

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

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

Dr. Nemes Éva



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

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

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. 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. 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 klinikai tünetekkel bíró egyének, a rizikó csoportok és a populáció szűrések szempontjából egyaránt nagy jelentőséggel bírnak a vérből, non-invazívan kimutatható coeliakia specifikus antitestek. A tünetszegény betegek felismeréséhez azonban az antitest kimutatások széleskörű alkalmazása szükséges. A konvencionális endomysium antitest (EMA) kimutatás igen specifikus, jóllehet a vizsgálat gyakorlott értékelőt és nem mindenhol hozzáférhető immunfluoreszcens felszerelést kíván. 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, különösen a súlyos állapotú betegeknél azonban 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 patológiás 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 betegeknél 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. 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. Immunszupprimált betegeknél 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 antitest 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 immunizáltakban. Másrészt a coeliakia specifikus antitestek kimutatása mellett kutattam, hogy az egyéb szerológiai vizsgálatok milyen mértékben járulhatnak hozzá a CD betegek felismeréséhez, klinikai és kezeltségi állapotuk megítéléséhez.

CÉLKITÚZÉSEK

1. Jelen munka egyik célja volt értékelni az endogén, friss TG2 antigén felhasználásával működő, IgA típusú TGA 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 gyorseszttel 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 továbbá a HBV immunizációban részesült CD betegekben a haptoglobin polimorfizmusát.
3. Ezen túl céлом volt megvizsgálni a perifériás vérben a lymphocytá sejt felszíni 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 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. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

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 (1. táblázat).

2.1 Betegcsoportok

2.1.1 Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása Biocard™ gyorstesztel

Elsőként 121 coeliakiás és 107 normál boholyszerkezettel rendelkező kontroll beteg archív vérmintáján teszteltük, majd 211 személyt (89 klinikai beteg és 122 családtag) prospektíven vizsgáltunk. 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. Összesen 2676 gyermek került szűrésre 120 helyi védőnő bevonásával.

2.1.2 Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése CD-ben

128 CD gyermeket és 113 hasonló korú kontrollt vizsgáltunk. 22 CD beteg (11 leány, 11 fiú, medián kor: 8,8 év, szélső értékek 4-12,5 év), prospektíven, a CD diagnózisának felállítása után, glutenmentes diéta alatt részesült a hepatitis B elleni immunizációban. Az ellenanyagválasz (anti-HBs) értékelésére perifériás vérmintát gyűjtöttünk a védőoltás után egy hónappal. 106 coeliakiás serdülő (67 leány, 39 fiú, medián kor: 16,7 év) és a kontrollok (70 leány, 43 fiú, medián kor: 16,1 év), a védőoltást az általános iskola 8. osztályában a kötelező védőoltási program keretében kapták meg, függetlenül a CD diagnózisától és a diétás státusztól. Anti-HBs ellenanyag meghatározásra szérumot gyűjtöttünk tőlük a védőoltás után eltérő időpontokban, más célból végzett laboratóriumi vizsgálat alkalmával. A diétás compliance megítélésére ugyanakkor EMA és TGA ellenőrzés is történt.

Negatív anti-HBs eredmény esetén további booster védőoltást ajánlottunk fel a betegeknek, majd a 37 betegben anti-HBs meghatározást végeztünk a védőoltás után egy hónappal. Ebben a periódusban a CD betegek mindannyian szigorú glutenmentes diétát tartottak.

2.1.3 Lymphocyta sejtfelszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegeknél

57 kezelt 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 lymphocyta sejtfelszíni antigén struktúrákra (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ és CD56⁺) és a poliszisztémás autoimmun betegségek marker autoantitestjeire (ENA, anti-DNS, ANF, Sm, Sm/RNP, SS-A, SS-B, Scl-70, Jo-1, centromer, citoszkeleton).

2.1.4 CMV fertőzés gyakorisága kisdeddkori malabszorpcióban

A CMV fertőzés lehetséges betegség provokáló hatását 1-2 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, akiknél szintén malabszorpció klinikai tünetei miatt történt a 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.

2.1.5 Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata CD-ben

42 beteg (9 férfi, 33 nő, átlag életkor: 40,7 év, szélső értékek: 15-78 év) vérmintáját vizsgáltuk a CD diagnózisának 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 újraértékeltek hosszú távú, szigorú glutenmentes diéta alatt is. Kontrollként 100 egészséges (47 férfi, 53 nő, átlag életkor: 36,6 év, szélső értékek: 22-43 év), endomysium és transzglutamináz antitest negatív véradó szerepelt.

	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 colon 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 adenomatosus 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

1. táblázat: A betegek és a kontrollok diagnózisa a különböző betegcsoportokba.

**Retrospektív és prospektív klinikai vizsgálatok együttesen*

***Vékonybélbiopsiával értékelt kontrollok*

2.2 Módszerek

2.2.1 Szövetteni vizsgálat

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

2.2.2 Laboratóriumi módszerek

Minden esetben az EMA IgA és IgG izotípusú antitestek kimutatása indirekt immunfluoreszcens vizsgálattal, az IgA típusú TGA antitest kimutatása ELISA- technikával történt. A TGA pozitivitás küszöb értéke 5U/ml volt. IgG típusú EMA és TGA meghatározást végeztünk, ha a szérumban az IgA < 0,2 g/l volt. A Biocard™ Celiac Disease immunkromatográfiás gyorseszteszt segítségével TG2 elleni autoantitesteket mutattunk ki 5 perc alatt egy csepp teljes vérből a beteg saját vörösvértestjeiben lévő endogén TG antigén alkalmazásával.

A HLA-DQ haplotípusok DNS szintű meghatározása szekvencia-specifikus primerekkel, alacsony felbontású kittel, PCR technikával történt a gyártó útmutatása szerint. Nem egyértelmű eredmény esetén DQB1*02, ill. DQB1*03 szubtipizálás is történt, vagy az α -láncot is megvizsgáltuk.

A lymphocytá szubpopulációk vizsgálatát flow cytometriával végeztük el.

Az anti-HBs és az anti-CMV IgM és IgG ellenanyagok meghatározása ELISA technikával a kereskedelmi forgalomban kapható kittekkel történt a gyártó utasítása szerint. Ugyancsak ELISA módszerrel végeztük a poliszisztémás autoimmun betegségekre jellemző marker autoantitestek egy részének (ENA, anti-DNS, Sm, Sm/RNP, SS-A, SS-B, Scl-70, Jo-1), valamint az anti-glycan antitesteknek a vizsgálatát, míg az ANF, centromer, citoskeleton autoantitestek kimutatása Hep2 sejten indirekt immunfluoreszcenciával történt.

A haptoglobin fenotipizálást a különböző szérum mintákból sodium-dodecil-szulfát poliakrilamid gradiens gél elektroforézissel, majd immunoblottal végeztük.

2.3 Statisztikai analízis

A különböző csoportok közötti szignifikáns különbség kifejezésére a Chi-négyzet tesztet használtuk és szignifikánsnak tekintettük a különbséget $p < 0,05$ érték esetén. A vizsgálatokhoz kapcsolódó konfidencia intervallumokat a Wilson módszer segítségével alkottuk meg, 95%-os konfidencia szint mellett. Az elemzéshez a SISA programot használtuk (<http://home.clara.net/sisa/>).

3. EREDMÉNYEK

3.1 Coeliakia autoantitestek helyszíni kimutatása BiocardTM gyorseszttel

Az archív vérmintákban a Biocard teszt 97%-os szenzitivitással és 94% specificitással ismerte fel a CD betegeket. A helyszíni vizsgálatnál 55 személy volt Biocard pozitív, 47-nél történt vékonybélbiopszia és 46 esetben igazolódott súlyos boholyatrophia. A helyszíni gyorseszttel

eredmények 97,2%-ban egyeztek a laboratóriumi EMA és 96,7%-ban a TGA leletekkel. A friss vérből történő vizsgálatoknál a specificitás magasabbnak adódott, mint a tárolt vérmintáknál. A prospektíven vizsgált betegeknél kevesebb invazív vizsgálatra került sor, mégis a CD betegek közel fele az első jelentkezést követő 3 napon belül túlesett a vékonybél biopszián.

2005-ben Jász-Nagykun-Szolnok megyében a 6 éves korú gyermekek körében végzett populáció szűrés során a védőnők az antitest-pozitív gyermekek 78%-át ismerték fel a helyszínen. A vizsgált gyermekek közül összesen 32 (1,2%) új CD beteg (24 leány, 8 fiú) került diagnosztizálásra. A felmérés szerint 2005-ben a vékonybél biopsziával igazolt CD előfordulása 6 éves korban 1,38%, az antitest pozitívitas prevalenciája 1,79% volt Magyarországon. A vizsgálat a magas részvételi arány miatt reprezentatívnak tekinthető a magyar népességre.

3.2 Hepatitis B immunizációra adott immunválasz értékelése coeliakiában

Vizsgálatunkban hepatitis B vakcinációt követően a glutenmentes diétát tartó prospektíven immunizált CD betegeknél az egészségesekhez hasonló arányban alakult ki szerokonverzió (95,5%). A responderek aránya azonban csak 50,9% volt, ha az immunizációt a diagnózistól és a diétás státustól függetlenül végeztük el. A vakcináció idején még fel nem ismert és ezért nem kezelt coeliakiás serdülőkben meglepően magasnak (74,1%) találtuk a negatív anti-HBs ellenanyagszinttel rendelkezők arányát. A negatív coeliakia ellenanyag státusz (EMA, TGA) elérése után a korábban kezeletlen CD betegek 97,3%-a protektív immunválaszt produkált a booster vakcinációra.

Nem találtunk szignifikáns különbséget a szerokonverzió arányában a HLA-DQ2 homozigoták és heterozigoták között.

A haptoglobin polimorfizmus nem mutatott összefüggést CD-ben a HBV immunizáció eredményével, sem a betegség aktivitásával, sem pedig a betegek diétás státuszával.

3.3 Lymphocyta sejtfelszíni markerek és non-organ specifikus autoantitestek előfordulása CD betegeknél

A CD betegeknél a CD3⁺ és a CD4⁺ sejtarány szignifikánsan kisebb, a CD19⁺ sejtarány szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollokban mért értékek. A CD3⁺ lymphocyták aránya szignifikánsan nagyobb volt a non-organ specifikus autoantitestre negatív coeliakiásokban. A CD betegek 47,4%-ában pozitívak voltak az aktív betegséget jelző EMA és TG ellenanyagok és közöttük szignifikánsan gyakoribb ($p < 0,001$) volt a non-organ specifikus autoantitest pozitivitás, mint a kontrollokban. A betegek közül 56,1% volt pozitív legalább egy, 19,3% pedig kettő vagy több vizsgált egyéb autoantitestre. Leggyakoribb az anti-DNS pozitivitás volt. A non-organ specifikus autoantitestre pozitívak között szignifikánsan gyakoribb volt a diétahiba.

3.4 A CMV fertőzés lehetséges provokáló szerepének vizsgálata coeliakiás gyermekekben

A CD betegek 24,4%-ában mutattunk ki IgG típusú anti-CMV ellenanyagot, anti-CMV IgM pozitivitás egy esetben sem igazolódott. A krónikus hasmenés miatt vizsgált nem coeliakiás kontroll csoportban az anti-CMV IgG pozitivitás szignifikánsan gyakrabban fordult elő, mint a CD betegeknél és közülük három betegben az anti-CMV IgM ellenanyag is pozitív volt. A boholatropfiát nem mutató kontroll betegek 80%-ában állt rendelkezésre kvantitatív mérési

eredmény a disaccharidáz enzimek aktivitásáról. A normál és csökkent disaccharidáz enzimaktivitási értékek aránya azonos volt a CMV szeropozitív és szeronegatívak között.

3.5 Mikrobiális sejtfalkomponensekre adott szerológiai válasz vizsgálata coeliakiás betegekben

Az anti-glycan ellenanyagok prevalenciája szignifikánsan magasabb volt a CD diagnózisának felállításakor, mint az egészséges kontrollokban. A CD betegek 69,1%-a volt pozitív legalább egy vizsgált ellenanyagra a diagnózis időpontjában. Az anti-glycan ellenanyagok pozitivitása teljesen eltűnt, és minden ellenanyag koncentrációja szignifikánsan csökkent a gluten eliminációjára.

4. 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 (transzglutamináz 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 transzglutamináz 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 glutenérzékenység létrejöttében.

Vizsgálataink során a betegek saját vörösvérsejtjeiben található TG2 felhasználásán alapuló, laboratóriumi felszerelést és jártasságot nem igénylő gyorsdiagnosztikai módszert alkalmaztuk a CD felismerésében és a kezelésében. A helyszíni gyorsteszt 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 vizsgálat a vérmennyiséget és a vérvételi módszert tekintve is kisebb megterheléssel alkalmazható kisgyermekeknél, mint a hagyományos, perifériás vénából történő vérvétel a savóvizsgálatokra.

Az eredményeink azt mutatják, hogy a Biocard helyszíni gyorsteszttel hatékonyan és gyorsan ki lehet válogatni azokat a személyeket, akiket tovább kell vizsgálni. A kóros eredmény alapján végzett intervenció rövidebb időt igényel és csökkenti az egyéb irányú invazív vizsgálatok számát, ugyanakkor a már diagnosztizált betegekben javítja a diétás fegyelmet és betegek kezeltségi állapotát, valamint lehetővé teszi a családtagok és a populáció minimálisan invazív szűrését. Bár a pozitív Biocard eredmény igen jó prediktív értékű és gyakorlatilag ekvivalensnek tekinthető a pozitív EMA eredménnyel, csupán ennek alapján glutenmentes diétát elkezdeni nem szabad, a beteget gasztroenterológiai centrumba kell irányítani.

Az egyszerű, helyben elvégezhető gyorsteszttel történő szűrések költsége várhatóan sokkal alacsonyabb a hagyományos szűrőmódszerekénél és a teszt 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 statusának ellenőrzésében.

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. A korábbi retrospektív tanulmányok nem elemezték egymástól függetlenül a kezelt és kezeletlen CD betegek eredményeit. Vizsgálatunkban szigorú glutenmentes diéta mellett, prospektív immunizációval az egészséges emberekével megegyező arányban alakult ki szerokonverzió, viszont a responderok aránya csak 50,9% volt, ha az immunizációt a diagnózistól és a diétás státustól függetlenül végeztük el. 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 a CD aktivitásának elsődleges szerepe van a hepatitis B vakcináció sikertelenségében. A non-responder állapot azonban nem állandó kísérő jelensége a betegségnek. Ennek megfelelően az újonnan diagnosztizált és korábban immunizált CD betegekben szükségesnek tarjuk az anti-HBs ellenanyag koncentráció meghatározását és ennek negativitása esetén a revakcinációt a CD specifikus autoantitestek (EMA, TGA) eltűnése után érdemes elkezdni. Másrészt a negatív anti-HBs állapottal bíró egyéneknél fontosnak ítéljük a CD kizárását is. Park és mtsai saját eredményeik alapján arra hívták fel a figyelmet, hogy a jelenlegi védőoltási stratégia mellett és a növekvő számú CD betegek miatt az univerzális hepatitis B vakcináció ellenére is reális veszélyt jelent a fertőzés iránti fogékonyság perzisztálása. Másrészt saját eredményeink alapján a gluten terhelésnek a HBV immunizációra kifejtett kedvezőtlen hatása felhívja a figyelmet más vakcina antigénekre adott immunválasz tanulmányozására is CD betegekben. Eredményeink arra utalnak, hogy a HLA-DQ2 hordozás önmagában nem jár a hepatitis B vakcinációra adott elégtelen humorális immunválasszal. 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 a jelenlétük kapcsolatban van a betegség aktivitásával, ami egyrészt a szöveti károsodás, másrészt a mikrobiális antigénekkal szembeni tolerancia elvesztésének a következménye. Egyéb autoimmun betegség hiányában ezek a másodlagos antitestek a gluten eliminációjára eltűnnek a keringésből. Más célból végzett vizsgálatok pozitív eredmény esetén felveti a CD fennállását is, ezért javasolt ilyen esetekben a betegségre specifikus antitestek szűrő vizsgálata.

A perifériás vér lymphocita szubpopulációinak vizsgálata is fontos információt szolgáltat az autoimmun folyamatokra, és azt találtuk, hogy jelenlétük összefügg az intestinális T-sejt aktivációval.

Tudományos ismeretek szerint a vírusok a molekuláris mimikri révén, vagy az immunregulációra gyakorolt direkt hatásukkal indítják el a szervezetben zajló autoimmun folyamatokat. A CMV lehetséges kóroki szerepét a CD autoimmun mechanizmusában, a korábbiakban általunk is észlelt magas anti-DNS antitest pozitivitási arány vetette fel, valamint homológ szekvenciák jelenléte a szöveti transzglutamináz N-terminális domain-jében. Emellett Lunardi és munkatársai kimutatták, hogy a CMV késői proteinjével keresztreakciót mutathatnak a sclerosis multiplexben szenvedő betegek savóiban lévő antitestek. Vizsgálataink alapján a CMV általunk feltételezett etiológiai szerepe CD-ben nem igazolódott. A kontroll csoportban észlelt szignifikánsan gyakoribb fertőzés ugyanakkor felveti a CMV infekció lehetséges szerepét az intractabilis hasmenések hátterében, ezért fiatalkori, makacs diarrhoea esetén immunkompetens betegekben is érdemes a szerológiai vizsgálatot elvégezni.

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 pathomechanizmusban betöltött pontos szerepük további kutatást igényel.

5. 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 beteg gyors teszttel végzett ellenőrzése hatással van a diétás fegyelemre és időveszteség 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 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. Inkraktábilis hasmenésben, immunkompetens betegekben akut CMV fertőzést igazoltunk.
5. A mikrobiális antigének ellen termelődő antitestek járulékos markerek a CD diagnosztikájában és gluten eliminációjával eltűnnek a keringésből.

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: Lymphocytá sejt felszíni 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, 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 J, Maki M, Korponay-Szabó 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, 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 Fc γ RII and Fc γ RIII 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. Csaláadorvosi 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. Csaláadorvosi Fórum 2006; 8: 31-4.
9. Derekas B, **Nemes É**, Korponay-Szabó IR. Beépített testhelyzet-érzékelő szerepe a 24 órás nyelőső 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>.

