacentini M. Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. *Trends in Biochemical Sciences* 2002; 27: 534-9.
48. Vader LW, de Ru A, van der Wal Y, Kooy YM, Benckhuijsen W, Mearin ML, et al. Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease. *Journal of Experimental Medicine* 2002; 195: 643-9.

49. Sardy M, Karpati S, Merkl B, Paulsson M, Smyth N. Epidermal transglutaminase (TGase 3) is the autoantigen of dermatitis herpetiformis. *Journal of Experimental Medicine* 2002; 195: 747-57.
50. Kim CY, Quarsten H, Bergseng E, Khosla C, Sollid LM. Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004; 101: 4175-9.
51. Fleckenstein B, Molberg O, Qiao SW, Schmid DG, von der Mulbe F, Elgstoen K, et al. Gliadin T cell epitope selection by tissue transglutaminase in celiac disease. Role of enzyme specificity and pH influence on the transamidation versus deamidation process. *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277: 34109-16.
52. Korponay-Szabó IR, Vecsei Z, Király R, Dahlbom I, Chirido F, Nemes É, et al. Deamidated gliadin peptides form epitopes that transglutaminase antibodies recognize. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2008; 46: 1-9.
53. Sollid LM, Molberg O, McAdam S, Lundin KE. Autoantibodies in coeliac disease: tissue transglutaminase--guilt by association? *Gut* 1997; 41: 851-2.
54. Pinkas DM, Strop P, Brunger AT, Khosla C. Transglutaminase 2 undergoes a large conformational change upon activation. *PLoS Biol* 2007; 5: e327.
55. Dieterich W, Trapp D, Esslinger B, Leidenberger M, Piper J, Hahn E, et al. Autoantibodies of patients with coeliac disease are insufficient to block tissue transglutaminase activity. *Gut* 2003; 52: 1562-6.
56. Kiraly R, Vecsei Z, Demenyi T, Korponay-Szabo IR, Fesus L. Coeliac autoantibodies can enhance transamidating and inhibit GTPase activity of tissue transglutaminase: dependence on reaction environment and enzyme fitness. *Journal of Autoimmunity* 2006; 26: 278-87.
57. Salmi TT, Collin P, Jarvinen O, Haimila K, Partanen J, Laurila K, et al. Immunoglobulin A autoantibodies against transglutaminase 2 in the small intestinal mucosa predict forthcoming coeliac disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2006; 24: 541-52.
58. Halttunen T, Maki M. Serum immunoglobulin A from patients with celiac disease inhibits human T84 intestinal crypt epithelial cell differentiation. *Gastroenterology* 1999; 116: 566-72.
59. Barone MV, Caputo I, Ribecco MT, Maglio M, Marzari R, Sblattero D, et al. Humoral immune response to tissue transglutaminase is related to epithelial cell proliferation in celiac disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 1245-53.

60. Daum S, Bauer U, Foss HD, Schuppan D, Stein H, Riecken EO, et al. Increased expression of mRNA for matrix metalloproteinases-1 and -3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in intestinal biopsy specimens from patients with coeliac disease. *Gut* 1999; 44: 17-25.
61. Fina D, Sarra M, Caruso R, Del Vecchio Blanco G, Pallone F, Macdonald TT, et al. Interleukin-21 Contributes To The Mucosal T Helper Cell Type 1 Response In Celiac Disease. *Gut* 2007.
62. Kagnoff MF. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *Journal of Clinical Investigation* 2007; 117: 41-9.
63. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR, et al. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut* 2003; 52: 218-23.
64. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Grazia Clemente M, Tripathi A, Sapone A, et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2006; 41: 408-19.
65. Thomas KE, Sapone A, Fasano A, Vogel SN. Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in Celiac disease. *Journal of Immunology* 2006; 176: 2512-21.
66. Sollid LM, Gray GM. A role for bacteria in celiac disease? *American Journal of Gastroenterology* 2004; 99: 905-6.
67. Szebeni B, Veres G, Dezsofi A, Rusai K, Vannay A, Bokodi G, et al. Increased mucosal expression of Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in coeliac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007; 45: 187-93.
68. Stepniak D, Koning F. Celiac disease--sandwiched between innate and adaptive immunity. *Human Immunology* 2006; 67: 460-8.
69. Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J, et al. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity* 2004; 21: 367-77.
70. Lo W, Sano K, Lebowhl B, Diamond B, Green PH. Changing presentation of adult celiac disease. *Digestive Diseases and Sciences* 2003; 48: 395-8.
71. Fasano A. Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology* 2005; 128: S68-73.

72. Vasquez H, Mazure R, Gonzalez D, Flores D, Pedreira S, Niveloni S, et al. Risk of fractures in celiac disease patients: a cross-sectional, case-control study. *American Journal of Gastroenterology* 2000; 95: 183-9.
73. Jones S, D'Souza C, Haboubi NY. Patterns of clinical presentation of adult coeliac disease in a rural setting. *Nutr J* 2006; 5: 24.
74. Molteni N, Bardella MT, Bianchi PA. Obstetric and gynecological problems in women with untreated celiac sprue. *Journal of Clinical Gastroenterology* 1990; 12: 37-9.
75. Volta U, De Franceschi L, Lari F, Molinaro N, Zoli M, Bianchi FB. Coeliac disease hidden by cryptogenic hypertransaminasaemia. *Lancet* 1998; 352: 26-9.
76. Rubio-Tapia A, Murray JA. The liver in celiac disease. *Hepatology* 2007; 46: 1650-8.
77. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Chattopadhyay AK, Davies-Jones GA, Gibson A, Jarratt JA, et al. Clinical, radiological, neurophysiological, and neuropathological characteristics of gluten ataxia. *Lancet* 1998; 352: 1582-5.
78. Primignani M, Agape D, Ronchi G, Falsitta M, Cipolla M, Vecchi M, et al. Prevalence of duodenal and jejunal lesions in dermatitis herpetiformis. *Ricerca in Clinica e in Laboratorio* 1987; 17: 243-9.
79. Baker BS, Garioch JJ, Bokth S, Leonard J, Fry L. Absence of gluten-specific T lymphocytes in the skin of patients with dermatitis herpetiformis. *Journal of Autoimmunity* 1995; 8: 75-82.
80. Duggan JM. Coeliac disease: the great imitator. *Medical Journal of Australia* 2004; 180: 524-6.
81. Abdulkarim AS, Murray JA. Review article: The diagnosis of coeliac disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2003; 17: 987-95.
82. Arato A, Korner A, Veres G, Dezsofi A, Ujpal I, Madacsy L. Frequency of coeliac disease in Hungarian children with type 1 diabetes mellitus. *European Journal of Pediatrics* 2003; 162: 1-5.
83. Guariso G, Conte S, Presotto F, Basso D, Brotto F, Visona Dalla Pozza L, et al. Clinical, subclinical and potential autoimmune diseases in an Italian population of children with coeliac disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2007; 26: 1409-17.
84. George EK, Mearin ML, Bouquet J, von Blomberg BM, Stapel SO, van Elburg RM, et al. Screening for coeliac disease in Dutch children with associated diseases. *Acta Paediatrica. Supplement* 1996; 412: 52-3.

85. Sciberras C, Vella C, Grech V. The prevalence of coeliac disease in Down's syndrome in Malta. *Annals of Tropical Paediatrics* 2004; 24: 81-3.
86. Ventura A, Bouquet F, Sartorelli C, Barbi E, Torre G, Tommasini G. Coeliac disease, folic acid deficiency and epilepsy with cerebral calcifications. *Acta Paediatrica Scandinavica* 1991; 80: 559-62.
87. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2005; 40: 1-19.
88. Korponay-Szabo I, Kovacs JB, Lorincz M, Sashegyi J. Endomysial antibodies in children with celiac disease: a specific serological marker of small intestine villous atrophy caused by gluten intolerance. *Orvosi Hetilap* 1991; 132: 929-31.
89. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) and "Club del Tenue" Working Groups on Coeliac Disease. *Gut* 1998; 42: 362-5.
90. Korponay-Szabo IR, Dahlbom I, Laurila K, Koskinen S, Woolley N, Partanen J, et al. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. *Gut* 2003; 52: 1567-71.
91. Maki M, Hallstrom O, Vesikari T, Visakorpi JK. Evaluation of a serum IgA-class reticulin antibody test for the detection of childhood celiac disease. *Journal of Pediatrics* 1984; 105: 901-5.
92. Korponay-Szabo IR, Raivio T, Laurila K, Opre J, Kiraly R, Kovacs JB, et al. Coeliac disease case finding and diet monitoring by point-of-care testing. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2005; 22: 729-37.
93. Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, Laurila K, Collin P, Kovacs JB, et al. Self transglutaminase-based rapid coeliac disease antibody detection by a lateral flow method. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2006; 24: 147-54.
94. Raivio T, Korponay-Szabo I, Collin P, Laurila K, Huhtala H, Kaartinen T, et al. Performance of a new rapid whole blood coeliac test in adult patients with low prevalence of endomysial antibodies. *Dig Liver Dis* 2007.

95. Kaukinen K, Turjanmaa K, Maki M, Partanen J, Venalainen R, Reunala T, et al. Intolerance to cereals is not specific for coeliac disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2000; 35: 942-6.
96. Schwertz E, Kahlenberg F, Sack U, Richter T, Stern M, Conrad K, et al. Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. *Clinical Chemistry* 2004; 50: 2370-5.
97. Kaukinen K, Collin P, Laurila K, Kaartinen T, Partanen J, Maki M. Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2007; 1-6.
98. Meijer JW, Wahab PJ, Mulder CJ. Small intestinal biopsies in celiac disease: duodenal or jejunal? *Virchows Archiv* 2003; 442: 124-8.
99. Leigh RJ, Marsh MN, Crowe P, Kelly C, Garner V, Gordon D. Studies of intestinal lymphoid tissue. IX. Dose-dependent, gluten-induced lymphoid infiltration of coeliac jejunal epithelium. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1985; 20: 715-9.
100. Chang F, Mahadeva U, Deere H. Pathological and clinical significance of increased intraepithelial lymphocytes (IELs) in small bowel mucosa. *APMIS* 2005; 113: 385-99.
101. Oberhuber G, Vogelsang H, Stolte M, Muthenthaler S, Kummer AJ, Radaszkiewicz T. Evidence that intestinal intraepithelial lymphocytes are activated cytotoxic T cells in celiac disease but not in giardiasis. *American Journal of Pathology* 1996; 148: 1351-7.
102. Takahashi M, Ota S, Terano A, Yoshiura K, Matsumura M, Niwa Y, et al. Hepatocyte growth factor induces mitogenic reaction to the rabbit gastric epithelial cells in primary culture. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1993; 191: 528-34.
103. Boismenu R, Havran WL. Modulation of epithelial cell growth by intraepithelial gamma delta T cells. *Science* 1994; 266: 1253-5.
104. Kapitany A, Toth L, Tumpek J, Csipo I, Sipos E, Woolley N, et al. Diagnostic significance of HLA-DQ typing in patients with previous coeliac disease diagnosis based on histology alone. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2006; 24: 1395-402.
105. Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, Moester M, de Ru A, Baak-Pablo R, et al. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G621-9.

106. Kapoerchan VV, Wiesner M, Overhand M, van der Marel GA, Koning F, Overkleeft HS. Design of azidoproline containing gluten peptides to suppress CD4(+) T-cell responses associated with Celiac disease. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 2007.
107. O'Mahony S, Howdle PD, Losowsky MS. Review article: management of patients with non-responsive coeliac disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 1996; 10: 671-80.
108. Howdle PD, Jalal PK, Holmes GK, Houlston RS. Primary small-bowel malignancy in the UK and its association with coeliac disease. *QJM* 2003; 96: 345-53.
109. Green PH, Fleischauer AT, Bhagat G, Goyal R, Jabri B, Neugut AI. Risk of malignancy in patients with celiac disease. *American Journal of Medicine* 2003; 115: 191-5.
110. West J, Logan RF, Smith CJ, Hubbard RB, Card TR. Malignancy and mortality in people with coeliac disease: population based cohort study. *BMJ* 2004; 329: 716-9.
111. Corazza GR, Zoli G, Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Gasbarrini G. A reassessment of splenic hypofunction in celiac disease. *American Journal of Gastroenterology* 1999; 94: 391-7.
112. Di Sabatino A, Rosado MM, Cazzola P, Riboni R, Biagi F, Carsetti R, et al. Splenic hypofunction and the spectrum of autoimmune and malignant complications in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 179-86.
113. Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 395-403.
114. Kane M. Global programme for control of hepatitis B infection. *Vaccine* 1995; 13 Suppl 1: S47-9.
115. Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection. *Int J Med Sci* 2005; 2: 50-57.
116. Greenberg DP. Pediatric experience with recombinant hepatitis B vaccines and relevant safety and immunogenicity studies. *Pediatric Infectious Disease Journal* 1993; 12: 438-45.
117. Dentico P, Buongiorno R, Volpe A, Zavoianni A, Pastore G, Schiraldi O. Long-term immunogenicity safety and efficacy of a recombinant hepatitis B vaccine in healthy adults. *European Journal of Epidemiology* 1992; 8: 650-5.
118. Dienstag JL, Werner BG, Polk BF, Snyderman DR, Craven DE, Platt R, et al. Hepatitis B vaccine in health care personnel: safety, immunogenicity, and indicators of efficacy. *Annals of Internal Medicine* 1984; 101: 34-40.

119. Andre FE. Summary of safety and efficacy data on a yeast-derived hepatitis B vaccine. *American Journal of Medicine* 1989; 87: 14S-20S.
120. Greenberg DP, Vadheim CM, Marcy SM, Partridge S, Jing J, Chiu CY, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine administered to infants at 2, 4 and 6 months of age. The Kaiser-UCLA Vaccine Study Group. *Vaccine* 1996; 14: 811-6.
121. Alper CA. The human immune response to hepatitis B surface antigen. *Experimental and Clinical Immunogenetics* 1995; 12: 171-81.
122. Coates T, Wilson R, Patrick G, Andre F, Watson V. Hepatitis B vaccines: assessment of the seroprotective efficacy of two recombinant DNA vaccines. *Clinical Therapeutics* 2001; 23: 392-403.
123. Wood RC, MacDonald KL, White KE, Hedberg CW, Hanson M, Osterholm MT. Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. *JAMA* 1993; 270: 2935-9.
124. Shouval D. Is universal vaccination against hepatitis B sufficient for control of HBV infection? Lessons from the immunization campaign in Italy. *Journal of Hepatology* 2000; 33: 1009-11.
125. Fisman DN, Agrawal D, Leder K. The effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases* 2002; 35: 1368-75.
126. Wang C, Tang J, Song W, Lobashevsky E, Wilson CM, Kaslow RA. HLA and cytokine gene polymorphisms are independently associated with responses to hepatitis B vaccination. *Hepatology* 2004; 39: 978-88.
127. Wang LY, Lin HH. Ethnicity, substance use, and response to booster hepatitis B vaccination in anti-HBs-seronegative adolescents who had received primary infantile vaccination. *Journal of Hepatology* 2007; 46: 1018-25.
128. Belloni C, Avanzini MA, De Silvestri A, Martinetti M, Pasi A, Coslovich E, et al. No evidence of autoimmunity in 6-year-old children immunized at birth with recombinant hepatitis B vaccine. *Pediatrics* 2002; 110: e4.
129. Desombere I, Willems A, Leroux-Roels G. Response to hepatitis B vaccine: multiple HLA genes are involved. *Tissue Antigens* 1998; 51: 593-604.
130. Durupinar B, Okten G. HLA tissue types in nonresponders to hepatitis B vaccine. *Indian Journal of Pediatrics* 1996; 63: 369-73.

131. McDermott AB, Zuckerman JN, Sabin CA, Marsh SG, Madrigal JA. Contribution of human leukocyte antigens to the antibody response to hepatitis B vaccination. *Tissue Antigens* 1997; 50: 8-14.
132. Martinetti M, De Silvestri A, Belloni C, Pasi A, Tinelli C, Pistorio A, et al. Humoral response to recombinant hepatitis B virus vaccine at birth: role of HLA and beyond. *Clinical Immunology* 2000; 97: 234-40.
133. Godkin A, Davenport M, Hill AV. Molecular analysis of HLA class II associations with hepatitis B virus clearance and vaccine nonresponsiveness. *Hepatology* 2005; 41: 1383-90.
134. Noh KW, Poland GA, Murray JA. Hepatitis B vaccine nonresponse and celiac disease. *American Journal of Gastroenterology* 2003; 98: 2289-92.
135. Park SD, Markowitz J, Pettei M, Weinstein T, Sison CP, Swiss SR, et al. Failure to respond to hepatitis B vaccine in children with celiac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007; 44: 431-5.
136. Cid MC, Grant DS, Hoffman GS, Auerbach R, Fauci AS, Kleinman HK. Identification of haptoglobin as an angiogenic factor in sera from patients with systemic vasculitis. *Journal of Clinical Investigation* 1993; 91: 977-85.
137. Langlois MR, Delanghe JR. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans. *Clinical Chemistry* 1996; 42: 1589-600.
138. Carter K, Worwood M. Haptoglobin: a review of the major allele frequencies worldwide and their association with diseases. *Int J Lab Hematol* 2007; 29: 92-110.
139. Arredouani M, Matthijs P, Van Hoeyveld E, Kasran A, Baumann H, Ceuppens JL, et al. Haptoglobin directly affects T cells and suppresses T helper cell type 2 cytokine release. *Immunology* 2003; 108: 144-51.
140. Moestrup SK, Moller HJ. CD163: a regulated hemoglobin scavenger receptor with a role in the anti-inflammatory response. *Annals of Medicine* 2004; 36: 347-54.
141. Buechler C, Ritter M, Orso E, Langmann T, Klucken J, Schmitz G. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes and macrophages by pro- and antiinflammatory stimuli. *Journal of Leukocyte Biology* 2000; 67: 97-103.
142. Guetta J, Strauss M, Levy NS, Fahoum L, Levy AP. Haptoglobin genotype modulates the balance of Th1/Th2 cytokines produced by macrophages exposed to free hemoglobin. *Atherosclerosis* 2007; 191: 48-53.

143. Cassidy WM, Watson B, Ioli VA, Williams K, Bird S, West DJ. A randomized trial of alternative two- and three-dose hepatitis B vaccination regimens in adolescents: antibody responses, safety, and immunologic memory. *Pediatrics* 2001; 107: 626-31.
144. Ambrus A, Banyai I, Weiss MS, Hilgenfeld R, Keresztessy Z, Muszbek L, et al. Calcium binding of transglutaminases: a ⁴³Ca NMR study combined with surface polarity analysis. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 2001; 19: 59-74.
145. Korponay-Szabó I, Raivio T, Nemes É, B. Kovács J, Laurila K, Kaukinen K, et al. Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard gyorstesztel. *Gyermekgyógyászat* 2006; 57: 351-7.
146. Papp M, Lakatos PL, Palatka K, Foldi I, Udvardy M, Harsfalvi J, et al. Haptoglobin polymorphisms are associated with Crohn's disease, disease behavior, and extraintestinal manifestations in Hungarian patients. *Digestive Diseases and Sciences* 2007; 52: 1279-84.
147. Papp M, Foldi I, Nemes E, Udvardy M, Harsfalvi J, Altörjay I, et al. Haptoglobin Polymorphism: A Novel Genetic Risk Factor for Celiac Disease Development and Its Clinical Manifestations. *Clinical Chemistry* 2008.
148. Nigro G, Adler SP, La Torre R, Best AM. Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *New England Journal of Medicine* 2005; 353: 1350-62.
149. Burgin-Wolff A, Dahlbom I, Hadziselimovic F, Petersson CJ. Antibodies against human tissue transglutaminase and endomysium in diagnosing and monitoring coeliac disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2002; 37: 685-91.
150. Tumpek J, Korponay-Szabó I, Király R, Csípő I, Fésüs L, Sipka S. A coeliakiás ellenanyagok epitópspecificitásának jelentősége a transzglutamináz autoantitestek diagnosztikus kimutatásában. *Gyermekgyógyászat* 2004; 55: 453-459.
151. McCrae WM, Eastwood MA, Martin MR, Sircus W. Neglected coeliac disease. *Lancet* 1975; 1: 187-90.
152. Sanders DS, Patel D, Stephenson TJ, Ward AM, McCloskey EV, Hadjivassiliou M, et al. A primary care cross-sectional study of undiagnosed adult coeliac disease. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2003; 15: 407-13.
153. van Heel DA, West J. Recent advances in coeliac disease. *Gut* 2006; 55: 1037-46.
154. Salazar M, Deulofeut H, Granja C, Deulofeut R, Yunis DE, Marcus-Bagley D, et al. Normal HBsAg presentation and T-cell defect in the immune response of nonresponders. *Immunogenetics* 1995; 41: 366-74.

155. Desombere I, Cao T, Gijbels Y, Leroux-Roels G. Non-responsiveness to hepatitis B surface antigen vaccines is not caused by defective antigen presentation or a lack of B7 co-stimulation. *Clinical and Experimental Immunology* 2005; 140: 126-37.
156. Kruskall MS, Alper CA, Awdeh Z, Yunis EJ, Marcus-Bagley D. The immune response to hepatitis B vaccine in humans: inheritance patterns in families. *Journal of Experimental Medicine* 1992; 175: 495-502.
157. Egea E, Iglesias A, Salazar M, Morimoto C, Kruskall MS, Awdeh Z, et al. The cellular basis for lack of antibody response to hepatitis B vaccine in humans. *Journal of Experimental Medicine* 1991; 173: 531-8.
158. Desombere I, Gijbels Y, Verwulgen A, Leroux-Roels G. Characterization of the T cell recognition of hepatitis B surface antigen (HBsAg) by good and poor responders to hepatitis B vaccines. *Clinical and Experimental Immunology* 2000; 122: 390-9.
159. Chedid MG, Deulofeut H, Yunis DE, Lara-Marquez ML, Salazar M, Deulofeut R, et al. Defect in Th1-like cells of nonresponders to hepatitis B vaccine. *Human Immunology* 1997; 58: 42-51.
160. Vingerhoets J, Vanham G, Kestens L, Penne G, Leroux-Roels G, Gigase P. Deficient T-cell responses in non-responders to hepatitis B vaccination: absence of TH1 cytokine production. *Immunology Letters* 1994; 39: 163-8.
161. Kardar GA, Jeddi-Tehrani M, Shokri F. Diminished Th1 and Th2 cytokine production in healthy adult nonresponders to recombinant hepatitis B vaccine. *Scandinavian Journal of Immunology* 2002; 55: 311-4.
162. Jafarzadeh A, Shokri F. The antibody response to HBs antigen is regulated by coordinated Th1 and Th2 cytokine production in healthy neonates. *Clinical and Experimental Immunology* 2003; 131: 451-6.
163. Goncalves L, Albarran B, Salmen S, Borges L, Fields H, Montes H, et al. The nonresponse to hepatitis B vaccination is associated with impaired lymphocyte activation. *Virology* 2004; 326: 20-8.
164. Avanzini MA, Belloni C, Soncini R, Ciardelli L, de Silvestri A, Pistorio A, et al. Increment of recombinant hepatitis B surface antigen-specific T-cell precursors after revaccination of slow responder children. *Vaccine* 2001; 19: 2819-24.
165. Rusvai E, Brojnás J, Takács M, Berencsi Gy. Hepatitis B serologic markers in immunized babies born to hepatitis B surface antigen positive mothers. *Acta Microbiol and Immunol Hung* 2006; 53: 335.

166. Jafarzadeh A, Montazerifar SJ. Persistence of anti-HBs antibody and immunological memory in children vaccinated with hepatitis B vaccine at birth. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2006; 18: 4-9.
167. Zanetti AR, Mariano A, Romano L, D'Amelio R, Chironna M, Coppola RC, et al. Long-term immunogenicity of hepatitis B vaccination and policy for booster: an Italian multicentre study. *Lancet* 2005; 366: 1379-84.
168. Ni YH, Ho MC, Lu CY, Chen HL, Hu RH, Chang MH, et al. Immune response to booster hepatitis B vaccines after liver transplantation in children who received primary immunoprophylaxis in infancy. 40th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, 2007; <http://www.espgan2007.org>.
169. Nevo SS, Sutton HE. Association between response to typhoid vaccination and known genetic markers. *American Journal of Human Genetics* 1968; 20: 461-9.
170. Louagie H, Delanghe J, Desombere I, De Buyzere M, Hauser P, Leroux-Roels G. Haptoglobin polymorphism and the immune response after hepatitis B vaccination. *Vaccine* 1993; 11: 1188-90.
171. Vetvicka V, Tlaskalova-Hogenova H, Fric P, Brochier J. Subpopulations of circulating lymphocytes in adults with coeliac disease. *Immunology Letters* 1986; 13: 15-8.
172. Arato A, Tainio VM, Savilahti E. Lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of children with coeliac disease. *Acta Paediatrica Hungarica* 1988-1989; 29: 281-7.
173. Di Sabatino A, Bertrandi E, Casadei Maldini M, Pennese F, Proietti F, Corazza GR. Phenotyping of peripheral blood lymphocytes in adult coeliac disease. *Immunology* 1998; 95: 572-6.
174. Di Sabatino A, D'Alo S, Millimaggi D, Ciccocioppo R, Parroni R, Sciarra G, et al. Apoptosis and peripheral blood lymphocyte depletion in coeliac disease. *Immunology* 2001; 103: 435-40.
175. Lerner A, Blank M, Lahat N, Shoenfeld Y. Increased prevalence of autoantibodies in celiac disease. *Digestive Diseases and Sciences* 1998; 43: 723-6.
176. da Rosa Utiyama SR, da Silva Kotze LM, Nisihara RM, Carvalho RF, de Carvalho EG, de Sena MG, et al. Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. *Digestive Diseases and Sciences* 2001; 46: 2624-30.

177. Volta U, De Franceschi L, Molinaro N, Tetta C, Bianchi FB. Organ-specific autoantibodies in coeliac disease: do they represent an epiphenomenon or the expression of associated autoimmune disorders? *Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1997; 29: 18-21.
178. Shaoul R, Lerner A. Associated autoantibodies in celiac disease. *Autoimmun Rev* 2007; 6: 559-65.
179. Martucci S, Corazza GR. Spreading and focusing of gluten epitopes in celiac disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 2072-5.
180. Clemente MG, Musu MP, Frau F, Brusco G, Sole G, Corazza GR, et al. Immune reaction against the cytoskeleton in coeliac disease. *Gut* 2000; 47: 520-6.
181. Fuchtenbusch M, Ziegler AG, Hummel M. Elimination of dietary gluten and development of type 1 diabetes in high risk subjects. *Rev Diabet Stud* 2004; 1: 39-41.
182. Hafstrom I, Ringertz B, Spangberg A, von Zweigbergk L, Brannemark S, Nylander I, et al. A vegan diet free of gluten improves the signs and symptoms of rheumatoid arthritis: the effects on arthritis correlate with a reduction in antibodies to food antigens. *Rheumatology* 2001; 40: 1175-9.
183. Pastore MR, Bazzigaluppi E, Belloni C, Arcovio C, Bonifacio E, Bosi E. Six months of gluten-free diet do not influence autoantibody titers, but improve insulin secretion in subjects at high risk for type 1 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; 88: 162-5.
184. Ventura A, Neri E, Ughi C, Leopaldi A, Citta A, Not T. Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *Journal of Pediatrics* 2000; 137: 263-5.
185. Funda DP, Kaas A, Bock T, Tlaskalova-Hogenova H, Buschard K. Gluten-free diet prevents diabetes in NOD mice. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 1999; 15: 323-7.
186. Hummel M, Bonifacio E, Naserke HE, Ziegler AG. Elimination of dietary gluten does not reduce titers of type 1 diabetes-associated autoantibodies in high-risk subjects. *Diabetes Care* 2002; 25: 1111-6.
187. Ventura A, Magazzu G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 297-303.

188. Sategna Guidetti C, Solerio E, Scaglione N, Aimo G, Mengozzi G. Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. *Gut* 2001; 49: 502-5.
189. Huo J, Metz SA, Li G. Role of tissue transglutaminase in GTP depletion-induced apoptosis of insulin-secreting (HIT-T15) cells. *Biochemical Pharmacology* 2003; 66: 213-23.
190. Monteleone G, Pender SL, Wathen NC, MacDonald TT. Interferon-alpha drives T cell-mediated immunopathology in the intestine. *European Journal of Immunology* 2001; 31: 2247-55.
191. Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, Haas JE, Sokol RJ, Emery L, et al. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *American Journal of Gastroenterology* 2006; 101: 2333-40.
192. Zanoni G, Navone R, Lunardi C, Tridente G, Bason C, Sivori S, et al. In celiac disease, a subset of autoantibodies against transglutaminase binds toll-like receptor 4 and induces activation of monocytes. *PLoS Med* 2006; 3: e358.
193. Blutt SE, Crawford SE, Warfield KL, Lewis DE, Estes MK, Conner ME. The VP7 outer capsid protein of rotavirus induces polyclonal B-cell activation. *Journal of Virology* 2004; 78: 6974-81.
194. Kagnoff MF, Paterson YJ, Kumar PJ, Kasarda DD, Carbone FR, Unsworth DJ, et al. Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. *Gut* 1987; 28: 995-1001.
195. Mahon J, Blair GE, Wood GM, Scott BB, Losowsky MS, Howdle PD. Is persistent adenovirus 12 infection involved in coeliac disease? A search for viral DNA using the polymerase chain reaction. *Gut* 1991; 32: 1114-6.
196. Carlsson AK, Lindberg BA, Bredberg AC, Hyoty H, Ivarsson SA. Enterovirus infection during pregnancy is not a risk factor for celiac disease in the offspring. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2002; 35: 649-52.
197. Lunardi C, Bason C, Navone R, Millo E, Damonte G, Corrocher R, et al. Systemic sclerosis immunoglobulin G autoantibodies bind the human cytomegalovirus late protein UL94 and induce apoptosis in human endothelial cells. *Nature Medicine* 2000; 6: 1183-6.

198. Jonkhoff-Slok TW, Veenhoven RH, de Graeff-Meeder ER, Buller HA. An immunocompetent infant with cow's milk allergy and cytomegalovirus colitis. *European Journal of Pediatrics* 1997; 156: 528-9.
199. Eisenstat DD, Griffiths AM, Cutz E, Petric M, Drumm B. Acute cytomegalovirus infection in a child with Menetrier's disease. *Gastroenterology* 1995; 109: 592-5.
200. Takeyama J, Abukawa D, Miura K. Eosinophilic gastroenteritis with cytomegalovirus infection in an immunocompetent child. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4653-4.
201. Zupancic JA, Pennie RA, Issenman R. Intussusception in a child with cytomegalovirus infection. *Pediatric Infectious Disease Journal* 1994; 13: 548-9.
202. Fox LM, Gerber MA, Penix L, Ricci A Jr, Hyams JS. Intractable diarrhea from cytomegalovirus enterocolitis in an immunocompetent infant. *Pediatrics* 1999; 103: E10.
203. Shimizu M, Ohta K, Wada H, Sumita R, Yachie A, Koizumi S. Cytomegalovirus-associated protracted diarrhoea in an immunocompetent boy. *Journal of Paediatrics and Child Health* 2006; 42: 259-62.
204. Patra S, Samal SC, Chacko A, Mathan VI, Mathan MM. Cytomegalovirus infection of the human gastrointestinal tract. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1999; 14: 973-6.
205. Tu W, Chen S, Sharp M, Dekker C, Manganello AM, Tongson EC, et al. Persistent and selective deficiency of CD4+ T cell immunity to cytomegalovirus in immunocompetent young children. *Journal of Immunology* 2004; 172: 3260-7.
206. McMorrow IM, Comrack CA, Sachs DH, DerSimonian H. Heterogeneity of human anti-pig natural antibodies cross-reactive with the Gal(alpha1,3)Galactose epitope. *Transplantation* 1997; 64: 501-10.
207. Dotan N, Altstock RT, Schwarz M, Dukler A. Anti-glycan antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis. *Lupus* 2006; 15: 442-50.
208. Papp M, Altorjay I, Norman GL, Shums Z, Palatka K, Vitalis Z, et al. Seroreactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, noninflammatory disease behavior and NOD2/CARD15 genotype, but not with risk for surgery in a Hungarian cohort of IBD patients. *Inflammatory Bowel Diseases* 2007; 13: 984-92.

209. Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW, et al. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *American Journal of Gastroenterology* 2006; 101: 2410-22.
210. Gupta A, Derbes C, Sellin J. Clinical indications of the use of antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in the evaluation of inflammatory bowel disease at an Academic Medical Center. *Inflammatory Bowel Diseases* 2005; 11: 898-902.
211. Barta Z, Csipo I, Szabo GG, Szegedi G. Seroreactivity against Saccharomyces cerevisiae in patients with Crohn's disease and celiac disease. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2308-12.
212. Forsberg G, Fahlgren A, Horstedt P, Hammarstrom S, Hernell O, Hammarstrom ML. Presence of bacteria and innate immunity of intestinal epithelium in childhood celiac disease. *American Journal of Gastroenterology* 2004; 99: 894-904.
213. Collado MC, Calabuig M, Sanz Y. Differences between the fecal microbiota of coeliac infants and healthy controls. *Curr Issues Intest Microbiol* 2007; 8: 9-14.

7.1 Publikációk

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

1. Opre J, Nemes É, Korponay-Szabó I, Woolley N, Oláh É. Homozigóta DR3;DQ2 coeliakiás család. *Gyermekgyógyászat* 2004; 55(4): 449-52
2. Nemes É, Opre J, Szűcs E, Aleksza M, Tumpek J, Sipka S, Korponay-Szabó I: Lymphocita sejtfelszíni markerek és nem-szövetspecifikus autoantitestek vizsgálata coeliakiában. *Gyermekgyógyászat* 2005; 56(5): 251-7
3. Nemes É, Lefler É, Kapitány A, Opre J, Tumpek J, Sipka S, Korponay-Szabó I. Hepatitis B immunizációra adott immunválasz coeliakiában. *Gyermekgyógyászat* 2006; 57: 338-43.
4. Korponay-Szabó I, Raivio T, Nemes É, B. Kovács J, Laurila K, Kaukinen K, Maki M. Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard gyorseszttel. *Gyermekgyógyászat* 2006; 57: 351-7.
5. Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, Laurila K, Collin P, Kovacs JB, Maki M, Korponay-Szabo IR. Self transglutaminase-based rapid coeliac disease antibody detection by a lateral flow method. *Aliment Pharmacol Ther* 2006 Jul 1; 24(1):147-54. **IF:3,287**
6. Korponay-Szabó IR, Szabados K, Pusztai J, Uhrin K, Ludmány É, Nemes É, Kaukinen K, Kapitány A, Koskinen L, Sipka S, Imre A, Mäki M. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *Brit Med J* 2007 Dec 15; 335(7632):1244-7. **IF:9,245**
7. Nemes É, Lefler É, Szegedi L, Kapitány A, B.Kovács J, Balogh M, Szabados K, Tumpek J, Sipka S, Korponay-Szabó IR. Gluten intake interferes with the humoral immune response to recombinant hepatitis B vaccine in patients with celiac disease. *Pediatrics*, in press **IF:5,012**
8. Raivio T, Korponay-Szabó IR, Paajanen T, Ashorn M, Iltanen S, Collin P, Laurila K, Nemes É, B.Kovács J, Carrard, G, Saramaki M, Maki M, Kaukinen K. Comparison of a novel whole blood transglutaminase-based ELISA with whole blood rapid antibody test and established conventional serological coeliac disease assays. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, in press **IF:2,067**

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 19,611

Az értekezés témájához kapcsolódó egyéb közlemények jegyzéke

1. Korponay-Szabó IR, Vecsei Z, Király R, Dahlbom I, Chirido F, **Nemes É**, Fésüs L, Mäki M. Deamidated gliadin peptides form epitopes that transglutaminase antibodies recognize. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 46: 253-61 **IF:2,067**
2. Papp M, Foldi I, **Nemes E**, Udvardy M, Harsfalvi J, Altorjay I, Mate I, Dinya T, Varvolgyi Cs, Barta Z, Veres G, Lakatos PL, Tumpek J, Toth L, Szathmari E, Kapitany A, Gyetvai A, Korponay-Szabo I. Haptoglobin polymorphism: a novel genetic risk factor for celiac disease development and its clinical manifestations. *Clin Chem* 2008 doi:10.1373/clinchem.2007.098780 **IF:5,454**

Az értekezés témájához kapcsolódó egyéb közlemények impakt faktora: 7,521

Egyéb közlemények jegyzéke

1. Lakatos L, Csathy L, **Nemes E.** „Blodless” treatment of a Jehovah’s Witness infant with ABO hemolytic disease. *J Perinatol* 1999; 19(7): 530-2. **IF:0,616**
2. Tar I, **Nemes E**, Nemes J, Alberth M, Keszthelyi G. The role of salivary immunoglobulins in caries prevalence and primary B-cell deficiency. *Fogorvosi Szemle* 1999; 92(11):331-8.
3. **Nemes É**, Teichman F, Roos D, Maródi L. Activation of human granulocytes by intravenous immunoglobulin preparations is mediated by FcγRII and FcγRIII receptors. *Ped Res* 2000; 47: 357-61. **IF:2,794**
4. Marodi L, Kaposzta R, **Nemes E.** Survival of group B streptococcus type III in mononuclear phagocytes: differential regulation of bacterial killing in cord macrophages by human recombinant gamma interferon and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Infect Immun* 2000; 68(4): 2167-70. **IF:4,204**
5. Tarjan P, Sipka S, Marodi L, **Nemes E**, Lakos G, Gyimesi E, Kiss E, Ujj G, Szegedi G. No short-term immunological effects of Pneumococcus vaccination in patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 2002; 31(4): 211-5. **IF:1,396**
6. **Nemes É.** Koraszülöttek immunizációja. *Családorvosi Fórum* 2004; 6: 36-9.
7. **Nemes É.** Multivitamin szupplementáció és antioxidánsok gyermekkorban. *Gyermekorvos továbbképzés* 2006; 5(3): 201-5.
8. **Nemes É.** Régi betegségek megelőzése új védőoltásokkal. *Családorvosi Fórum* 2006; 8: 31-4.
9. Derekas B, **Nemes É**, Korponay-Szabó IR. Beépített testhelyzet-érzékelő szerepe a 24 órás nyelőcső pH-monitorizálás kiértékelésében. *Gyermekgyógyászat* 2007; 58: 377-80.

Az egyéb közlemények impakt faktora: 9,01

Kumulatív impakt faktor: 36,142

Az értekezés témájában idézhető absztraktok

1. Korponay-Szabo IR, Raivio T, Laurila K, B.Kovács J, **Nemes É**, Kaukinen K, Mäki M. Rapid detection of coeliac autoantibodies in the office. 38th Annual Meeting of the ESPGHAN, 2005. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2005; 40: 619.
2. Korponay-Szabo IR, Kapitány A, B.Kovács J, Lőrincz M, Opre J, **Nemes É**, Tumpek J, Sipka S. Is coeliac disease a dominantly inherited disorder? 38th Annual Meeting of the ESPGHAN, 2005. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2005; 40: 638.
3. **Nemes É**, Lefler É, Kapitány A, B. Kovács J, Balogh M, Szabados K, Opre J, tumpek J, Sipka S, Korponay-Szabó IR. Gluten intake interferes with the immune response to hepatitis B vaccination in patients with coeliac disease. 40th Annual Meeting of the ESPGHAN, Barcelona, 2007. J Pediatr Gastroenterol Nutr, <http://www.espghan2007.org/PH01-05>.
4. Korponay-Szabó IR, B.Kovács J, Király R, **Nemes É**, Mäki M. High efficiency of gluten-dependent transglutaminase-specific intestinal IgA deposits as candidate diagnostic criteria in coeliac disease. 40th Annual Meeting of the ESPGHAN, Barcelona, 2007. J Pediatr Gastroenterol Nutr, <http://www.espghan2007.org/PG01-09>.
5. Korponay-Szabó IR, B.Kovács J, **Nemes É**, Dahlbom I, Mäki M. Coeliac antibody testing with deamidated gliadin peptides in difficult patient samples. 40th Annual Meeting of the ESPGHAN, Barcelona, 2007. J Pediatr Gastroenterol Nutr, <http://www.espghan2007.org/PG05-03>.

8. TÁRGYSZAVAK

coeliakia, transzglutamináz antitest, endomysium antitest, glutenmentes diéta, gyorseszteszt, hepatitis B immunizáció, haptoglobin, cytomegalovirus, anti-glycan ellenanyag

KEYWORDS

celiac disease, transglutaminase antibody, endomysium antibody, gluten free diet, rapid test, hepatitis B immunisation, haptoglobin, cytomegalovirus, anti-glycan antibody

9. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Legelőször köszönetet mondok témavezetőmnek, *Dr. Korponay-Szabó Ilma* egyetemi docensnek, aki a munkám közvetlen irányítójaként szakmai és kutató tevékenységemet segítette és nélkülözhetetlen tanácsokat adott a munkaterv, a kéziratok és a Ph.D dolgozat megszületésében. Nemcsak témavezetőként irányította munkámat, hanem bevezetett a gyermekgasztroenterológia izgalmas világába és felkeltette az érdeklődésemet a coeliakia iránt. Magas színvonalon végzett kutató munkája és gyógyító orvosi tevékenysége egyaránt példa számomra. Hálás vagyok *Dr. Fésüs László* rektor úrnak, akadémikusnak és *Dr. Oláh Éva* egyetemi tanárnak, akik lehetővé tették számomra, hogy a DE OEC Gyermekklinikáján dolgozhassak és a gyógyító, oktató munka mellett a kutatásba is bekapcsolódjak. Köszönöm *Dr. Balla György* egyetemi tanárnak, a DE OEC Gyermekklinika igazgatójának, hogy a munkavégzésemhez szükséges feltételeket biztosította és támogatta a Ph.D értekezésem elkészítését. Szeretném a köszönetemet kifejezni *Dr. Lefler Évának* a Hajdú-Bihar Megyei ÁNTSZ, Laboratórium Kft munkatársának, *Dr. Sipka Sándor* egyetemi tanárnak és *Dr. Tumpek Juditnak*, valamint az ÁNTSZ laboratórium Kft és a III. sz. Belgyógyászati Klinika Regionális Immunológiai Laboratórium valamennyi dolgozójának a szerológiai vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségéért. Hálával tartozok *Nagy Erzsébetnek* a Heim Pál Gyermekkórház asszisztensének a laboratóriumi vizsgálatok során nyújtott segítségéért. Továbbá köszönetet mondok szerzőtársaimnak, különösen *Dr. Papp Mária* egyetemi tanársegédnek, aki tanácsaival segítette az értekezés elkészítését. Köszönöm valamennyi kollegámnak, akik segítségükkel hozzájárultak a betegeink gyógyításához és az értekezés megszületéséhez. Megköszönöm a Gyermekklinika valamennyi nővérének és asszisztensének az áldozatos munkáját.

Köszönöm a fiamnak, *Faragó Ádámnak*, hogy segítségemre volt a statisztikai számítások és az értekezés végső formai kivitelezésének elvégzésében. Végül hálámat fejezem ki édesanyámnak a fáradhatatlan segítségéért, köszönöm férjemnek és gyermekeimnek a kitartást, akik szeretetükkel a nehéz periódusokban is mellettem álltak és a nyugodt munkavégzéshez szükséges feltételeket biztosították számomra.

