

**Β΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ -
ΜΟΝΑΔΑ ΕΡΕΥΝΑΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Κ. Σ. Α. ΡΑΠΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ - ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΓΝΑ “ Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ”
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΚΑ. ΧΡ. ΠΑΧΟΥΛΑ - ΠΑΠΑΣΤΕΡΙΑΔΗ**

**ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ
ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ
ΤΗΣ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ Γ. ΤΡΙΓΩΝΗ
ΙΑΤΡΟΣ – ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2013

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥ-
ΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ
ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ. ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ
ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗ-
ΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΥΣΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ
ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ. ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝ-
ΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ
ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗ-
ΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ
ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ
ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ'
ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ
ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ
ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ. ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ
ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ.
ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ
ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΕΙΟΙΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ
ΕΞΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΑΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ
ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟ-
ΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ,
ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η
ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ
ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ. ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ
ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ
ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧ-
ΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟ-
ΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΛΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ Σ' ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΘΕΕΣ, ΠΟΥ ΒΑΖΩ ΜΑΡΤΥΡΕΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΕΚΠΛΗΡΩΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΑΥΤΟ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΟΤΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΕΚΕΙΝΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗΣΙΟΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΝΩ ΚΟΙΝΩΝΟ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΩ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΚΑ ΜΟΥ ΟΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΞΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ, ΑΝ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΜΑΘΟΥΝ ΧΩΡΙΣ ΜΙΣΘΟ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΑ, ΟΤΙ ΘΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΤΟΥΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ, ΤΑ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΙΣ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΜΟΥ, ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΣΕ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΔΕΘΗ ΜΑΖΙ ΜΟΥ ΜΕ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΗΘΕΙΑ ΤΩΝ ΙΑΤΡΩΝ, ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΩ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΟΣΟ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΚΑΙ (ΥΠΟΣΧΟΜΑΙ ΟΤΙ) ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΩ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑ.

ΔΕΝ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΘΑΝΑΤΟΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΝ ΠΑΡΑΚΛΗΘΩ, ΟΥΤΕ ΘΑ ΥΠΟΔΕΙΞΩ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΕΠΙΣΗΣ ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟ. ΑΓΝΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΗ ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ. ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΠΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΠΕΤΡΑ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΑΦΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΣΤΟΥΣ ΕΞΑΣΚΗΜΕΝΟΥΣ. ΣΕ ΟΣΑ ΣΠΙΤΙΑ ΠΡΟΣΚΑΛΟΥΜΑΙ, ΘΑ ΜΠΑΙΝΩ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΛΟ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΚΡΑΤΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΕΑΥΤΟ ΜΟΥ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΘΕΛΗΜΑΤΙΚΗΣ ΑΔΙΚΙΑΣ, Η ΑΛΛΗ ΔΙΑΦΘΟΡΑ ΚΑΙ ΠΡΟ ΠΑΝΤΩΝ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΦΡΟΔΙΣΙΑΚΗΣ ΠΡΑΞΗΣ ΣΕ ΣΩΜΑΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ Η ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΘΑ ΔΩ Η ΘΑ ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΠΕΡΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΣΧΟΛΙΕΣ ΜΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ, ΟΣΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΛΟΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΕΞΩ, ΘΑ ΤΑ ΑΠΟΣΙΩΠΩ, ΥΠΟΛΟΓΙΖΟΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΙΕΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ. ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΘΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ, ΚΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΙΑΖΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΠΕΤΥΧΑΙΝΩ ΣΤΗ ΖΩΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΚΑΛΟ ΟΝΟΜΑ ΠΑΝΤΟΤΕ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

1. Σωτήριος Α. Ράπτης, Ομότιμος Καθηγητής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (Επιβλέπων).
2. Μύρων Μαυρικάκης, Ομότιμος Καθηγητής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών
3. Ηλίας Μαλλάς, Αναπληρωτής Καθηγητής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών

Μέλη της επταμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

- ο Ομ. Καθηγητής Σ. Α. Ράπτης (Επιβλέπων)
- ο Ομ. Καθηγητής Μ. Μαυρικάκης
- ο Καθηγητής Γ. Δημητριάδης
- ο Αν. Καθηγητής Η. Μαλλάς
- ο Αν. Καθηγήτρια Λ. Ζέρβα
- ο Επ. Καθηγητής Κ. Τριανταφύλλου
- ο Επ. Καθηγήτρια Β. Καψιμάλη

*Στη μνήμη του πατέρα μου
Γεωργίου Τριγώνη
Παιδιάτρου*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σύντομο βιογραφικό σημείωμα	ix
Ευχαριστίες	xii
Συντομογραφίες	xiv
Πρόλογος	xv

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1. Κοιλιοκάκη – Γενικά στοιχεία	2
1.1 Ορισμός	2
1.2 Ιστορική αναδρομή	2
1.3 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά	3
1.4 Γενετικοί παράγοντες	8
Κεφάλαιο 2: Κλινικές εκδηλώσεις	11
2.1 Κλινικές μορφές της νόσου	11
2.2 Συσχετισμός με άλλα νοσήματα	15
Κεφάλαιο 3: Ανοσοπαθγένεια	19
3.1 Εκλυτικός παράγοντας – γλουτένη	19
3.2 Ανοσία	21
3.2.1 Επίκτητη ανοσία	21
3.2.2 Φυσική ανοσία	23
Κεφάλαιο 4: Εργαστηριακή προσέγγιση	26
4.1 Ιστολογική διάγνωση	26
4.1.1 Φυσιολογική εικόνα εντερικού βλενογόννου – μέθοδος λήψης βιοψιών	26

4.1.2 Σταδιοποίηση κατά Marsh	27
4.1.3 Διαφορική διάγνωση ιστολογικών αλλοιώσεων	29
4.2 Ανοσολογικοί δείκτες	30
4.2.1 Αντισώματα έναντι ρετικουλίνης	30
4.2.2 Αντισώματα έναντι γλιαδίνης	31
4.2.3 Αντισώματα έναντι ενδομυίου – αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης	32
4.3 Γενικά εργαστηριακά ευρήματα	36
4.3.1 Αναιμία	36
4.3.2 Άλλα αιματολογικά και βιοχημικά ευρήματα	39
Κεφάλαιο 5: Θεραπεία	41

B. Ειδικό μέρος

Κεφάλαιο 6. Σκοπός της μελέτης	44
Κεφάλαιο 7. Υλικό και μεθοδολογία	46
7.1 Ασθενείς – δείγματα	46
7.2 Παράμετροι που μελετήθηκαν	49
7.3 Μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν	50
Κεφάλαιο 8. Αποτελέσματα	58
8.1 Αρχικές μετρήσεις στη διάγνωση – ομάδα ελέγχου	58
8.2 Μεταβολές των αντισωμάτων σε σχέση με το χρόνο	60
8.3 Μεταβολές των αντισωμάτων στο χρόνο σε σχέση με τη δίαιτα	64
8.4 Προγνωστική αξία των αντισωμάτων για την τήρηση της δίαιτας	69
8.5 Προσδιορισμός αντισωμάτων στους συγγενείς	73

8.6 Μέτρηση ανοσοσφαιρινών και υποτάξεων	75
8.7 Μέτρηση γενικών παραμέτρων	76
8.8 Πίνακες	80
Κεφάλαιο 9. Συζήτηση	86
Περίληψη	100
Περίληψη στην αγγλική γλώσσα	103
Βιβλιογραφία	106

Βιογραφικό σημείωμα

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	Τριγώνη Ευαγγελία του Γεωργίου
ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ	Ιατρός
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	Ιατρική Βιοπαθολογία
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ	1-1-1971
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ	Τρίκαλα Θεσσαλίας.
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	Έγγαμος, μητέρα δύο παιδιών
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΙΑΤΡΕΙΟΥ	Κανούτα 1 & Βύρωνος, Τρίκαλα, 42100

ΣΠΟΥΔΕΣ-ΠΡΟΥΠΗΡΕΣΙΑ

Ιούνιος 1988	Αποφοίτηση από το 3 ^ο Λύκειο Τρικάλων με «Άριστα» .
Οκτώβριος 1988	Εισαγωγή στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών με πανελλήνιες εξετάσεις.
Ιούνιος-Σεπτέμβριος 1992	Παρακολούθηση στη χειρουργική κλινική του Νοσοκομείου «Henry Ford» Detroit, Michigan USA.
Ιανουάριος 1995	Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών με «Λίαν καλώς» .
Ιούλιος 1995-Οκτώβριος 1996	Υπηρεσία υπαίθρου στο Περιφερειακό Ιατρείο Ζηλευτής του Νομού Τρικάλων και στο Κέντρο Υγείας Φαρκαδώνας του Νομού Τρικάλων.
Οκτώβριος '96-Οκτώβριος 1997	Ειδικότητα Ιατρικής Βιοπαθολογίας στο Μικροβιολογικό εργαστήριο του Γ.Ν.Ν. Τρικάλων.
Οκτώβριος 97-Οκτώβριος 2001	Συνέχιση ειδικότητας στο Π.Γ.Ν.Α. «ο Ευαγγελισμός» και απόκτηση του τίτλου αυτής.
Ιούνιος 2003-σήμερα	Λειτουργία Ιατρείου Μικροβιολογίας-Βιοπαθολογίας στα Τρίκαλα

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Αγγλική (Proficiency of Michigan - Proficiency of Cambridge)
- Γαλλική (Sorbonne II)

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. « Specificity, sensitivity and predictive value of specific autoantibodies in coeliac disease».

Tsiroyianni A, Kakkas I, Trigoni E, Nikolopoulou M, Mantzaris G and Papasteriades Chr. Immunology letters 2000, Vol 73 (2,3) p.164

2. « Specificity,sensitivity and predictive value of specific autoantibodies in coeliac disease».

Tsiroyianni A, Trigoni E, Kakkas I, Nikolopoulou M, Krikou L, Mantzaris G and Papasteriades Chr. EFIS 2000 ,14 th European Immunology Meeting p.127

3. «Hemophagocytic syndrome in association with visceral leishmaniasis».

Theano Kontopoulou MD, PhD, George Tsaousis MD, Emmanouel Vaidakis MD, Panagiotis Fanourgiakis MD, Elias Michalakeas MD, Evangelia Trigoni MD and Michael Samarkos MD, MSc. American Journal of Medicine 2002 Oct 1;113(5):439-40.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ-ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. «Διαγνωστική αξία των ορολογικών δεικτών για τη διάγνωση και παρακολούθηση της κοιλιοκάκης».

A. Τσιρογιάννη, Ε. Παππά, Γ. Μάντζαρης, Ε. Τριγώνη, Σ. Σπανού, Π. Μπάμπαλη, Ι. Οικονομίδου.

Τμήμα Ανοσολογίας – Ιστοσυμβατότητας, Π.Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός» για το 4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ανοσολογίας, Θεσσαλονίκη, Δεκέμβρης 1998.

2. «Τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου και της γλιαδίνης στη διάγνωση και παρακολούθηση της κοιλιοκάκης».

Α. Τσιρογιάννη, Ι. Κάκκας, Γ. Μάντζαρης, Ε. Τριγώνη, Κ. Μπεντεβής, Χρ. Παπαστεριάδη.
Τμήμα Ανοσολογίας – Ιστοσυμβατότητας, Α Γαστρεντερολογική κλινική Π.Γ.Ν.Α. «Ο
Ευαγγελισμός» για το 19 Εθνικό Συνέδριο Μικροβιολογίας, Αθήνα, Απρίλιος 2000

3. «Καταγραφή των βακτηρίων στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) ασθενών σε
τριτοβάθμιο νοσοκομείο της Αθήνας».

Γ. Μαργαρίτη, Ζ. Ψαρουδάκη, Α. Αργυροπούλου, Λ. Κρίκου, Ε. Τριγώνη, Σ.
Κωνσταντουλάκη και Ο. Πανιάρα.

Μικροβιολογικό τμήμα του Π.Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός» για το 19 Εθνικό Συνέδριο
Μικροβιολογίας, Αθήνα, Απρίλιος 2000

4. «Ευαισθησία, ειδικότητα και προγνωστική αξία των ειδικών αυτοαντισωμάτων στην
κοιλιοκάκη».

Α. Τσιρογιάννη, Ι. Κάκκας, Ε. Τριγώνη, Μ. Νικολακοπούλου Γ. Μάντζαρης, Χρ.
Παπαστεριάδη.

Τμήμα Ανοσολογίας – Ιστοσυμβατότητας, Α Γαστρεντερολογική κλινική Π.Γ.Ν.Α. «Ο
Ευαγγελισμός» για το 26 Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα Μάιος 2000

5. « Specificity, sensitivity and predictive value of specific autoantibodies in coeliac
disease».

Tsiroyianni A , Kakkas I , Trigoni E , Nikolopoulou M , Mantzaris G and Papasteriades Chr.
Department of Immunology – Histocompatibility, Evangelismos Hospital, Athens,
Greece, First Department of Gastroenterology , Evangelismos Hospital, Athens, Greece.
14 th European Immunology Meeting Poland , September 2001

6. Ανοσολογικοί δείκτες στην παρακολούθηση της κοιλιοκάκης.

Ε. Τριγώνη, Α. Τσιρογιάννη, Γ. Μάντζαρης, Ι. Κάκκας, Πλ. Ευαγγελινού, Π. Μπάμπαλη,
Χρ. Παπαστεριάδη

Τμήμα Ανοσολογίας – Ιστοσυμβατότητας, Α Γαστρεντερολογική κλινική Π.Γ.Ν.Α. «Ο
Ευαγγελισμός» για το 5 Πανελλήνιο Συνέδριο Ανοσολογίας, Αθήνα Νοέμβριος 2001.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους εκείνους που συνέβαλαν, ο καθένας με τον τρόπο του, στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής:

Τον Ομότιμο Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Σωτήριο Α. Ράπτη, για την ανάθεση του θέματος της παρούσας διατριβής, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αλλά και για την επιστημονική εποπτεία του σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησής της.

Τον Ομότιμο Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Μύρωνα Μαυρικάκη και τον Αν. Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Ηλία Μαλλά, μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, για το ενδιαφέρον και την υποστήριξή τους στην εκπόνηση αυτής της διατριβής. Η ενθάρρυνση που μου έδωσαν και η συνεργασία τους με βοήθησαν να την ολοκληρώσω.

Την κα Χρύσα Παχούλα Παπαστεριάδη, Συντονίστρια Διευθύντρια του Τμήματος Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ "Ο Ευαγγελισμός". Η συμβολή της στην εκπόνηση αυτής της μελέτης ήταν καθ'όλα καθοριστική. Εκτός από την επιστημονική επίβλεψη της και τη γόνιμη κριτική της, την ευχαριστώ θερμά για τη συνεχή πολύπλευρη στήριξή της, το μεγάλο ενδιαφέρον της και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αλλά και για την προσφορά της στη συνολική εκπαίδευσή μου στην ανοσολογία. Η επιμονή για την επίτευξη των στόχων και η μεθοδικότητα στην εργασία είναι αρχές που μεταξύ άλλων μου μετέδωσε και θα τις ακολουθώ.

Την κα Αλεξάνδρα Τσιρογιάννη, Διευθύντρια του ΕΣΥ στο τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ "Ο Ευαγγελισμός". Χωρίς τη βοήθειά της, το άμεσο ενδιαφέρον και την αμέριστη συμπαράστασή της δεν θα μπορούσα να ανταποκριθώ στις απαιτήσεις αυτής της διατριβής. Ήταν πάντα πρόθυμη να απαντήσει σε κάθε ερώτημά μου, να λύσει κάθε μου απορία, να με συμβουλεύσει και να με ενθαρρύνει, παρά τον ιδιαίτερα αυξημένο φόρτο εργασίας και των δικών της επαγγελματικών υποχρεώσεων τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Η μεγάλη εμπειρία της στο πεδίο των αυτοαντισωμάτων, οι γνώσεις της, η σφαιρικότητα και η αντικειμενική κρίση της, με

καθοδήγησαν σωστά σε όλα τα στάδια της μελέτης αυτής. Την καλή μου φίλη, Αλέκα, την ευχαριστώ πολύ.

Τον κ. Γεράσιμο Μάντζαρη, Συντονιστή Διευθυντή του Α' Γαστρεντερολογικού τμήματος του ΓΝΑ "ο Ευαγγελισμός" για την πολύ σημαντική βοήθειά του και καθοριστική συμβολή του στη συγκέντρωση των ασθενών με κοιλιοκάκη. Οι υποδείξεις του στο θέμα της κοιλιοκάκης, που τόσο εμπεριστατωμένα γνωρίζει και έχει μελετήσει επί σειρά ετών, είναι πάντα ανεκτίμητες.

Τους τεχνολόγους και παρασκευαστές του τμήματος Ανοσολογίας Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ "ο Ευαγγελισμός", όπου πραγματοποιήθηκαν όλες οι μετρήσεις αυτής της μελέτης, για την πολύτιμη βοήθειά τους και την άψογη τεχνική υποστήριξή τους στην επεξεργασία των δειγμάτων.

Τον κ. Αθανάσιο Ράπτη, Αν. Καθηγητή της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής. Η άμεση επικοινωνία που είχα μαζί του και η υποστήριξή του ήταν πολύ σημαντικές.

Επίσης, ευχαριστώ την αγαπημένη μου φίλη κα Βασιλική Κίτσιου, επιμελήτρια Α' στο Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ "ο Ευαγγελισμός" για το ειλικρινές ενδιαφέρον της και τη συμπαράστασή της, καθώς και τον κ. Ιωάννη Κάκκα, Διευθυντή στο ίδιο τμήμα, για τη βοήθειά του στη μέτρηση των ανοσοσφαιρινών.

Για τη σημαντική συμβολή του στην ανεύρεση της βιβλιογραφίας αυτής της διατριβής ευχαριστώ θερμά τον κ. Βασίλη Γεροδήμο, Αν. Καθηγητή στα ΤΕΦΑΑ Παν/μίου Θεσσαλίας, ενώ πολλές ευχαριστίες επίσης θα ήθελα να εκφράσω στη συνάδελφο, παλιά συνεργάτιδα στο ιατρείο μου και φίλη, κα Δήμητρα Αστρέχα, για τη στήριξή της, καθώς και στη Βιοστατιστικό κα Χαρά Τζαβάρα για τη βοήθειά της στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Ολοκληρώνοντας, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ για όλα στο σύζυγό μου Στέργιο, στήριγμά μου πάντα, και στα παιδιά μας Γιάννη και Σαββίνα που με πολλή υπομονή περιμένανε "να τελειώσει η μαμά το διάβασμά".

Συντομογραφίες

ΔΕΓ : Δίαιτα ελεύθερη γλουτένης

AGA-A (antigliadin antibodies IgA): Αντισώματα έναντι γλιαδίνης τάξεως IgA

AGA-G (antigliadin antibodies IgG): Αντισώματα έναντι γλιαδίνης τάξεως IgG

tTG (tissue transglutaminase) : Ιστική τρανσγλουταμινάση

αντι-tTG (anti-tissue transglutaminase antibodies): Αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης

tTG-A (anti-tissue transglutaminase antibodies IgA): Αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης τάξεως IgA

tTG-G (anti-tissue transglutaminase antibodies IgG): Αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης τάξεως IgG

EmA (endomysial antibodies IgA) : Αντισώματα έναντι ενδομυίου τάξεως IgA

IEL (intraepithelial lymphocytes) : Ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα

Πρόλογος

Η κοιλιοκάκη, παλιότερα θεωρούνταν μια σπάνια νόσος η οποία αφορούσε τα παιδιά και εμφανίζονταν με τα κλασσικά συμπτώματα της δυσαπορρόφησης του λεπτού εντέρου.

Σήμερα, γνωρίζουμε ότι η κοιλιοκάκη προσβάλλει περίπου το 1% των ενηλίκων του πληθυσμού των δυτικών χωρών. Θεωρείται, πλέον, μια συστηματική νόσος στην πολύπλοκη παθογένεια της οποίας εμπλέκονται γενετικοί παράγοντες, HLA και non HLA γονίδια, αλλά και περιβαλλοντικοί με κυρίαρχο τη γλουτένη των τροφών. Το ένζυμο της ιστικής τρανσγλουταμινάσης 2 αναγνωρίστηκε ως το κύριο αυτοαντιγόνο που επάγει ανοσιακή απάντηση στον εντερικό βλεννογόνο με επακόλουθο τις χαρακτηριστικές ιστολογικές βλάβες. Η δια βίου δίαιτα ελεύθερη γλουτένης (ΔΕΓ) είναι προς το παρόν η μόνη θεραπεία.

Οι ενήλικες, όμως, σπάνια εκδηλώνουν την κλασσική μορφή της νόσου με τις χαρακτηριστικές ιστολογικές αλλοιώσεις του λεπτού εντέρου. Συνήθως εμφανίζουν άτυπη ή ήπια κλινική συμπτωματολογία, με αποτέλεσμα η νόσος να διαγιγνώσκεται δύσκολα ή να παραμένει αδιάγνωστη για πολλά χρόνια καθυστερώντας κατ' επέκταση και την έναρξη της ΔΕΓ, με τις επακόλουθες επιπλοκές. Επίσης, η αναγνώριση της ανθεκτικής κοιλιοκάκης, που δεν ανταποκρίνεται στη ΔΕΓ, και του λεμφώματος του εντέρου, που σχετίζεται πολλές φορές με αυτή, κάνει τη νόσο ακόμα πιο πολύπλοκη και την ανάγκη για την έγκαιρη ανίχνευσή της ακόμα πιο επιτακτική.

Αλλά και για την παρακολούθηση της σωστής τήρησης της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης απαραίτητη είναι η ανεύρεση μιας μεθόδου εύκολα εφαρμόσιμης, ειδικής και ευαίσθητης που θα ανιχνεύει τυχόν παρεκκλίσεις από τη δίαιτα και θα αντικαταστήσει τη βιοψία του λεπτού εντέρου, διαδικασία επεμβατική και δυσάρεστη για τον ασθενή.

Οι ανοσολογικοί δείκτες, λοιπόν, έρχονται ως σημαντικοί αρωγοί τόσο στη διαγνωστική προσέγγιση, κυρίως της σιωπηλής, λανθάνουσας ή δυνητικής μορφής της νόσου, όσο και στην παρακολούθηση του βαθμού τήρησης της ΔΕΓ. Ενώ, όμως, πολλοί

ερευνητές συμφωνούν με όλα τα παραπάνω, εντούτοις, δεν καταλήγουν ποιος είναι ο καταλληλότερος δείκτης για τη διάγνωση και ποιος για την παρακολούθηση της νόσου.

Με την κοιλιοκάκη σχετίζονται στενά δύο είδη αντισωμάτων: ο πρώτος τύπος είναι τα αντισώματα έναντι της γλιαδίνης, του εξωγενούς αντιγόνου που πυροδοτεί τη νόσο και ο δεύτερος είναι τα αυτοαντισώματα έναντι ενδογενών πρωτεϊνών του συνδετικού ιστού (έναντι ρετικουλίνης, έναντι ενδομυίου, έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης).

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η αναζήτηση και μελέτη των ειδικών αντισωμάτων στη διάγνωση, παρακολούθηση καθώς και στην πρόγνωση της κοιλιοκάκης σε Έλληνες ενήλικες ασθενείς. Ιδιαίτερα προσπαθήσαμε να αξιολογήσουμε τα αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης σε σχέση με τα έναντι ενδομυίου και να καταλήξουμε στην κατάρτιση ενός αλγορίθμου στα πλαίσια κατευθυντήριων οδηγιών στη διερεύνηση της νόσου.

Στο γενικό μέρος, σύμφωνα με τα πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα, αναφέρονται τα γενικά χαρακτηριστικά της κοιλιοκάκης, η ιστορική αναδρομή, η επιδημιολογία, η γενετική καθώς και οι κλινικές εκδηλώσεις αυτής, κυρίως στους ενήλικες, όπως επίσης και ο συσχετισμός της με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Στη συνέχεια, περιγράφονται η ανοσοπαθογένεια της νόσου και η εργαστηριακή προσέγγισή της, που περιλαμβάνει την ιστολογική διάγνωση, τον προσδιορισμό των ανοσολογικών δεικτών και τη μέτρηση κάποιων γενικότερων παραμέτρων.

Ακολούθως, στο ειδικό μέρος περιγράφονται ο σκοπός της μελέτης, το υλικό και η μεθοδολογία, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα με τους πίνακες και ολοκληρώνοντας υπάρχει η συζήτηση, η περίληψη και η βιβλιογραφία.

Α. Γενικό Μέρος

Κεφάλαιο 1. Κοιλιοκάκη – Γενικά στοιχεία

1.1 Ορισμός

Ως κοιλιοκάκη καθορίζεται η ανοσολογικής αιτιολογίας συστηματική διαταραχή που προκαλείται από τη γλουτένη και τις σχετιζόμενες με αυτή προλαμίνες, σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα, χαρακτηρίζεται δε από την παρουσία εντερικών και εξωεντερικών κλινικών εκδηλώσεων, ειδικών αυτοαντισωμάτων, καθώς και των HLA-DQ2 ή HLA-DQ8 αντιγόνων. Οι τυπικές αλλά μη παθογνωμονικές ιστολογικές βλάβες του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου αποκαθίστανται όταν διακοπεί η λήψη γλουτένης.^{1,2}

1.2 Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη περιγραφή της νόσου αποδίδεται στον Έλληνα ιατρό Αρεταίο από την Καππαδοκία που έζησε τον 2^ο μ.Χ. αιώνα, ο οποίος περιέγραψε ένα σύνδρομο δυσασπορρόφησης με χρόνια διάρροια. Ο ασθενής που περιγράφεται είχε πόνους στο στομάχι, ήταν ατροφικός, χλωμός, αδύνατος και ανίκανος προς εργασία. Στην περιοδική διάρροια που εμφάνιζε τα κόπρανα ήταν λευκά και δύσοσμα.

Υποστήριζε ότι η αιτία του συνδρόμου αυτού ήταν η έλλειψη της θερμότητας στο στομάχι, η οποία ήταν απαραίτητη για την πέψη της τροφής και η μειωμένη ικανότητα του οργανισμού να διαμοιράζει την πεφθείσα τροφή σε όλο το σώμα με αποτέλεσμα τη διάρροια.³

Η πρώτη κλασική περιγραφή της νόσου έγινε από τον Samuel Gee σε μια διάλεξή του στο Νοσοκομείο για Άρρωστα παιδιά του Λονδίνου το 1887. Ο Gee υιοθέτησε τις περιγραφές και τους όρους του Αρεταίου, δηλώνοντας με οξυδέρκεια ότι: Αν ο ασθενής μπορεί να θεραπευθεί σε όλα, πρέπει να είναι μέσω της διατροφής.⁴

Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα όλοι πίστευαν ότι οι δύο βασικές θεραπευτικές αρχές στην κοιλιοκάκη ήταν η ξεκούραση και η κατάλληλη διαίτα, η οποία είχε ως βάση τους υδατάνθρακες (φρούτα, πατάτες ή ντομάτες), το κρέας και το γάλα. Έτσι, το 1924 ο Sidney Haas δημοσιεύει μια μελέτη κατά την οποία οι οκτώ από τους δέκα ασθενείς

τους με κοιλιόκακη θεραπεύτηκαν τρώγοντας μπανάνες, ενώ νωρίτερα το 1887 ο Vandeburg συνιστούσε δίαιτα βασιζόμενη αποκλειστικά στα φρούτα.⁵

Λίγο αργότερα, όμως, ο Ολλανδός παιδίατρος Willem-Karel Dicke, μετά από μακροχρόνιες παρατηρήσεις, περιέγραψε τη σχέση της νόσου με την κατανάλωση ορισμένων δημητριακών και συγκεκριμένα σίτου και σίκαλης, θέτοντας έτσι το βασικό λίθο για την περαιτέρω διερεύνηση και αντιμετώπιση της νόσου. Ο Dicke, το 1932, έδωσε ιδιαίτερη προσοχή στην παρουσίαση ενός περιστατικού ασθενούς του οποίου η διάρροια επιδειωνόταν μετά από την κατανάλωση ψωμιού και φρυγανιάς. Από τότε άρχισε να παρατηρεί περιστατικά και να πειραματίζεται σε δίαιτες που δεν περιείχαν σιτάρι. Στο τέλος του 2^{ου} Παγκοσμίου πολέμου το 1944-45, στο χειμώνα της πείνας, όταν στο νοσοκομείο όπου δούλευε μοίρασαν στους νεαρούς ασθενείς του κανονική πλέον τροφή, που περιείχε και ψωμί, αυτοί κλινικά χειροτέρευσαν. Ο Dicke δημοσιεύει, ύστερα από αυτή τη σημαντική παρατήρησή του, την καινούργια δίαιτα για τους ασθενείς με κοιλιόκακη, η οποία δεν περιέχει ψωμί και παράγωγα του σιταριού.

Ήταν μεγάλη τύχη που, μετά τον πόλεμο, ο Dicke συνεργάστηκε με τον Ολλανδό βιοχημικό J H van de Kamer μαζί με τον οποίο κατάφεραν να μετρήσουν επακριβώς την αποβολή του λίπους στα κόπρανα των ασθενών με κοιλιόκακη. Τελικά, οι δυό τους και με τον Weyers ανακάλυψαν ότι το μη διαλυτό στο νερό μέρος της γλουτένης, η γλιαδίνη, είναι υπεύθυνη για τη δυσασπορρόφηση στους ασθενείς με κοιλιόκακη.⁶

Το επόμενο βήμα ήταν η περιγραφή της χαρακτηριστικής ιστολογικής βλάβης του λεπτού εντέρου σε νεκροτομικό και χειρουργικό, κατ' αρχάς, υλικό (Paulley, 1954) και στη συνέχεια σε υλικό από βιοψίες δωδεκαδακτύλου και νήστιδος (Shiner 1960, Rubin 1960). Το 1957 ο ταγματάρχης W.H.Crosby και ο Heinz W.Kugler παρουσίασαν ειδική κάψουλα για τη διαστοματική βιοψία της νήστιδας η οποία ονομάστηκε κάψουλα Crosby. Από τότε καινούργιοι ορίζοντες άνοιξαν για τη διάγνωση και μελέτη της νόσου της κοιλιόκακης.⁷

1.3 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά

Στο παρελθόν η κοιλιόκακη θεωρούνταν μια σπάνια διαταραχή η οποία προσέβαλε κυρίως άτομα ευρωπαϊκής καταγωγής και χαρακτηριζόταν συνήθως από έναρξη κατά

τα πρώτα χρόνια της ζωής. Εκείνη την εποχή η διάγνωση βασιζόταν ολοκληρωτικά στην ανίχνευση τυπικών γαστρεντερικών συμπτωμάτων και στην επιβεβαίωση με βιοψία του λεπτού εντέρου.

Η διαθεσιμότητα εξαιρετικά ευαίσθητων και ειδικών ορολογικών εξετάσεων, αρχικά των αντιγλιαδινικών αντισωμάτων και αργότερα των έναντι ενδομυίου και έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης, κατέστησε δυνατή την εκτίμηση του πραγματικού επιπολασμού της κοιλιοκάκης (του αριθμού των προσβεβλημένων ατόμων ενός πληθυσμού σε μια δεδομένη χρονική στιγμή), γεγονός που κατέδειξε μια μη αναμενόμενη μεγάλη συχνότητα κλινικώς άτυπων ή ακόμα και σιωπηλών μορφών της νόσου.

Μια μεγάλη διεθνής πολυκεντρική μελέτη, που δημοσιεύτηκε πρόσφατα, μελέτησε ένα ευρύ πληθυσμιακό δείγμα σε τέσσερις διαφορετικές ευρωπαϊκές χώρες. Κατά μέσο όρο ο συνολικός επιπολασμός της κοιλιοκάκης ήταν 1% με μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ των χωρών (2% στη Φιλανδία , 1,2% στην Ιταλία , 0,9 % στη Βόρεια Ιρλανδία και 0,3% στη Γερμανία). Η μελέτη αυτή επιβεβαίωσε το γεγονός ότι πολλές περιπτώσεις κοιλιοκάκης θα παρέμεναν αδιάγνωστες χωρίς ορολογικό έλεγχο.⁸

Παρόμοιες τιμές έχουν αναφερθεί και στον πληθυσμό των Ηνωμένων Πολιτειών (1:133)⁹ και σε ανεπτυγμένες χώρες οι οποίες κατοικούνται κυρίως από άτομα ευρωπαϊκής προέλευσης όπως η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία.^{10,11}

Η παρουσία της κοιλιοκάκης επίσης έχει διαπιστωθεί και σε πολλές χώρες της Νότιας Αμερικής οι οποίες κατοικούνται κυρίως από άτομα ευρωπαϊκής προέλευσης. Σε βραζιλιάνους αιμοδότες ο επιπολασμός της νόσου κυμαίνονταν μεταξύ 1:681 και 1:214.¹²

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι μελέτες σε αιμοδότες τείνουν να υποεκτιμούν τον επιπολασμό της κοιλιοκάκης καθώς τα άτομα αυτά αντιπροσωπεύουν το πιο υγιές τμήμα του πληθυσμού και είναι κυρίως άνδρες (ενώ η κοιλιοκάκη είναι πιο συχνή στις γυναίκες).

Στην Αργεντινή οι Gomez και συνεργάτες βρήκαν ένα συνολικό επιπολασμό 1:267 σε 2000 ενηλίκους οι οποίοι συμμετείχαν σε ένα προγραμμαίο έλεγχο.¹³

Η κοιλιοκάκη όμως δεν είναι συχνή μόνο στις ανεπτυγμένες χώρες. Πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε περιοχές του αναπτυσσόμενου κόσμου παρουσιάζουν τιμές επιπολασμού που υπερκαλύπτουν τις ευρωπαϊκές, ιδιαίτερα στη Νότια Αφρική (π.χ. 0,53 % στην Αίγυπτο, 0,79% στη Λιβύη, 0,6% στην Τυνησία), στη Μέση Ανατολή (π.χ. 0,88 % στο Ιράν και 0,6% στην Τουρκία) και στην Ινδία 0,7%.¹⁴⁻¹⁹

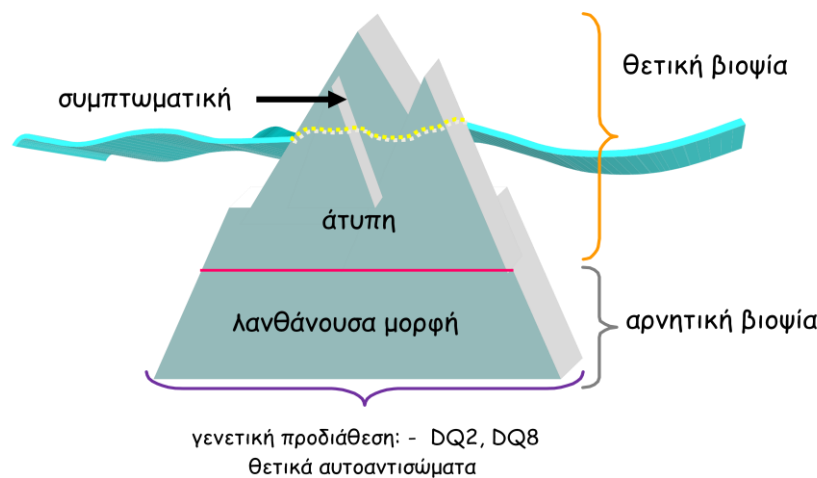
Αυτή η εκτεταμένη διάδοση δεν εκπλήσσει καθόλου, δεδομένου ότι οι αιτιολογικοί παράγοντες, τα προδιαθεσικά HLA αντιγόνα (DQ2 και DQ8) και η κατανάλωση δημητριακών που περιέχουν γλουτένη, παρουσιάζουν παγκόσμια κατανομή.²⁰

Ο πληθυσμός των Saharawi αραβο-βερβερινικής καταγωγής, που κατοικούν στην Αλγερία, έχει τον υψηλότερο επιπολασμό κοιλιοκάκης (5,6%) από όλους τους πληθυσμούς του κόσμου. Τα υψηλά ποσοστά αιμομιξίας, η υψηλή συχνότητα του HLA-DQ2 και η μεγάλη κατανάλωση γλουτένης ερμηνεύουν δυνητικά αυτό το εύρημα στο συγκεκριμένο πληθυσμό.²¹

Για τις χώρες της Άπω Ανατολής υπάρχουν ελάχιστες αναφορές. Δεδομένης της χαμηλής συχνότητας των HLA σχετιζόμενων προδιαθεσικών αντιγόνων DQ2 και DQ8 και της χαμηλής ή απούσας κατανάλωσης γλουτένης, ο μειωμένος επιπολασμός της νόσου είναι αναμενόμενος σ' αυτούς τους πληθυσμούς.

Συμπερασματικά, η συχνότητα της κοιλιοκάκης παγκοσμίως κυμαίνεται από 0,5-1% με εξαίρεση τους πληθυσμούς με πολύ χαμηλή και πολύ υψηλή κατανάλωση γλουτένης.

Η επιδημιολογία της κοιλιοκάκης γίνεται επαρκώς αντιληπτή με το μοντέλο του παγόβουνου (εικόνα 1). Ο συνολικός αριθμός των περιπτώσεων της νόσου είναι το μέγεθος του παγόβουνου, το οποίο επηρεάζεται όχι μόνο από τη συχνότητα των προδιαθεσικών γονοτύπων στον πληθυσμό αλλά και από το πρότυπο της κατανάλωσης γλουτένης.²²



Εικόνα 1: Η εικόνα του παγόβουνου: η κλινική έκβαση της αλληλεπίδρασης μεταξύ της γενετικής προδιάθεσης και της έκθεσης στη γλουτένη.

Οι τυπικές περιπτώσεις της νόσου συνήθως διαγιγνώσκονται λόγω των συμπτωμάτων που την υποδηλώνουν. Αυτές συνιστούν το ορατό τμήμα του παγόβουνου της κοιλιοκάκης που εκφράζεται με τον επιπολασμό της νόσου. Ωστόσο, για κάθε διαγνωσμένη περίπτωση κοιλιοκάκης παραμένουν αδιάγνωστες κατά μέσο όρο οκτώ, συνήθως λόγω άτυπων, μηδαμινών ή και απόντων συμπτωμάτων. Οι αδιάγνωστες αυτές περιπτώσεις, που συνιστούν το βυθιζόμενο τμήμα του παγόβουνου, παραμένουν αθεράπευτες, με αποτέλεσμα τα άτομα να εκτίθενται στον κίνδυνο μακροπρόθεσμων επιπλοκών, όπως η στειρότητα, η οστεοπόρωση ή ο καρκίνος.

Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης φαίνεται να έχει αυξητική τάση στις αναπτυγμένες χώρες. Ο συνολικός επιπολασμός της νόσου στη Φιλανδία έχει διπλασιαστεί κατά τη διάρκεια των δυο τελευταίων δεκαετιών (1,05% το 1978-80 και 1,99 % το 2000-01) και η αύξηση αυτή δεν μπορεί να αποδοθεί απλά και μόνο στην καλύτερη ανίχνευση.²³

Μια σταθερή αύξηση της επίπτωσης των αυτοάνοσων διαταραχών, καθώς και των αλλεργικών διαταραχών, έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων λίγων δεκαετιών στις βιομηχανοποιημένες χώρες. Σύμφωνα με την «υγιεινή υπόθεση» το «καθαρότερο» περιβάλλον, που υπάρχει σήμερα στις δυτικές χώρες, οδήγησε σε χαμηλότερη συχνότητα πρώιμων παιδικών λοιμώξεων και σε διαφοροποίηση του

φάσματος των μικροοργανισμών που αποικίζουν το έντερο. Οι αλλαγές αυτές θα μπορούσαν να διαφοροποιήσουν την άνοση απάντηση και να είναι υπεύθυνες για υψηλότερο κίνδυνο διάφορων αυτοάνοσων διαταραχών.²⁴

Έχει προταθεί επίσης ότι πρακτικές σίτισης των βρεφών όπως η κατανάλωση δημητριακών και ο θηλασμός καθώς και πρώιμες λοιμώξεις (π.χ. από ροταϊούς) αλλά και κοινωνικο-οικονομικοί παράγοντες μπορούν να ερμηνεύσουν αυτή την αύξηση.^{25,26}

Ένα ενδιαφέρον παράδειγμα που υποστηρίζει το ρόλο των λοιμώξεων στην πρώιμη παιδική ηλικία έρχεται από την Ρωσική Καρέλια όπου ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης είναι 5 φορές χαμηλότερος (0,2%) σε σχέση με το γειτονικό πληθυσμό της Φιλανδίας στην άλλη πλευρά των συνόρων (1%).²⁷ Αυτό μπορεί να σχετίζεται με ένα περιβάλλον που χαρακτηρίζεται από χαμηλότερη ευημερία και χαμηλότερα επίπεδα υγιεινής στην Καρέλια.

Ωστόσο, ο αυξανόμενος επιπολασμός της κοιλιοκάκης με έναρξη κατά την ενήλικη ζωή, ο οποίος παρατηρήθηκε στη μελέτη των Ηνωμένων Πολιτειών, δεν μπορεί να ερμηνευτεί από υγειονομικές αλλαγές που συμβαίνουν στην παιδική ηλικία.

Η ποσότητα και η ποιότητα της γλουτένης που καταναλώνεται, ο τύπος και η διάρκεια της ζύμωσης του σιταριού, το φάσμα των μικροοργανισμών του εντέρου και πώς αυτό αλλάζει με το χρόνο, οι εντερικές λοιμώξεις και γενικότερα οι στρεσογόνοι παράγοντες είναι όλα δυνατό να ευθύνονται για αλλαγές στην ισορροπία ανοχής –ανοσίας.^{28,29,30}

Αναφορικά με την εντερική λοίμωξη από τον ανθρώπινο εντεροϊό 12, η θεωρία της διασταυρούμενης ανοσολογικής αντίδρασης των κοινών επιτόπων του ιού και της α γλιαδίνης καθώς και η συμμετοχή του ιού αυτού στην παθογένεια της κοιλιοκάκης υποστηρίχθηκε σε αρκετές εργασίες στο παρελθόν.³¹⁻³³

Είναι όμως απαραίτητο να διερευνηθεί περισσότερο το εάν και το πώς όλοι οι προαναφερθέντες παράγοντες μπορούν να προκαλέσουν απώλεια της ανοχής στη γλουτένη. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών θα μπορούσαν να είναι καθοριστικής σημασίας για την πρόληψη της εμφάνισης όχι μόνο της κοιλιοκάκης αλλά και άλλων αυτοάνοσων διαταραχών.

Όσον αφορά τη χώρα μας δεν υπάρχουν επίσημα στοιχεία επιπολασμού της νόσου , καθώς δεν έχει εκπονηθεί κάποια σχετική μελέτη σε αντιπροσωπευτικά δείγματα του γενικού πληθυσμού. Έχουν γίνει μόνο κάποιες μεμονωμένες προσπάθειες. Έτσι σε ένα δείγμα ενηλίκων που επιλέχτηκε με συστηματική τυχαία δειγματοληψία από τον ενήλικο γενικό πληθυσμό της Θεσσαλίας ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης αναφέρεται ότι ήταν 1:558.³⁴

1.4 Γενετικοί παράγοντες

Η κοιλιοκάκη χαρακτηρίζεται από σημαντική γενετική προδιάθεση. Προσβάλλει το 75% των μονοζυγωτικών διδύμων³⁵ και το 20% των συγγενών πρώτου βαθμού.³⁶

Η πρώτη συσχέτιση μεταξύ αντιγόνων HLA και κοιλιοκάκης δημοσιεύθηκε το 1972 και αφορούσε το αντιγόνο HLA-B8. Αργότερα έγινε φανερό ότι η νόσος παρουσίαζε ισχυρότερη συσχέτιση με το αντιγόνο HLA-DR3 και ότι η αυξημένη συχνότητα του HLA-B8 σε άτομα με κοιλιοκάκη ήταν δευτερογενής και οφειλόταν στην ισχυρή ανισορροπία σύνδεσης που παρουσιαζόταν μεταξύ των αντιγόνων HLA-B8 και DR3. Όταν έγινε γνωστή η ύπαρξη των HLA-DQ μορίων έγινε πλέον σαφής συσχετισμός μεταξύ αυτών και της νόσου της κοιλιοκάκης. Έτσι προσδιορίστηκε ότι οι κύριοι καθοριστικοί παράγοντες γενετικής ευαισθησίας στην κοιλιοκάκη είναι τα αντιγόνα DQ2 και DQ8 του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης II (HLA II) το οποίο εδράζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 6. Το 95% περίπου των ασθενών με κοιλιοκάκη φέρουν το ετεροδιμερές αντιγόνο HLA DQ2 ενώ οι περισσότεροι από τους υπόλοιπους ασθενείς φέρουν το ετεροδιμερές αντιγόνο HLA-DQ8.^{37,38}

Το αντιγόνο DQ2 κωδικοποιείται από τα αλληλία DQA1*05, DQB1*02 τα οποία σχετίζονται με τον απλότυπο DR3-DQ2 (όταν κωδικοποιείται στο ίδιο χρωμόσωμα σε διάταξη cis) ή με τον απλότυπο DR5/DR7-DQ2 (όταν κωδικοποιείται και στα δύο χρωμοσώματα σε διάταξη trans). Το αντιγόνο DQ8 κωδικοποιείται από τα αλληλία DQA1*0301, DQB1*0302.^{39,40}

Ο λόγος που τα ανωτέρω HLA αντιγόνα σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της κοιλιοκάκης είναι ότι έχουν αυξημένη συγγένεια με τα τροποποιημένα από την

ιστική τρανσγλουταμινάση πεπτιδία της γλουτένης τα οποία και παρουσιάζουν στα CD4 λεμφοκύτταρα πυροδοτώντας την αυτοάνοση διαδικασία.⁴¹

Σε μια μελέτη 437 ασθενών με κοιλιοκάκη, που έγινε στη Ρώμη από τους Megiorni και συν., περιγράφεται ότι ο γενετικός κίνδυνος για την κοιλιοκάκη καθορίζεται από την παρουσία των αλληλίων DQA1*05, DQB1*02, DQB1*0302 και τους συνδυασμούς τους, καθώς και από τον αριθμό των αντιγράφων DQB1*02. Οι διάφοροι συνδυασμοί των τριών αλληλίων καθορίζουν μια διαβάθμιση του κινδύνου. Οι περισσότεροι ασθενείς με κοιλιοκάκη εκφράζουν το αντιγόνο DQ2, όπου ο υψηλότερος κίνδυνος της ομόζυγης σε σχέση με την ετερόζυγη κατάσταση του αλληλίου DQB1*0201 επιβεβαιώνει την ποσοτική επίδραση αυτού του αλληλίου στην ευαισθησία για τη νόσο.⁴²

Όπως έχει βρεθεί και σε άλλες μελέτες οι HLA DQ2 ομοζυγώτες έχουν πενταπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου σε σχέση με τους ετεροζυγώτες και παρουσιάζουν υψηλότερο ποσοστό επιπλοκών.⁴³

Η κοιλιοκάκη είναι μια πολυγενετική διαταραχή, πράγμα που σημαίνει ότι η έκφραση των μορίων HLA-DQ2 ή HLA-DQ8 είναι μεν απαραίτητη, αλλά δεν είναι αρκετή για να προκληθεί νόσος. Έτσι, ενώ το αντιγόνο HLA-DQ2 φέρεται από το 30-40 % του λευκού πληθυσμού η νόσος αναπτύσσεται μόνο στο 1%. Η παρουσία των ανωτέρω HLA αντιγόνων ενισχύει τη διάγνωση της νόσου, ενώ η απουσία τους την αποκλείει (αρνητική προγνωστική αξία 100%).

Σύμφωνα με διεθνείς οδηγίες η HLA τυποποίηση ενδείκνυται :

- σε περίπτωση διαγνωστικού διλήμματος (για παράδειγμα σε περίπτωση αμφίβολου ή αντιφατικού αποτελέσματος ορολογικών μεθόδων και βιοψίας),
- σε άτομα που ανήκουν σε κατηγορίες υψηλού κινδύνου, όπως οι συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με κοιλιοκάκη, προκειμένου να αποφασιστεί το αν θα πρέπει να υποβληθούν σε περαιτέρω έλεγχο,
- σε ασθενείς με αυτοάνοσες παθήσεις που σχετίζονται με την κοιλιοκάκη.

Εκτός από την περιοχή HLA υπάρχουν και άλλες γενετικές περιοχές που σχετίζονται με την κοιλιοκάκη, αλλά και με άλλες αυτοάνοσες παθήσεις.⁴⁴ Οι περιοχές αυτές περιλαμβάνουν γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην ανοσιακή

απάντηση, όπως τα μόρια CTLA4, IL2, IL21, CCR3, IL12A, IL-18RAP, RGS1, SH2B3 και TAGAP.⁴⁵ Η συμβολή, όμως, του καθενός από αυτά στη γενετική της νόσου είναι σχετικά μικρή συγκριτικά με αυτή των αντιγόνων HLA-DQ2 και HLA-DQ8.

Η περιοχή 2q33 η οποία περιέχει το γονίδιο CTLA4 σχετίζεται με αυξημένη γενετική ευπάθεια στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι και στην αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα.⁴⁶ Η περιοχή 4q27 η οποία φιλοξενεί τα γονίδια που κωδικοποιούν τις ιντερλευκίνες IL2 και IL21 παρουσιάζει την ισχυρότερη συσχέτιση με την κοιλιοκάκη, η οποία όμως και πάλι δεν ξεπερνά το 1% του γενετικού κινδύνου για τη νόσο.^{47,48}

Συμπερασματικά, η κοιλιοκάκη είναι ένα εξαιρετικό μοντέλο μελέτης της συμβολής των γενετικών παραγόντων στις αυτοάνοσες διαταραχές: ο περιβαλλοντικός παράγοντας που πυροδοτεί τη νόσο είναι γνωστός (η γλουτένη), παίζουν σημαντικό ρόλο συγκεκριμένα HLA αντιγόνα (HLA-DQ2, HLA-DQ8), ενώ εμπλέκονται επίσης και non HLA γονίδια πολλά από τα οποία παρατηρούνται και σε άλλες αυτοάνοσες παθήσεις.

Κεφάλαιο 2: Κλινικές εκδηλώσεις

2.1 Κλινικές μορφές της νόσου

Η κλινική εικόνα της κοιλιοκάκης είναι ετερογενής, καθώς τα συμπτώματα ποικίλουν εξαιρετικά από ασθενή σε ασθενή και εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την έκταση και τη σοβαρότητα της βλάβης του λεπτού εντέρου.

Λόγω λοιπόν της ποικιλομορφίας των κλινικών σημείων και της έλλειψης ειδικότητας των συμπτωμάτων η κλινική διάγνωση της κοιλιοκάκης δεν τίθεται εύκολα.

Οι ενήλικες ασθενείς, ιδιαίτερα, σπάνια παρουσιάζουν απώλεια βάρους ή συμπτώματα ενδεικτικά δυσαπορρόφησης. Οι περισσότεροι αναφέρουν μη ειδικές ή ήπιες ενοχλήσεις από το γαστρεντερικό, ενώ ένα σημαντικό ποσοστό από αυτούς δεν αναφέρουν καθόλου γαστρεντερικά συμπτώματα και παρουσιάζονται μόνο με εξωεντερικές εκδηλώσεις.

Σε μελέτες που έγιναν στην Αγγλία, τη Σκωτία, τον Καναδά και τις Ηνωμένες Πολιτείες σχεδόν οι μισοί από τους νεο-διαγνωσθέντες ασθενείς με κοιλιοκάκη δεν παρουσιάζουν γαστρεντερικά συμπτώματα.^{49-51,59}

Στους ενήλικες η κορυφή της νόσου παρατηρείται συνήθως στην τέταρτη και πέμπτη δεκαετία της ζωής για τις γυναίκες και τους άνδρες αντίστοιχα.^{52,53} Σε αντίθεση με την 1/1 αναλογία ως προς το φύλο η οποία παρατηρείται στα παιδιά, στους ενήλικες η νόσος διαγιγνώσκεται δυο φορές συχνότερα στις γυναίκες.⁵⁴

Είναι, επίσης, ενδιαφέρον ότι η κοιλιοκάκη αναγνωρίζεται, πλέον, όλο και συχνότερα, στους ηλικιωμένους όπου παρατηρείται πάλι η αναλογία 1/1 ως προς το φύλο.⁵⁵ Η αναφερόμενη καθυστέρηση στη διάγνωση κυμαίνεται μεταξύ 4,5 και 9 έτη,⁵⁶ ενώ για κάθε ενήλικα ασθενή που διαγιγνώσκεται εκτιμάται ότι οκτώ ασθενείς με κοιλιοκάκη παραμένουν αδιάγνωστοι.⁵⁷

Με βάση τα κλινικά, ιστοπαθολογικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά η κοιλιοκάκη μπορεί να ταξινομηθεί στις ακόλουθες μορφές: κλασσική (τυπική), υποκλινική (άτυπη), σιωπηλή, λανθάνουσα και δυνητική.^{2,58}

Η **κλασσική** μορφή χαρακτηρίζεται από το τυπικό σύνδρομο δυσαπορρόφησης με διάρροια, μετεωρισμό, απώλεια βάρους, καταβολή, έμετο, κοιλιακό άλγος και τη

χαρακτηριστική ιστολογική βλάβη που προσβάλλει ένα μεγάλο τμήμα του λεπτού εντέρου. Λόγω της αυξημένης, πλέον, συχνότητας πρώιμης διάγνωσης η μορφή αυτή παρατηρείται όλο και σπανιότερα. Ωστόσο, υπάρχουν ακόμη ασθενείς με καχεξία, που χαρακτηρίζεται από μυική ατροφία και κράμπες, σημαντική υπολευκωματιναιμία, ηλεκτρολυτικές και μεταβολικές διαταραχές, που οδηγούν σε τετανία λόγω υποασβεστιαϊμίας και σε αυτόματα κατάγματα λόγω οστεοπόρωσης.^{59,60}

Στην **υποκλινική** μορφή οι γαστρεντερικές εκδηλώσεις μπορεί να είναι ήπιες ή απούσες και συχνά επισκιάζονται από εξωεντερικές εκδηλώσεις, ιδιαίτερα σε ασθενείς με ήπιες βλεννογονικές αλλοιώσεις, οι οποίες περιορίζονται στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου. Οι ασθενείς αυτής της ομάδας παρουσιάζουν σιδηροπενική αναιμία, ανεπάρκεια φυλλικού οξέος και αιμορραγική διάθεση λόγω ανεπάρκειας βιταμίνης Κ.⁶¹ Οι διαταραχές ανάπτυξης αποτελούν σημαντικό κλινικό σημείο της κοιλιοκάκης στην παιδική ηλικία και το χαμηλό ανάστημα είναι ένα πιθανό κλινικό σημείο της νόσου στους ενήλικες.⁶² Επίσης, οι διαταραχές της αδαμαντίνης των δοντιών και η αφθώδης στοματίτιδα μπορούν να υποδηλώνουν υποκλινική νόσο.^{63,64}

Μερικές φορές οι ασθενείς με κοιλιοκάκη έχουν μια εξαρτώμενη από τη γλουτένη υποκινητικότητα που αφορά ολόκληρο το γαστρεντερικό σωλήνα και οι κλινικές της εκδηλώσεις μπορεί να είναι δυσπεψία, αναγωγές, δυσφαγία ή συχνότερα σοβαρή δυσκοιλιότητα.⁶⁵ Άλλοτε πάλι, το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, το οποίο είναι συχνό στο γενικό πληθυσμό, μπορεί να κρύψει μια εξαρτώμενη από τη γλουτένη εντεροπάθεια.⁶⁶

Η άτυπη μορφή της κοιλιοκάκης μπορεί, επίσης, να εκδηλωθεί μόνο με ψυχιατρικά και νευρολογικά συμπτώματα. Ως ψυχιατρικά συμπτώματα έχουν αναφερθεί κατάθλιψη και άγχος,⁶⁷ ενώ στα νευρολογικά συγκαταλέγεται ένας αριθμός ιδιοπαθών νευρολογικών διαταραχών όπως επιληψία, παρεγκεφαλιδική αταξία, διαταραχές μνήμης/προσοχής, ατροφία εγκεφάλου, περιφερική νευροπάθεια, νόσος Friedreich's και σκλήρυνση κατά πλάκας.⁶⁸⁻⁷²

Η δυσλειτουργία του αναπαραγωγικού συστήματος μπορεί να αποτελεί σημείο κοιλιοκάκης και στα δύο φύλα. Στις γυναίκες υπάρχει μια τάση όψιμης εμμηναρχής,

αμηνόρροιας, πρώιμης εμμηνόπαυσης και στειρότητας που ανταποκρίνονται θετικά στην αποχή από τη γλουτένη.⁷³

Επιπλέον, παρατηρείται μεγαλύτερη συχνότητα καθ' ἑξιν αποβολών (κυρίως στους τρεις πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης), θνησιγένειας και νεογνικών θανάτων.⁷⁴ Στους άνδρες εκδηλώσεις κοιλιοκάκης μπορεί να αποτελούν η ανικανότητα, η μειωμένη σεξουαλική δραστηριότητα, η στειρότητα όπως, επίσης, και οι ανωμαλίες στη μορφολογία και την κινητικότητα του σπέρματος.^{75,76}

Μια ακόμη εκδήλωση της άτυπης κοιλιοκάκης είναι η αναφερόμενη ηπατίτιδα της κοιλιοκάκης, που χαρακτηρίζεται από μια εξαρτώμενη από τη γλουτένη αύξηση των τρανσαμινασών του ορού χωρίς διαταραχή καμιάς άλλης ηπατικής δοκιμασίας.⁷⁷ Τόσο οι τιμές των τρανσαμινασών όσο και η ήπια ηπατική ιστολογική βλάβη επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα με την απομάκρυνση της γλουτένης από το διαιτολόγιο.

Η **σιωπηλή** μορφή της νόσου (silent) αφορά ασυμπτωματικούς ασθενείς στους οποίους συμπεριλαμβάνονται συνήθως οι πρώτου βαθμού συγγενείς των ασθενών με κοιλιοκάκη,⁷⁸ καθώς και άτομα του γενικού πληθυσμού που αναγνωρίζονται μετά από ορολογικό έλεγχο.⁷⁹ Στους ασθενείς αυτούς ανευρίσκονται τα ειδικά αντισώματα για την κοιλιοκάκη, HLA απλότυποι συμβατοί με τη νόσο, αλλά και οι χαρακτηριστικές ιστολογικές αλλοιώσεις οι οποίες συνήθως περιορίζονται στο βλεννογόνο του εγγύς τμήματος του λεπτού εντέρου. Δεν υπάρχει όμως συμπτωματολογία και κλινικά σημεία που να θέτουν υποψία για την κοιλιοκάκη.

Η **δυσνητική** μορφή της νόσου (potential) αποτελεί μια κατάσταση που παρατηρείται όλο και συχνότερα και η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία ειδικών αυτοαντισωμάτων στον ορό (EmA ή αντι-tTG), HLA απλοτύπων συμβατών με τη νόσο, αλλά από φυσιολογική αρχιτεκτονική των λαχνών του λεπτού εντέρου. Λίγες μόνο φορές παρατηρούνται κάποιες πολύ μικρές ιστολογικές αλλοιώσεις όπως αυξημένος αριθμός των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων (IEL) με υπερέκφραση του γδ υποδοχέα των T λεμφοκυττάρων καθώς και αντιγλιαδινικά αντισώματα IgA και IgG στις εντερικές εκκρίσεις ή και εναποθέσεις αντισωμάτων έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης IgA στον εντερικό βλεννογόνο.^{80,81}

Οι ασθενείς με τη δυνητική μορφή είναι συχνά ασυμπτωματικοί ή μπορεί να έχουν ήπια γαστρεντερικά συμπτώματα που μοιάζουν με αυτά του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου όπως κοιλιακό άλγος, ενώ μελλοντικά μπορεί είτε να εμφανίσουν είτε όχι τη νόσο της κοιλιοκάκης σε κάποια άλλη μορφή.

Η **λανθάνουσα** μορφή (latent) αφορά άτομα που κάποια στιγμή στη ζωή τους εμφάνισαν κοιλιοκάκη. Χαρακτηρίζεται από την παρουσία HLA απλοτύπων συμβατών με κοιλιοκάκη χωρίς όμως την ύπαρξη εντεροπάθειας. Συμπτώματα της νόσου και ειδικά αυτοαντισώματα μπορεί είτε να υπάρχουν είτε όχι.⁽²⁾

Η πλειοψηφία των ασθενών με κοιλιοκάκη αναφέρουν γρήγορη κλινική βελτίωση μετά την έναρξη της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης με τα συμπτώματα να υποχωρούν μέσα σε μερικές εβδομάδες. Όμως σε ένα ποσοστό 5-30% των ασθενών τα συμπτώματα παραμένουν ακόμα και 6-12 μήνες μετά την έναρξη της ΔΕΓ. Τα άτομα αυτά θεωρούνται ότι έχουν κοιλιοκάκη που δεν ανταποκρίνεται στη ΔΕΓ.

Στο 90% αυτών των περιπτώσεων υπάρχει αναγνωρίσιμη αιτία. Σε ορισμένους ασθενείς πρόκειται για λανθασμένη διάγνωση νόσων του εντέρου με παραπλήσια ιστολογική εικόνα, σε άλλους συνυπάρχουν με την κοιλιοκάκη άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως δευτεροπαθής δυσανεξία λακτόζης, παγκρεατική ανεπάρκεια, μικροβιακή υπερανάπτυξη και λειτουργικές διαταραχές στα πλαίσια συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου, ενώ στους περισσότερους η αιτία της μη ανταπόκρισης είναι η εκούσια ή ακούσια μη συμμόρφωση με τη ΔΕΓ.⁸²

Το 10%, όμως, των ασθενών με μη ανταποκρινόμενη νόσο έχουν πραγματικά **ανθεκτική κοιλιοκάκη**. Πρόκειται για ασθενείς οι οποίοι παρά την αυστηρή τήρηση ΔΕΓ εξακολουθούν να έχουν κλινική συμπτωματολογία που ταυτόχρονα σχετίζεται με σημαντικές ιστολογικές αλλοιώσεις ένα χρόνο μετά την έναρξη της δίαιτας. Η ανθεκτική κοιλιοκάκη ταξινομείται σε τύπου I και τύπου II με βάση την ιστολογική εικόνα.

Η τύπου II θεωρείται προνεοπλασματική κατάσταση και το 50% των ασθενών αναπτύσσουν λέμφωμα του εντέρου (EATL Enteropathy associated T-cell lymphoma) μέσα σε πέντε χρόνια από τη διάγνωση.^{83,84}

Σε πρόσφατες μελέτες ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης EALT σε ασθενείς με κοιλιοκάκη, που δεν αντιμετωπίζονται θεραπευτικά, κυμαίνεται περίπου στο 3 είναι δηλαδή πολύ μικρότερος σε σχέση με προηγούμενες μελέτες.⁸⁵ Αυτό οφείλεται, πιθανότατα, στο γεγονός ότι ο επιπολασμός της άτυπης ή σιωπηλής μορφής της νόσου, στον οποίο βασίζονται οι πρόσφατες έρευνες, είναι πολύ υψηλότερος σε σχέση με την κλασσική μορφή της νόσου στην οποία επικεντρώνονταν οι παλαιότερες.

Τέλος, μια νοσολογική οντότητα που σχετίζεται άμεσα με την κοιλιοκάκη είναι η **ερπητοειδής δερματίτιδα**. Πρόκειται για μια δερματική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από έντονα κνησμώδες φυσαλιδοβλατιδώδες εξάνθημα, το οποίο εντοπίζεται συμμετρικά στις εκτατικές επιφάνειες των άκρων καθώς και στους γλουτούς, τον κορμό, τον αυχένα και το κρανίο.⁸⁶

Όλοι οι ασθενείς με ερπητοειδής δερματίτιδα παρουσιάζουν εντερική βλάβη εξαρτώμενη από τη γλουτένη η οποία δεν διακρίνεται από αυτή της κοιλιοκάκης και μπορεί να εκδηλώνεται με ήπια συμπτώματα κοιλιοκάκης ή να είναι ασυμπτωματική. Με την αφαίρεση της γλουτένης από το διαιτολόγιο υποστρέφουν όχι μόνο οι εντερικές, αλλά και οι δερματικές βλάβες στους περισσότερους ασθενείς.

Η διάγνωση της ερπητοειδούς δερματίτιδας με άμεσο ανοσοφθορισμό είναι επαρκής για την έναρξη δίαιτας ελεύθερη γλουτένης, ενώ η παρουσία θετικών αυτοαντισωμάτων έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης στα πλαίσια ερπητοειδούς δερματίτιδας υποσημαίνει σημαντική ατροφία των εντερικών λαχνών. Η ιστική τρανσγλουταμινάση-2 παρουσιάζει 64% ομολογία με την επιδερμική τρανσγλουταμινάση ή οποία αποτελεί το αυτοαντιγόνο-στόχο στην ερπητοειδή δερματίτιδα.⁸⁷

2.2 Συσχετισμός με άλλα νοσήματα

Ισχυρή συσχέτιση με την κοιλιοκάκη παρουσιάζουν πολλές άλλες παθολογικές καταστάσεις όπως:

- αυτάνοσες διαταραχές (ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης τύπου Ι, θυρεοειδοπάθειες, αυτοάνοση ηπατίτιδα, πρωτοπαθής χολική κίρρωση, πρωτοπαθής

σκληρυντική χολαγγειίτιδα, αλωπεκία, λεύκη, νόσος Addison, σύνδρομο Sjögren, IgA νεφροπάθεια και ανεπάρκεια IgA).⁸⁸⁻⁹⁸

- ιδιοπαθείς διαταραχές (πρωτοπαθής διατατική μυοκαρδιοπάθεια, ατοπία, φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου)⁹⁹⁻¹⁰¹

και

- χρωμοσωμικές διαταραχές (σύνδρομο Down ,Turner και Williams)¹⁰²⁻¹⁰³

Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης στους πληθυσμούς των ατόμων με τις διάφορες σχετιζόμενες με αυτή νόσους φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 1)

Πίνακας 1 : Επιπολασμός κοιλιοκάκης στις σχετιζόμενες με αυτή νόσους

Σχετιζόμενη νόσος	Επιπολασμός κοιλιοκάκης (%)
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1	4-10
IgA ανεπάρκεια	7
Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	4-5
Σύνδρομο Sjogren	4-12
Σύνδρομο Down	5-10
Νόσος Addison	5
Αυτοάνοση ηπατίτιδα	3-6
Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	0-6
Πολλαπλή αυτοάνοση διαταραχή	10
IgA-σπειραματονεφρίτιδα	0-4
Σαρκοείδωση	4

Στις ανωτέρω ομάδες ασθενών, συνιστάται να υπάρχει υψηλός βαθμός κλινικής υποψίας και χαμηλός ουδός ελέγχου για τη νόσο.

Η σημασία της διάγνωσης των υποκλινικών μορφών κοιλιοκάκης που σχετίζονται με αυτές τις διαταραχές είναι διπλή, καθώς η ΔΕΓ δεν προλαμβάνει μόνο τις κλινικές εκδηλώσεις και τις επιπλοκές της κοιλιοκάκης αλλά μερικές φορές βελτιώνει και τα συμπτώματα των σχετιζόμενων διαταραχών.¹⁰⁴

Η συνύπαρξη της κοιλιοκάκης με το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 είναι αρκετά συχνή. Ενώ υπάρχει μια γενετική βάση για την ευαισθησία στην εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, δεν υπάρχει κάποιος ειδικός γονότυπος που να οδηγεί αναπόφευκτα στην εμφάνιση της νόσου. Έχει βρεθεί ότι ο πολυμορφισμός στα γονίδια HLA του

μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας στο χρωμόσωμα 6 ευθύνεται για το 50% του γενετικού κινδύνου. Ο γονότυπος DR3/DR4 ενέχει τον υψηλότερο κίνδυνο για την εμφάνιση της νόσου ενώ ακολουθεί η ομοζυγωτία DR4 και DR3. Έχει βρεθεί επίσης ότι ο γενετικός τόπος HLA-DQ σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για διαβήτη.¹⁰⁵ Ιδιαίτερα τα αντιγόνα DQ2 και DQ8, είναι καθοριστικός παράγοντας στην προδιάθεση για την εμφάνισή του. Σχεδόν το 90% των ασθενών αυτών φέρουν τα αντιγόνα DQ2 ή DQ8 σε ποσοστό δηλαδή πολύ μεγαλύτερο συγκρινόμενο με αυτό του γενικού πληθυσμού που είναι 40%.¹⁰⁶

Ο γονότυπος που προδιαθέτει περισσότερο για την εμφάνιση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 είναι ο DR3-DQ2 και DR4-DQ8. Όμως ο DR3-DQ2 έχει πολύ ισχυρή συσχέτιση με την κοιλιοκάκη και έτσι η ομοζυγωτία DR3-DQ2 στον πληθυσμό των ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 δίνει πιθανότητα 33% για την εμφάνιση αντι-tTG αντισωμάτων.¹⁰⁷

Υπάρχουν όμως και non HLA γονίδια που παίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στην προδιάθεση για διαβήτη όσο και για άλλες αυτοάνοσες νόσους όπως τα MIC-A, PTPN22, CTLA-4.¹⁰⁸

Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης στον πληθυσμό των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 ποικίλει στις διάφορες μελέτες και κυμαίνεται από 4.0% έως 10.0%.¹⁰⁹⁻¹¹⁵

Στους ασθενείς αυτούς ο διαβήτης διαγιγνώσκεται συνήθως πρώτα, ενώ η διάγνωση της κοιλιοκάκης προηγείται μόνο στο 10-25% των περιπτώσεων.^{116,117} Επίσης παρότι στους περισσότερους ασθενείς με διαβήτη η νόσος της κοιλιοκάκης διαδράμει ασυμπτωματικά, υποκλινικά ή με άτυπες κλινικές εκδηλώσεις,¹¹⁸ οι καινούργιες περιπτώσεις συνήθως διαγιγνώσκονται έγκαιρα γιατί ο ορολογικός έλεγχος για την κοιλιοκάκη συμπεριλαμβάνεται στα πρωτόκολλα που υπάρχουν παγκοσμίως για την παρακολούθηση των ασθενών αυτών.

Άλλη μια νόσος, που πολλές φορές συνυπάρχει με την κοιλιοκάκη, είναι η εκλεκτική IgA ανεπάρκεια η οποία είναι η πιο συχνή πρωτοπαθής ανοσοανεπάρκεια στους ανθρώπους με επίπτωση 1:400-500.^{119,120} Γενετικές μελέτες έχουν δείξει ότι η ευπάθεια στη νόσο σχετίζεται με τον απλότυπο HLA-A1, Cw7, B8, DR3, DQ2.¹²¹

Αν και οι περισσότεροι ασθενείς με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια δεν έχουν εμφανή κλινική συμπτωματολογία, μια ποικιλία από λοιμώξεις, αλλεργίες και αυτοάνοσες διαταραχές μπορούν να συσχετιστούν με τη νόσο.

Μια από αυτές είναι η κοιλιοκάκη, που επίσης σχετίζεται με τα HLA αντιγόνα DQ2 και DQ8. Ο κίνδυνος εμφάνισης κοιλιοκάκης στους ασθενείς με IgA ανεπάρκεια είναι 10-20 φορές υψηλότερος σε σχέση με το γενικό πληθυσμό.¹²²

Η κλινική πορεία και το θεραπευτικό αποτέλεσμα δε διαφέρουν σημαντικά ανάμεσα στους IgA επαρκείς και στους IgA ανεπαρκείς ασθενείς με κοιλιοκάκη.¹²³

Ωστόσο, η ορολογική ανίχνευση και παρακολούθηση των ασθενών με κοιλιοκάκη και IgA ανεπάρκεια είναι πιο δύσκολη, καθώς οι ασθενείς αυτοί είναι οροαρνητικοί με τις κλασσικές μεθόδους ανίχνευσης IgA αντισωμάτων έναντι ενδομυίου, ρετικουλίνης και ιστικής τρανσγλουταμινάσης. Στους ασθενείς αυτούς είναι απαραίτητη η ανίχνευση αντισωμάτων τάξεως IgG. Τα αντιγλιαδινικά αντισώματα IgG χαρακτηρίζονται από χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Δε συμβαίνει όμως το ίδιο για τα IgG αντισώματα έναντι ενδομυίου και ιστικής τρανσγλουταμινάσης για τα οποία οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αξιόπιστοι ορολογικοί δείκτες κοιλιοκάκης στους ασθενείς με IgA ανεπάρκεια^{124,125}

Επιπλέον αξιοσημείωτο είναι ότι οι ασθενείς με IgA ανεπάρκεια είναι επιρρεπείς και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις του εντέρου που μπορούν να μιμηθούν την κοιλιοκάκη, όπως οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου ή οι χρόνιες παρασιτικές λοιμώξεις ιδιαίτερα η λαμβλίαση.

Υπάρχει, επίσης, σημαντική συσχέτιση μεταξύ κοιλιοκάκης και αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας (νόσου Graves και θυρεοειδίτιδας Hashimoto).¹²⁶

Σε μια μελέτη των Mainardi και συνεργατών σε εκατό ασθενείς με αυτοάνοση θυρεοειδοπάθεια βρέθηκε ότι ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης ήταν 2% και ότι ενώ οι ορολογικοί δείκτες της κοιλιοκάκης μειώθηκαν σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα μετά από 6 μήνες ΔΕΓ, τα επίπεδα των θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων δεν μεταβλήθηκαν.¹²⁷

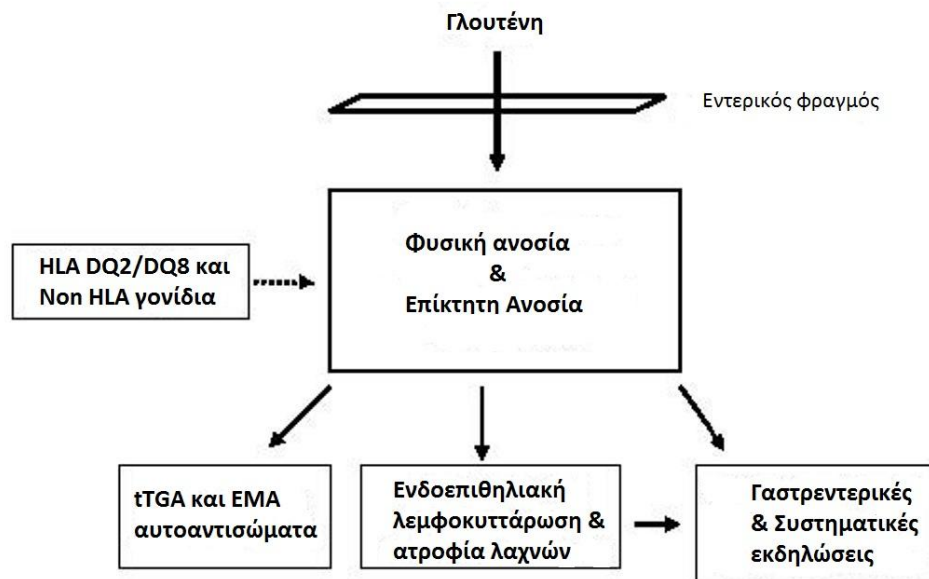
Η συσχέτιση αυτή πιστεύεται ότι κατά ένα μέρος οφείλεται σε κοινή γενετική προδιάθεση. Τα αντιγόνα HLA DQ2 και DQ8 παρουσιάζουν ασθενή συσχέτιση με την

αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Hashimoto, ενώ η συσχέτιση της νόσου Graves με το αντιγόνο DQ2 είναι λιγότερο σαφής.¹²⁸

Εκτός της περιοχής HLA αναφέρεται ότι τόσο η κοιλιοκάκη όσο και η αυτοάνοση θυρεοειδοπάθεια σχετίζονται με το γονίδιο που κωδικοποιεί το αντιγόνο CTLA-4.⁴⁶

Κεφάλαιο 3: Ανοσοπαθογένεια

Η πολύπλοκη ανοσοπαθογένεια της κοιλιοκάκης, στην οποία συμμετέχουν η φυσική και η επίκτητη ανοσία και εμπλέκονται γενετικοί παράγοντες, HLA και non HLA γονίδια, αλλά και περιβαλλοντικοί, με κυρίαρχο τη γλουτένη των τροφών, φαίνεται σχηματικά στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 2). Το ένζυμο της ιστικής τρανσγλουταμινάσης 2 αναγνωρίστηκε ως το κύριο αυτοαντιγόνο που επάγει ανοσιακή απάντηση στον εντερικό βλεννογόνο με επακόλουθο τις χαρακτηριστικές ιστολογικές βλάβες και την παραγωγή αυτοαντισωμάτων.



Εικόνα 2: Σχηματική απόδοση της παθογένειας της κοιλιοκάκης (Rallabhandi: Journal of AOAC international, VOL 95, No 2, 2012).

3.1 Εκλυτικός παράγοντας – γλουτένη

Η γλουτένη είναι ένα ετερογενές, δομικό, αποθηκευτικό σύμπλεγμα υδατοδιαλυτών και μη πρωτεϊνών, που βρίσκεται στο αμυλώδες ενδόσπερμα των δημητριακών

σπόρων, όπως στο σιτάρι, στη σίκαλη, στο κριθάρι και ορισμένα υβρίδια αυτών. Η βρώμη περιέχει και αυτή κάποιες πρωτεΐνες που είναι όμως βλαβερές μόνο σε ορισμένους και όχι σε όλους τους ασθενείς με κοιλιοκάκη.

Η γλουτένη έχει μικρή θρεπτική αξία γιατί στο μεγαλύτερο μέρος της δεν περιέχει απαραίτητα αμινοξέα, όπως η λυσίνη και η τρυπτοφάνη, αλλά κατέχει σπουδαίο ρόλο στη βιομηχανία των τροφών. Έτσι, χρησιμοποιείται ως απαραίτητο συστατικό για το σχηματισμό της ζύμης, ως υποκατάστατο του κρέατος σε τροφές φυτοφάγων, αλλά και ως σταθεροποιητικός παράγοντας σε προϊόντα που κάποιος δε θα μπορούσε να φανταστεί όπως παγωτά, σούπες, σάλτσες, καραμέλες. Η μέση ημερήσια ποσότητα κατανάλωσης γλουτένης από ένα φυσιολογικό άτομο είναι 15-20 γραμμάρια.¹²⁹

Ανάλογα με το μοριακό τους βάρος οι πρωτεΐνες της γλουτένης χωρίζονται σε μεγάλου μοριακού βάρους (HMW που περιέχουν 600-800 αμινοξέα), μεσαίου μοριακού βάρους (MMW που περιέχουν 400-500 αμινοξέα) και χαμηλού μοριακού βάρους (LMW με 250-300 αμινοξέα). Το 50-70% των αμινοξέων που αποτελούν τη γλουτένη είναι η γλουταμίνη και η προλίνη ενώ σε πάρα πολύ μικρό ποσοστό βρίσκεται η λυσίνη και η τρυπτοφάνη. Λόγω της αυξημένης περιεκτικότητάς της σε προλίνη η γλουτένη δύσκολα αποδομείται από τα ένζυμα του πεπτικού σωλήνα με αποτέλεσμα μεγάλα πεπτίδια αυτής να φτάνουν στην επιφάνεια του βλενογόννου του λεπτού εντέρου διεγείροντας ανοσολογικούς μηχανισμούς.

Η έκπλυση της γλουτένης με 70% υδατικό διάλυμα αλκοόλης αποδίδει ένα αδιάλυτο κλάσμα τις γλουτενίνες και ένα διαλυτό τις προλαμίνες που είναι και το κατεχοχίνη τοξικό συστατικό που προκαλεί την κοιλιοκάκη. Ανάλογα με την ηλεκτροφορητική τους ικανότητα οι προλαμίνες χωρίζονται σε α, β, γ και ω ισομερή. Οι προλαμίνες ονομάζονται γλιαδίνες στο σιτάρι, σεκαλίνες στο κριθάρι, χορδεΐνες στο καλαμπόκι και αβενίνες στη βρώμη.¹³⁰

Έχουν εντοπισθεί πάνω από δεκαπέντε διαφορετικά πεπτίδια γλουτένης τα οποία αναγνωρίζονται από τα T κύτταρα στα άτομα με κοιλιοκάκη. Αυτά τα πεπτίδια φαίνεται να έχουν ένα σχετικά σταθερό επαναλαμβανόμενο μοτίβο με την αλληλουχία

QREQPFP, όπου το τριπεπτίδιο PEQ (προλίνη-γλουταμινικό οξύ-γλουταμίνη) είναι ο κύριος αντιγονικός επίτοπος.

Τα ανοσογονικά πεπτίδια τα οποία ανήκουν κυρίως στις α γλιαδίνες, στις γ γλιαδίνες και στις γλουτενίνες, τροποποιούνται από το ένζυμο της ιστικής τρανσγλουταμινάσης η οποία μετατρέπει τη γλουταμίνη σε γλουταμινικό οξύ. Αυτή η μεταβολή αυξάνει το αρνητικό φορτίο του μορίου και το κάνει να ενώνεται πιο εύκολα με τα αντιγόνα του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας HLA-DQ2 ή HLA-DQ8 επάγοντας την άνοση απάντηση από τα Τ λεμφοκύτταρα.¹³¹

Σε φυσιολογικές συνθήκες μακρομόρια όπως η γλιαδίνη δεν μπορούν να εισέλθουν μεταξύ των κυττάρων του εντερικού επιθηλίου λόγω των ισχυρών δεσμών που υπάρχουν μεταξύ τους. Η υπερέκφραση της ζονουλίνης, η οποία είναι ένα εντερικό πεπτίδιο που συμμετέχει στη ρύθμιση των δεσμών μεταξύ των εντεροκυττάρων, φαίνεται ότι είναι υπεύθυνη κατά ένα μεγάλο μέρος για τη χαρακτηριστική αύξηση της διαπερατότητας του εντερικού επιθηλίου στην κοιλιοκάκη.¹³²

Όταν τα εντεροκύτταρα διεγερθούν με τη γλιαδίνη μέσω του κυτταρικού υποδοχέα CXCR3 απελευθερώνεται η ζονουλίνη, η οποία με τη σειρά της προκαλεί πολυμερισμό των ενδοκυττάρων ινιδίων της ακτίνης, που άμεσα συνδέονται με τα σύμπλοκα των πρωτεϊνών, τα οποία είναι υπεύθυνα για τον εντερικό φραγμό.

Η αρχική δράση της ζονουλίνης ενισχύεται από την παρουσία φλεγμονωδών διαμεσολαβητών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων α και η ιντερφερόνη γ, οι οποίοι παράγονται συνεχώς από τη φλεγμονώδη διεργασία που δημιουργείται όταν η γλιαδίνη εισέλθει στον υποβλεννογόνιο χιτώνα του λεπτού εντέρου.¹³³

Υπάρχουν επίσης κάποιες μελέτες που υποστηρίζουν ότι τα αυτούσια τοξικά πεπτίδια της γλιαδίνης εισέρχονται στο εντερικό επιθήλιο με ενδοκυττάρωση¹³⁴ ή με IgA ανάστροφη διακυτταρική μεταφορά η οποία συνίσταται στη μεταφορά των συμπλόκων εκκριτικής IgA - πεπτιδίων γλιαδίνης, που δημιουργούνται στον εντερικό αυλό, μέσω του υποδοχέα τρανσφερίνης CD71 των εντεροκυττάρων στον εντερικό βλεννογόνο, διαδικασία που διεγείρεται και αυτή από την IFN-γ.¹³⁵

3.2 Ανοσία

3.2.1 Επίκτητη ανοσία

Ο ανοσολογικός μηχανισμός της κοιλιοκάκης εξελίσσεται στη lamina propria του εντερικού βλεννογόνου, που είναι ένα στρώμα συνδετικού ιστού κάτω από τη βασική μεμβράνη του επιθηλίου. Τα αρνητικά φορτισμένα πεπτίδια της γλουτένης συνδέονται με τις θετικά φορτισμένες θέσεις των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων που φέρουν τα αντιγόνα HLA-DQ2 ή HLA-DQ8 προκαλώντας CD4-κυτταρική απάντηση.

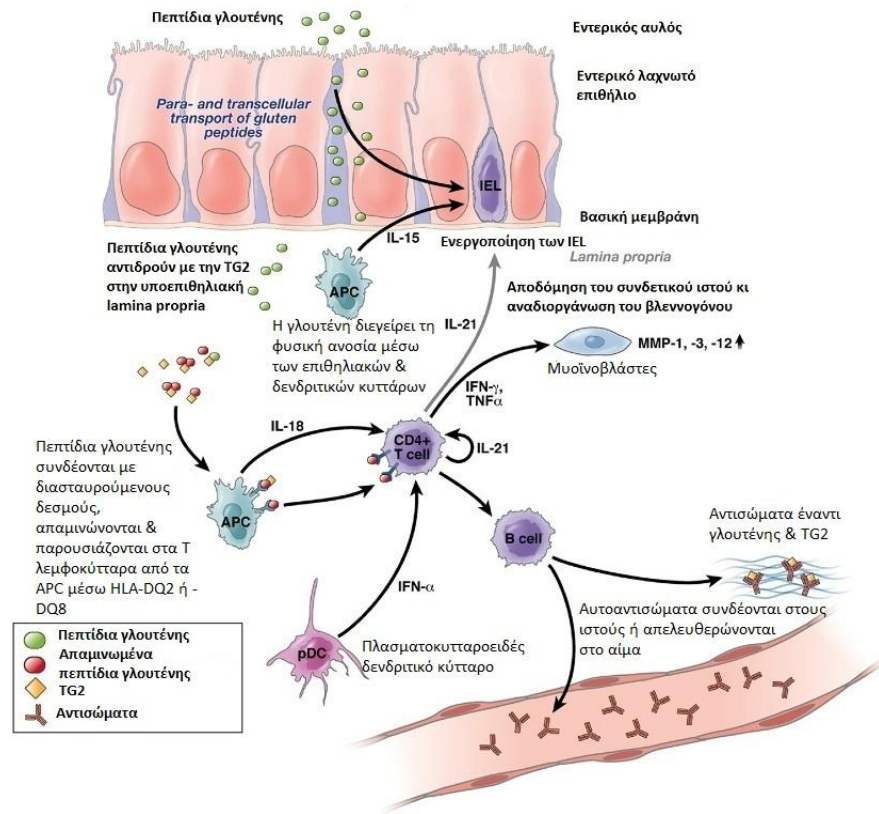
Τα αρχικά πεπτίδια της γλουτένης όμως δεν έχουν αρνητικό φορτίο και δύσκολα συνδέονται με τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα.¹²⁹ Το ένζυμο tTG2 καταλύει την αντίδραση της απαμίνωσης μετατρέποντας τη μη φορτισμένη γλουταμίνη στο αρνητικά φορτισμένο γλουταμινικό οξύ δημιουργώντας έτσι τις κατάλληλες προϋποθέσεις για τη σύνδεση αυτή.¹³⁶

Τα CD4 κύτταρα, στη συνέχεια, αναγνωρίζουν τα απαμινωμένα πεπτίδια γλιαδίνης που παρουσιάζονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα που φέρουν τα αντιγόνα DQ2 και DQ8, ενεργοποιούνται και προάγουν την TH1 ανοσολογική απάντηση εκκρίνοντας κυτοκίνες, κυρίως ιντερφερόνη γ, οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν φλεγμονώδεις αντιδράσεις.¹³⁷

Σημαντική είναι η απελευθέρωση και ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεασών (MMP) από τους μυοϊνοβλάστες οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αποδόμηση των ιστών, την ατροφία των λαχνών και υπερπλασία των κρυπτών, που είναι η χαρακτηριστική ιστολογική εικόνα της κοιλιοκάκης.¹³⁸

Μέσω δε των κυτταροκινών που εκκρίνονται από την TH2 ανοσολογική απάντηση τα CD4 ενεργοποιούν τα B λεμφοκύτταρα που μετατρέπονται σε πλασματοκύτταρα, τα οποία παράγουν αντισώματα έναντι της γλιαδίνης και της ιστικής τρανσγλουταμινάσης. Αντιδρώντας με την εξωκυττάρια ιστική τρανσγλουταμινάση η οποία είναι συνδεδεμένη με τη βασική μεμβράνη, οι εναποθέσεις ανοσοσυμπλεγμάτων ιστικής τρανσγλουταμινάσης-αυτοαντισώματος στη βασική μεμβράνη του εντερικού επιθηλίου επάγουν δυνητικά αλλαγές στον κυτταροσκελετό των εντεροκυττάρων με ανακατανομή της ακτίνης και επακόλουθη επιθηλιακή βλάβη.¹³⁹

Στην εικόνα που ακολουθεί (εικόνα 3) περιγράφεται η επίκτητη ανοσιακή απάντηση στην κοιλιοκάκη.



Εικόνα 3: Επίκτητη ανοσιακή απάντηση. Τα πεπτίδια της γλουτένης, τα οποία είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στις εντερικές πρωτεάσες, φτάνουν στη lamina propria είτε μέσω ενδοκυττάρωσης από τα επιθηλιακά κύτταρα είτε μέσω αυξημένης διαπερατότητας του εντερικού φραγμού. Η απαμίνωση των πεπτιδίων της γλουτένης από την tTG2 δημιουργεί ισχυρούς ανοσοδιεγερτικούς επιτόπους οι οποίοι παρουσιάζονται μέσω των μορίων HLA-DQ2 ή HLA-DQ8 των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων στα CD4 λεμφοκύτταρα. Ως αποτέλεσμα ενεργοποιούνται τα CD4 T λεμφοκύτταρα και εκκρίνουν Th1 κυτταροκίνες όπως INF γ η οποία προάγει την έκλυση και ενεργοποίηση των MMP από τους μυοϊνοβλάστες οδηγώντας σε αναδιοργάνωση του βλεννογόνου και ατροφία των λαχνών.

Επιπρόσθετα, παράγονται Th2 κυτταροκίνες που επάγουν την παραγωγή αυτοαντισωμάτων έναντι στη γλουτένη και στην tTG2. Η ιντερλευκίνη 15 συνδέει την επίκτητη με τη φυσική ανοσιακή απάντηση (Gastrenterology 2009; 137: 1912–1933).

3.2.2 Φυσική ανοσία

Στην ενεργό κοιλιοκάκη ο αριθμός των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων που φέρουν το αντιγόνο CD8 και τους υποδοχείς TCRαβ και TCRγδ είναι σημαντικά αυξημένος. Είναι ασαφές κατά πόσον αυτό αποτελεί απάντηση στις αλλαγές της ομοιόστασης του επιθηλίου ή επακόλουθο του προ-φλεγμονώδους περιβάλλοντος που δημιουργείται από την δράση των CD4+ λεμφοκυττάρων στη lamina propria.¹²⁹

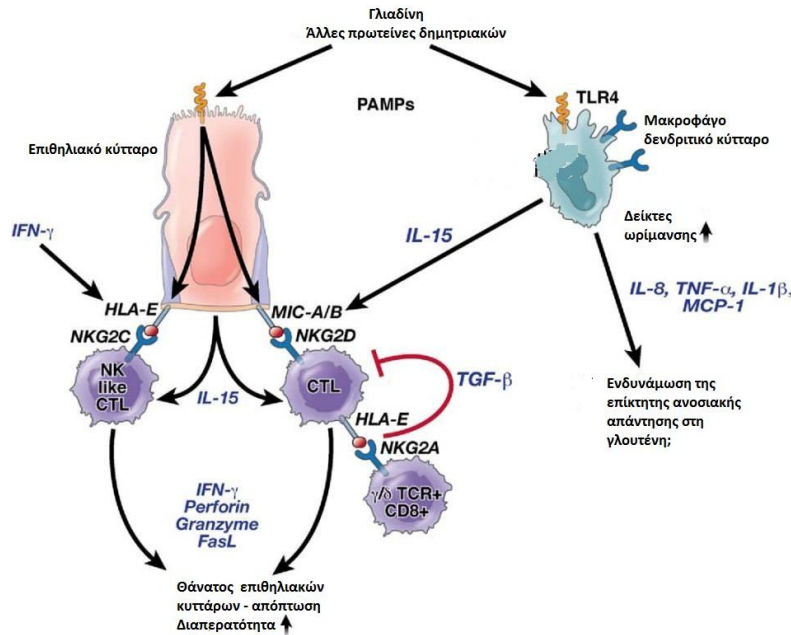
Τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα του επιθηλίου (IELs) αποκτούν ενεργοποιητικούς υποδοχείς NK (natural killer) και καθίστανται ικανά να λύουν τα επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου. Ταυτόχρονα όμως τα επιθηλιακά κύτταρα αυξάνουν την έκφραση των συνδέσμων γι' αυτούς τους ενεργοποιητικούς υποδοχείς (MICs, HLA-E).^{140,141} Ως αποτέλεσμα, τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα επάγουν τον αποπτωτικό θάνατο των επιθηλιακών κυττάρων, συμβάλλοντας έτσι στην τυπική ιστική βλάβη της κοιλιοκάκης.¹⁴²

Ο κύριος παράγοντας που ενορχηστρώνει την εκλεκτική αύξηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων είναι η ιντερλευκίνη 15. Αφού διεγερθούν από το γλιαδινικό πεπτίδιο p31-49 (και άλλα πεπτίδια γλιαδίνης) τα επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα εκκρίνουν ιντερλευκίνη 15, η οποία με τη σειρά της διεγείρει τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα προκαλώντας έτσι αυξημένη επιθηλιακή απόπτωση και αυξημένη διαπερατότητα.^{143,144}

Είναι προς το παρόν ασαφές πώς η γλουτένη μπορεί να έχει ένα τέτοιο εύρος βιολογικών επιδράσεων στα κύτταρα της φυσικής ανοσίας και πώς μπορεί να συνδέεται με μη ειδικούς υποδοχείς. Είναι απαραίτητο να γίνουν περαιτέρω έρευνες προκειμένου να ταυτοποιηθούν οι μοριακοί μηχανισμοί που ενέχονται γι' αυτό. Ωστόσο, αν επιβεβαιωθεί ο πιθανός ρόλος της γλουτένης ως ενεργοποιητής της φυσικής ανοσίας, θα μπορεί να εξηγήσει πως ενεργοποιούνται τα CD4+ λεμφοκύτταρα και πως τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα αποκτούν την ικανότητα να σκοτώνουν τα επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου.

Με βάση τα δεδομένα που έχουμε ως τώρα, πιθανολογείται ότι σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα η γλουτένη ενεργοποιεί κυτταρικές οδούς stress ή μετατρέπει

αυτόχθονα μόρια σε συνδέσμους ανοσολογικών υποδοχέων (όπως οι Toll-like υποδοχείς). Αυτό με τη σειρά του πυροδοτεί την έκλυση προφλεγμονωδών μεσολαβητών που προωθούν την ανάπτυξη φλεγμονωδών απαντήσεων των Τ λεμφοκυττάρων. Η φυσική ανοσιακή απάντηση στην κοιλιοκάκη περιγράφεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 4).



Εικόνα 4: Φυσική ανοσιακή απάντηση στην κοιλιοκάκη: Μετά από τη διέγερση τους από το γλιαδινικό πεπτίδιο p31-49 (και άλλα πεπτίδια) τα επιθηλιακά κύτταρα, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα εκκρίνουν ιντερλευκίνη 15 η οποία με τη σειρά της επάγει τον υποδοχέα NKG2D στα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα και τον σύνδεσμό του MICA στα επιθηλιακά κύτταρα. Τα διεγερμένα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα προάγουν την επιθηλιακή απόπτωση και αυξάνουν τη διαπερατότητα του βλενογόννου.

Επιπλέον, ο υποδοχέας NKG2C σε μια υποομάδα των NK-like ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων διεγείρεται από τον επιθηλιακό του σύνδεσμο HLA-E με αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό τους και την αύξηση της κυτταροτοξικότητας, ενώ η διέγερση των CD8 ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων, που φέρουν τον υποδοχέα NKG2A μέσω του HLA-E, προάγει την έκκριση TGF-β που δρα ρυθμιστικά. Τα πεπτίδια γλιαδίνης μπορούν επίσης να προκαλέσουν τη φυσική ανοσιακή απάντηση των μακροφάγων και των δενδριτικών κυττάρων μέσω Toll-like υποδοχέων με αποτέλεσμα την έκκριση φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, IL-8, TNF, MCP-1) οι οποίες ενδυναμώνουν την επίκτητη ανοσιακή απάντηση ενάντια στη γλουτένη. (GASTROENTEROLOGY 2009;137:1912–1933).

Κεφάλαιο 4: Εργαστηριακή προσέγγιση

4.1 Ιστολογική διάγνωση

4.1.1 Φυσιολογική εικόνα εντερικού βλεννογόνου – μέθοδος λήψης βιοψιών

Το τοίχωμα του λεπτού εντέρου αποτελείται από το βλεννογόνο, τον υποβλεννογόνο, το μυϊκό και τον ορογόνο χιτώνα.

Ο βλεννογόνος με τη σειρά του αποτελείται από το επιθήλιο, το χόριο και τη βλεννογόνια μυϊκή στοιβάδα. Κάτω από τη βασική μεμβράνη του επιθηλίου υπάρχει ένα στρώμα συνδετικού ιστού με αυξημένη αγγείωση που αποτελεί τη lamina propria. Οι λάχνες του λεπτού εντέρου, οι οποίες είναι προσεκβολές του επιθηλίου και του χορίου του βλεννογόνου σε σχήμα φύλλου ή δακτύλου, έχουν ύψος 0,5-1,2 χιλιοστά. Ανάμεσά τους σχηματίζονται οι κρύπτες του Lieberkuhn με βάθος 0,2-0,4 χιλιοστά. Τα 4/5 των καλυπτικών επιθηλιακών κυττάρων των λαχνών είναι κυλινδρικά εντεροκύτταρα, ενώ τα υπόλοιπα είναι βλεννοπαραγωγά καλυκοειδή κύτταρα. Μεταξύ αυτών ανευρίσκονται τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα (IEL) .

Το χόριο του βλεννογόνου περιλαμβάνει αγγεία, λεμφαγγεία, λείες μυϊκές ίνες, πλασματοκύτταρα, λίγα λεμφοκύτταρα, ιστιοκύτταρα και μαστοκύτταρα.

Η ιστολογική εκτίμηση του εντερικού βλεννογόνου μας επιτρέπει να θέσουμε τη διάγνωση της κοιλιοκάκης ή να την αποκλείσουμε, να σταδιοποιήσουμε τη σοβαρότητα της βλάβης, όπως επίσης και να αναγνωρίσουμε πιθανές επιπλοκές της νόσου (κολλαγονώδη στεατόρροια, ελκωτική κοιλιοκάκη, λέμφωμα εντέρου).

Θέση επιλογής της λήψης των βιοψιών αποτελούν οι τελικές μοίρες του δωδεκαδακτύλου. Όχι μόνο χρειάζεται να ληφθούν πολλαπλές βιοψίες αλλά είναι απαραίτητη και η γνώση της τοπογραφικής προέλευσης των δειγμάτων. Πρωταρχικό ρόλο παίζει ο προσανατολισμός των βιοψιών αμέσως μετά τη λήψη, οπότε η βιοψία τοποθετείται επάνω σε ένα τεμάχιο οξείκης κυτταρίνης με τη βλεννογονική επιφάνεια προς τα πάνω και εξετάζεται στο στερεομικροσκόπιο. Απαραίτητη για τη διατήρηση του τόνου της βιοψίας είναι η βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα.

Για μια ακριβή ιστολογική εκτίμηση του βλεννογόνου του δωδεκαδακτύλου, ο παθολογοανατόμος καλείται να περιγράψει λεπτομερώς συγκεκριμένα μορφολογικά στοιχεία: Όσον αφορά τις λάχνες πρέπει να γίνει αναφορά στην όψη τους και στην αναλογία μεταξύ ύψους λαχνών και βάθους κρυπτών (φυσιολογική αναλογία μεγαλύτερη ή ίση του 3/1). Για τον αριθμό των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων η μέτρηση θα πρέπει να συσχετίζεται πάντοτε με την ανοσοϊστοχημική εκτίμηση των CD3 λεμφοκυττάρων (μια αναλογία 25 λεμφοκυττάρων ανά 100 επιθηλιακά κύτταρα θεωρείται φυσιολογική).^{145,146} Στις αδενικές κρύπτες, ακολούθως, πρέπει να γίνει εκτίμηση της πιθανής παρουσίας υπερπλαστικής-αναγεννητικής δραστηριότητας που αποδεικνύεται από την αύξηση του μιτωτικού δείκτη και στη lamina propria να περιγραφεί ο τύπος και η έκταση της φλεγμονώδους διήθησης.

4.1.2 Σταδιοποίηση κατά Marsh

Στην τυπική διάγνωση της κοιλιοκάκης χρησιμοποιούνται δυο κύριες ταξινομήσεις : η ταξινόμηση κατά Marsh και η τροποποιημένη ταξινόμηση κατά Marsh-Oberhuber.

Η ταξινόμηση κατά Marsh¹⁴⁷ περιλαμβάνει τα παρακάτω τρία στάδια:

- Τύπος 0 : φυσιολογικός βλεννογόνος δωδεκαδακτύλου
- Τύπος 1 ή διηθητικός: φυσιολογικές λάχνες με παθολογική αύξηση του αριθμού των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων σε ποσοστό >40 ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα ανά 100 επιθηλιακά κύτταρα .
- Τύπος 2 ή υπερπλαστικός: ο αυξημένος αριθμός ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων συνοδεύεται επίσης από υπερπλασία των κρυπτών και των αδένων, ενώ η υπόλοιπη αρχιτεκτονική του βλεννογόνου παραμένει φυσιολογική
- Τύπος 3 ή καταστροφικός : αυτή είναι η κλασσική βλάβη όπου ο αυξημένος αριθμός των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων και οι υπερπλαστικές κρύπτες και αδένες σχετίζονται και με ατροφία των λαχνών ποικίλου βαθμού.

Το μόνο αρνητικό σημείο αυτής της ταξινόμησης είναι ότι περιπτώσεις με ήπια, μέτρια και σοβαρή ατροφία συγκαταλέγονται όλες σε μια και μόνη κατηγορία, τις βλάβες τύπου 3.

Για το λόγο αυτό οι Oberhuber και συνεργάτες¹⁴⁸ πρότειναν μια τροποποίηση της ταξινόμησης κατά Marsh κατά την οποία οι βλάβες τύπου 3 υποδιαιρούνται σε τρεις υποομάδες με βάση το βαθμό της ατροφίας: Στην υποομάδα 3a υπάρχει ήπια ατροφία των λαχνών, ενώ η 3b χαρακτηρίζεται από μέτρια ατροφία των λαχνών, οι οποίες όμως, αν και ατροφικές, είναι ακόμα αναγνωρίσιμες. Τέλος, στην υποομάδα 3c περιγράφεται ολική ατροφία των λαχνών. Σε αυτή την τελευταία περίπτωση οι λάχνες είναι επιπεδωμένες ή απουσιάζουν.

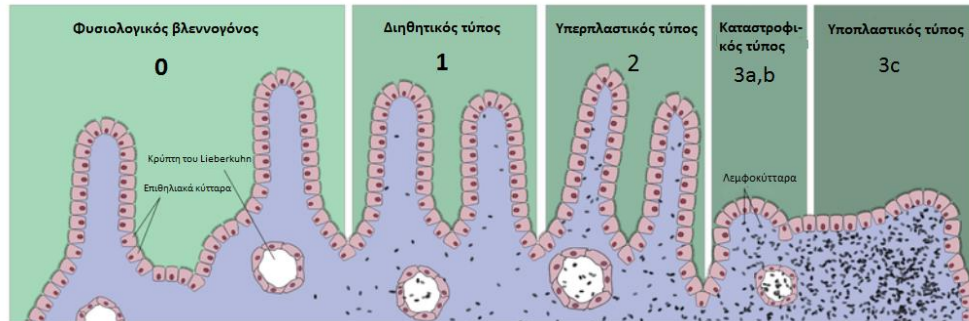
Τελευταία, έχει προταθεί μια νέα εκδοχή ιστολογικής ταξινόμησης γνωστή ως ταξινόμηση Corazza –Villanacci.^{149,150}

Στην ταξινόμηση αυτή οι βλάβες που χαρακτηρίζουν την κοιλιοκάκη υποδιαιρούνται σε δύο κατηγορίες : Μη ατροφικές (Α βαθμού) που χαρακτηρίζονται από παθολογική αύξηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων (αντιστοιχούν στις τύπους 1 και 2 της ταξινόμησης κατά Marsh Oberhuber) και ατροφικές (Β βαθμού) που υποδιαιρούνται σε βαθμού Β1, όπου η αναλογία λαχνών προς κρύπτες είναι χαμηλότερη από 3/1, αλλά υπάρχουν ακόμη λάχνες (αντιστοιχούν στις τύπου 3a και 3b κατά Marsh Oberhuber) και βαθμού Β2 όπου δεν αναγνωρίζονται πλέον λάχνες (τύπου 3c).

Όσον αφορά την ανθεκτική κοιλιοκάκη αυτή σχετίζεται με σημαντικές ιστολογικές αλλοιώσεις τύπου Marsh III. Ανάλογα με την ιστολογική της εικόνα ταξινομείται σε τύπου Ι και τύπου ΙΙ.

Οι ασθενείς με ανθεκτική κοιλιοκάκη τύπου ΙΙ φέρουν έναν ανώμαλο πληθυσμό ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων στο βλεννογόνο του λεπτού εντέρου που δεν παρατηρείται στην ανθεκτική νόσο τύπου Ι. Στην κοιλιοκάκη τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα είναι κατά κύριο λόγο CD8+ και εκφράζουν τον επιφανειακό δείκτη CD3 μαζί με πολυκλωνικούς TCR (T-cell υποδοχείς). Ο παθολογικός πληθυσμός λεμφοκυττάρων όμως στην ανθεκτική κοιλιοκάκη τύπου ΙΙ είναι CD8- CD4- και δε φέρει επιφανειακά συμπλέγματα CD3-TCR αν και διατηρεί το δείκτη CD3 ενδοκυτταρίως.¹⁵¹

Στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 5) απεικονίζονται αδρά οι ιστολογικές αλλοιώσεις του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου στην κοιλιοκάκη.



Εικόνα 5: Ιστοπαθολογία του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου στην κοιλιοκάκη.

4.1.3 Διαφορική διάγνωση ιστολογικών αλλοιώσεων

Το κύριο πρόβλημα στην ιστολογική διάγνωση της κοιλιοκάκης αφορά τις αρχικές βλάβες που χαρακτηρίζονται από φυσιολογική αρχιτεκτονική των λαχνών με παθολογική αύξηση του αριθμού των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων (τύπος 1 κατά Marsh ή βαθμός A σύμφωνα με την τροποποιημένη ταξινόμηση).

Όπως αναφέρεται στην ανασκόπηση των Brown και συν.¹⁵² μια σειρά παθολογικών καταστάσεων παρουσιάζουν την ίδια ιστολογική εικόνα με την κοιλιοκάκη στα αρχικά της στάδια :

- μη εξαρτώμενη από τη γλουτένη τροφική αλλεργία (σε δημητριακά, γάλα αγελάδας, προϊόντα σόγιας, ψάρια, ρύζι και κοτόπουλο),
- λοιμώξεις (ιογενείς εντερίτιδες, Giardia, Cryptosporidia, Helicobacter pylori),
- φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου,
- ανοσοανεπάρκειες (IgA ανεπάρκεια, κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια),
- χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών,
- αυτοάνοσες παθήσεις (θυρεοειδίτιδα Hashimoto, ρευματοειδής αρθρίτιδα, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος),
- λεμφοκυτταρική και κολλαγονική κολίτιδα,
- σύνδρομο τυφλής έλικας,

- νόσος Whipple.

Είναι, επομένως, ολοφάνερη η σπουδαιότητα της συνεργασίας του παθολογοανατόμου με τον κλινικό, τον ενδοσκόπο και τον εργαστηριακό γιατρό προκειμένου να τεθεί η σωστή διάγνωση.

Η βιοψία του εντέρου είναι ακόμα σε πολλές περιπτώσεις απαραίτητη για τη διάγνωση της κοιλιοκάκης, αλλά λόγω της μεγάλης βελτίωσης της διαγνωστικής ακρίβειας των ορολογικών και γενετικών δεικτών υπάρχει μια τάση προς τη χρησιμοποίηση και παγίωση μη παρεμβατικών μεθόδων.

Είναι πλέον εμφανής η προσπάθεια αποφυγής της βιοψίας, πράγμα που μας κάνει να πιστεύουμε ότι τα κριτήρια διάγνωσης της νόσου θα αλλάξουν ριζικά τα επόμενα χρόνια.

4.2 Ανοσολογικοί δείκτες

4.2.1 Αντισώματα έναντι ρετικουλίνης

Τα αντισώματα έναντι ρετικουλίνης (ARA) περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τους Seah και συν. το 1971 στον ορό των ασθενών με κοιλιοκάκη και ερπητοειδή δερματίτιδα. Το 1973, οι Rizzetto και Doniach προσδιόρισαν πέντε διαφορετικές ομάδες αυτοαντισωμάτων σε τομές ιστών τρωκτικού: τα R1, R2, R5, KC (τα οποία αργότερα ονομάστηκαν R3) και τα AC (τα οποία μετονομάστηκαν σε R4).¹⁵³ Παρατηρήθηκε μια καταπληκτική αντιστοιχία μεταξύ της εικόνας που παρουσίαζαν τα αντισώματα αυτά και της κατανομής των αργυρόφιλων ινών στους ιστούς, που ήταν γνωστές ως δικτυωτή ουσία. Μεταγενέστερες, όμως, μελέτες έδειξαν ξεκάθαρα ότι η δικτυωτή ουσία δεν ήταν η πρωτεΐνη κατά της οποίας στρέφονταν τα ARA.

Με τις μελέτες των Dieterich και συν. έγινε σαφές ότι τα αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης (αντι-tTG), τα έναντι ενδομυίου (EmA) και τα ARA-R1 ήταν αυτοαντισώματα που κατευθύνονταν σε παρόμοιους επιτόπους σε διαφορετικούς ιστούς, όπου το αντιγόνο στόχος ήταν κυρίως η ιστική τρανσγλουταμινάση.

Σήμερα τα έναντι ρετικουλίνης αντισώματα διακρίνονται σε 5 υπότυπους R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, και μελετούνται με την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF) σε

υπόστρωμα νεφρού, ήπατος και στομάχου ποντικού. Τα αντι-R₁ και αντι-R₂ αντιδρούν με τα ινίδια του εξωκυττάριου συνδετικού ιστού γύρω από τα σπειράματα και τα ουροφόρα σωληνάρια, ενώ τα αντι-R₃, R₄, R₅ με το μεσέγχυμα των κολποειδών του ήπατος.

Όλοι οι υπότυποι των ARA, εκτός από τα ARA-R₁, είναι αντισώματα τάξεως IgG τα οποία δεν έχουν καμία ειδικότητα για συγκεκριμένη νόσο και καμία κλινική χρησιμότητα. Εντούτοις, καλό είναι ξέρουμε να αναγνωρίζουμε την εικόνα που μας δίνουν με τον ανοσοφθορισμό, προκειμένου να μπορούμε πιο εύκολα και σίγουρα να ανιχνεύουμε τα ARA-R₁.

Τα ARA-R₁ είναι τάξεως IgA ή IgG και έχουν υψηλή ειδικότητα στην ενεργό κοιλιοκάκη (96-100%) και καλή ευαισθησία (έως 75%). Η ειδικότητα των ARA-R₁ IgG είναι μεγαλύτερη από αυτή των ARA-R₁ IgA, αλλά η ευαισθησία τους χαμηλότερη. Η αρνητικοποίηση τους σχετίζεται με ιστολογική αποκατάσταση των αλλοιώσεων στο εντερικό επιθήλιο και η επαναθετικοποίησή τους με ιστολογική υποτροπή.¹⁵⁴⁻¹⁵⁵ Δηλαδή τα ARA-R₁ έχουν αντίστοιχα αποτελέσματα με τα EmA και τα αντι-tTG.¹⁵⁷

Τα ARA για δύο τουλάχιστο δεκαετίες χρησιμοποιούνταν ευρέως στη διάγνωση και παρακολούθηση της κοιλιοκάκης. Επίσης είχε μελετηθεί η χρησιμότητά τους στην πρόγνωση σε συγγενείς πρώτου βαθμού των ατόμων με κοιλιοκάκη.¹⁵⁶ Σήμερα όμως ο ρόλος τους έχει εξασθενήσει και έχουν αντικατασταθεί από τα EmA και τα αντι-tTG.

Εντούτοις, είναι πολύ χρήσιμο να γνωρίζουμε την εικόνα που μας δίνουν στον έμμεσο ανοσοφθορισμό γιατί σε μερικές περιπτώσεις μπορεί και πρέπει να τα αναγνωρίσουμε ως τυχαίο εύρημα όταν ψάχνουμε για αντιμιτοχονδριακά αντισώματα, αντι τοιχωματικά ή τα έναντι λείων μυικών ινών σε τομές ιστών ποντικού (ήπατος και νεφρού) βρίσκοντας κατ' αυτόν τον τρόπο αδιάγνωστες περιπτώσεις κοιλιοκάκης.

4.2.2 Αντισώματα έναντι γλιαδίνης

Η παρουσία των αντιγλιαδινικών αντισωμάτων στον ορό των ασθενών με κοιλιοκάκη άρχισε να μελετάται το 1950 και από τότε και για πολλά χρόνια ήταν ο μόνος

ορολογικός δείκτης που χρησιμοποιούνταν για τη διάγνωση και παρακολούθηση των ασθενών αυτών.

Τα αντιγλιαδινικά αντισώματα (AGA) που μπορεί να είναι τάξεως IgA (AGA-A) και IgG (AGA-G), παρότι υπάρχουν στον ορό των ασθενών με κοιλιοκάκη, δεν είναι ειδικά γιατί βρίσκονται τόσο σε υγιείς όσο και σε άτομα που πάσχουν από άλλα νοσήματα του γαστρεντερικού σωλήνα. Βρίσκονται και σε άλλα βιολογικά υγρά όπως το σάλιο, αλλά και στον εντερικό αυλό των ασθενών που έχουν την τυπική ιστολογική εικόνα της κοιλιοκάκης. Η ευαισθησία και ειδικότητα αυτών ποικίλουν σύμφωνα με τη βιβλιογραφία.¹⁵⁸ Με την ανακάλυψη των αντι-tTG και των EmA ο ρόλος των AGA υποβαθμίστηκε.

Όμως καινούργιοι αντιγονικοί επίτοποι της γλιαδίνης έχουν βρεθεί και ειδικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό τους έδωσαν νέα διάσταση στα αντιγλιαδινικά αντισώματα.¹⁵⁹ Η Elisa με υπόστρωμα αποκλειστικά από συνθετικά πεπτίδια γλιαδίνης, απαμινωμένα γλιαδινικά πεπτίδια, έχει ευαισθησία 94% και ειδικότητα 92%, τιμές πολύ υψηλότερες αυτών που έχουμε όταν χρησιμοποιούνται τα κλασσικά εκλουόμενα αντιγόνα.^{160,161} Αυτές οι καινούργιες διαγνωστικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των AGA χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις κοιλιοκάκης όπου συνυπάρχει IgA ανεπάρκεια αλλά και στην παρακολούθηση των ασθενών που ακολουθούν δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Επίσης, έχουν καθοριστικό διαγνωστικό ρόλο στα παιδιά με κοιλιοκάκη μικρότερα των πέντε ετών, στα οποία τα αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης και έναντι ενδομυίου είτε δεν ανιχνεύονται είτε ανιχνεύονται περιοδικά.

4.2.3 Αντισώματα έναντι ενδομυίου – αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης

Τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου (EmA) παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά το 1983 όταν ο Chorzelsky και συν.¹⁶² χρησιμοποίησαν στη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού τομές οισοφάγου πιθήκου για την ανίχνευση αντισωμάτων στους ασθενείς με ερπητοειδή δερματίτιδα. Παρατήρησαν την παρουσία παρόμοιων IgA

αντισωμάτων και στον ορό των ασθενών με κοιλιοκάκη που χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα ελέγχου. Από τότε τα αντισώματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν ευρέως για τη διάγνωση και παρακολούθηση της κοιλιοκάκης λόγω της μεγάλης τους ευαισθησίας και ειδικότητάς τους, αντικαθιστώντας έτσι τα λιγότερο αξιόπιστα αντιγλιαδινικά και τα έναντι ρετικουλίνης αντισώματα.

Παρατηρήθηκε ότι έξι μη κολλαγονικές πρωτεΐνες MB 18-37 kD, προϊόντα ινοβλαστών, αντιδρούσαν με τα EmA αντισώματα ασθενών με κοιλιοκάκη, ενώ κατά την ανίχνευσή τους με τεχνική IIF σε υπόστρωμα οισοφάγου πιθήκου ή ανθρώπινου ομφάλιου λώρου βρέθηκε ότι συνδεόταν με αυτά το έλυτρο της δέσμης των λείων μυϊκών ινών του υποστρώματος.¹⁶³

Το 1997, όμως, βρέθηκε το αντιγόνο προς το οποίο στρέφονταν τα EmA. Οι Dieterich και συν. απέδειξαν ότι ο ορός ασθενών με υψηλούς τίτλους EmA αρνητικοποιούνταν όταν είχε προηγουμένως προσροφηθεί με ιστική τρανσγλουταμινάση, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης και έναντι ενδομυϊού μοιράζονται το ίδιο αντιγόνο.¹⁶⁴

Η ιστική τρανσγλουταμινάση είναι ένα ένζυμο που εξαρτάται από το ασβέστιο και βρίσκεται σε πολλούς ιστούς. Οκτώ διαφορετικά ισοένζυμα έχουν περιγραφεί. Έτσι ο τύπος 2 βρίσκεται σε όλες τις στοιβάδες του εντερικού τοιχώματος ενώ ο τύπος 3 βρίσκεται στο δέρμα και σχετίζεται με την ερπητοειδή δερματίτιδα.

Γενικά, η ιστική τρανσγλουταμινάση συμμετέχει σε διεργασίες για την προστασία και αναδιοργάνωση των ιστών και των οργάνων και η έκφρασή της τόσο στα εντεροκύτταρα, στην ψυκτροειδή παρυφή τους και στο κυτταρόπλασμα, όσο και στον εξωκυττάριο χώρο είναι αυξημένη στους ασθενείς με κοιλιοκάκη.

Η δράση της ιστικής τρανσγλουταμινάσης είναι είτε να δημιουργεί διασταυρούμενους δεσμούς μεταξύ των πρωτεϊνών με τη δημιουργία ενός ισοσθενούς δεσμού μεταξύ της γλουταμίνης της μιας πρωτεΐνης και της λυσίνης κάποιας άλλης, είτε να μετατρέπει τη γλουταμίνη σε γλουταμινικό οξύ. Ενώ η δημιουργία διασταυρούμενων δεσμών είναι η κύρια δραστηριότητα της ιστικής

τρανσγλουταμινάσης σε ελαφρώς αλκαλικό pH, η απαμίνωση ευνοείται από μέτρια όξινες συνθήκες.

Επίσης, έχει βρεθεί ότι ο βλεννογόνος του λεπτού εντέρου είναι πλούσιος σε πρωτεΐνες οι οποίες μπορούν να δεχθούν γλουταμίνη. Αυτό το εύρημα ενισχύει την υπόθεση ότι η ιστική τρανσγλουταμινάση καταλύει το σχηματισμό συμπλόκων πρωτεϊνών (δέκτης γλουταμίνης)-γλιαδίνης (δότης γλουταμίνης), δημιουργώντας έτσι καινούργια αυτοαντιγόνα που επάγουν την αυτοάνοση διεργασία στην κοιλιοκάκη.¹⁶⁵

Το γεγονός ότι η ιστική τρανσγλουταμινάση είναι κυριολεκτικά πανταχού παρών στον οργανισμό εξηγεί το ότι μπορούν να ανιχνευθούν EmA σε τομές διαφόρων ιστών όπως οισοφάγου, ήπατος, στομάχου και ουροδόχου κύστης πιθήκων, σε τομές νήστιδας και νεφρών ποντικών όπως επίσης και σε τομές ανθρώπινου ομφάλιου λώρου.

Τα αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης είναι τάξεως IgA και IgG και παράγονται από τα B λεμφοκύτταρα που βρίσκονται στον εντερικό βλεννογόνο ασθενών με κοιλιοκάκη οι οποίοι δεν ακολουθούν δίαιτα ελεύθερη γλουτένης.

Τα αντι-tTG τάξεως IgA θεωρούνται ειδικοί δείκτες για την κοιλιοκάκη γιατί δε συναντώνται σε άλλες παθήσεις και κατά τη διάρκεια της φλεγμονής ανιχνεύονται στο αίμα και σε άλλα βιολογικά υγρά όπως το σάλιο και η χολή.

Τα αντι-tTG τάξεως IgG βρίσκονται στο αίμα και στον εντερικό βλεννογόνο των ασθενών με κοιλιοκάκη αλλά δεν έχουν μεγάλη ειδικότητα για τη νόσο, καθώς ανιχνεύονται σε χαμηλούς τίτλους στον ορό υγιών ατόμων αλλά και σε άτομα με άλλες παθήσεις. Θεωρούνται, όμως, ειδικοί δείκτες σε περιπτώσεις με ανεπάρκεια IgA, στα οποία η πιθανότητα ανάπτυξης κοιλιοκάκης είναι 10-20 φορές μεγαλύτερη έναντι αυτής του γενικού πληθυσμού.

Η παρουσία αντι-tTG που στρέφονται σε διαφορετικούς επιτόπους της ιστικής τρανσγλουταμινάσης μπορούν να εξηγήσουν σε ορισμένες περιπτώσεις την ασυμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ των μετρήσεων αυτών των αντισωμάτων με τη μέθοδο της ELISA και του προσδιορισμού των EmA με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού.¹⁶⁶ Αυτό παρατηρείται συνήθως σε χαμηλούς τίτλους αντι-tTG σε παθήσεις που δεν έχουν σχέση με την κοιλιοκάκη όπως αυτοάνοση ηπατίτιδα,

κίρρωση, παρασιτώσεις και ιογενείς λοιμώξεις, αλλά και σε κάποιες περιπτώσεις με κοιλιοκάκη.¹⁶⁷

Επομένως, ο προσδιορισμός των EmA με έμμεσο ανοσοφθορισμό επιλεκτικά προσδιορίζει τα αντι-tTG αντισώματα που αναγνωρίζουν τους επιτόπους που συσχετίζονται με την κοιλιοκάκη.

Η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA η οποία χρησιμοποιεί για τον προσδιορισμό των αντι-tTG ιστική τρανσγλουταμινάση ανθρώπινης προέλευσης ή ανασυνδυασμένη έχει μεγαλύτερη ακρίβεια απ' ό,τι με την εκλουόμενη. Οι μετρήσεις είναι ποσοτικές και οι μονάδες που χρησιμοποιούνται είναι IU/ml σύμφωνα πάντα με την καμπύλη βαθμονόμησης. Μελέτες σε ενήλικο πληθυσμό μας δείχνουν ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα των αντι-tTG τάξεως IgA και IgG των οποίων ο προσδιορισμός βασίζεται στην ανθρώπινη ιστική τρανσγλουταμινάση είναι 98,1% και 97% αντίστοιχα, ενώ στα παιδιά 95,7% και 99% αντίστοιχα. Στα άτομα με ανεπάρκεια IgA η ευαισθησία των αντι-tTG τάξεως IgG είναι 90% ενώ η ειδικότητα 100%.¹⁶⁸

Έχουν επίσης βρεθεί γρήγορες δοκιμασίες για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντι-tTG τόσο των IgA όσο και των IgG οι οποίες έχουν το πλεονέκτημα ότι γίνονται εύκολα σε λίγα λεπτά με ολικό αίμα και βοηθούν πολύ όταν χρειάζεται να παρθούν γρήγορες αποφάσεις. Οι δοκιμασίες αυτές χρησιμοποιούν ως αντιγόνο την ιστική τρανσγλουταμινάση που βρίσκεται στα ερυθροκύτταρα του ασθενούς. Η διαγνωστική τους ακρίβεια είναι ικανοποιητική αλλά λόγω των ψευδώς αρνητικών και ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων δε μπορούν να αντικαταστήσουν την κλασσική ορολογική διάγνωση της νόσου.^{169,170}

Με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού σε τομές οισοφάγου πιθήκου, συνήθως ξεκινώντας από την αραιώση 1:5, τα EmA έχουν τη χαρακτηριστική κυψελοειδή διάταξη. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ανθρώπινος ομφάλιος λώρος στις τομές του οποίου, όμως, η ένταση της χρώσης είναι ασθενέστερη.

Όταν ο τίτλος των EmA είναι υψηλός εύκολα εκτιμούνται. Δυσκολία υπάρχει σε χαμηλούς τίτλους και άτυπες μορφές. Ψευδώς θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα

ανευρίσκονται λόγω απειρίας του παρατηρητή. Η ειδικότητα των EmA είναι πολύ υψηλή, σχεδόν 100% και η ευαισθησία 93-96%.¹⁶⁷

Η αυξημένη ευαισθησία των τεχνικών για τον προσδιορισμό των EmA αλλά και των αντι-tTG είναι αυτή που κυρίως μας βοηθά να διαγνώσουμε πολλούς ασθενείς με κοιλιοκάκη που έχουν άτυπη κλινική εικόνα ή είναι τελείως ασυμπτωματικοί.

4.3 Γενικά εργαστηριακά ευρήματα

4.3.1 Αναιμία

Η αναιμία είναι συχνό εύρημα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη και μπορεί να αποτελεί το κύριο χαρακτηριστικό.¹⁷¹ Η επίπτωσή της ποικίλει πολύ στις διάφορες αναφορές και κυμαίνεται μεταξύ 12% και 69% στους νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με κοιλιοκάκη.^{172,173}

Συνήθως αντανακλά τη διαταραχή στην απορρόφηση απαραίτητων θρεπτικών συστατικών όπως ο σίδηρος και οι διάφορες βιταμίνες. Μερικές φορές, όμως, μπορεί να συνυπάρχει αφανής απώλεια αίματος από το γαστρεντερικό σωλήνα, η οποία έχει ανιχνευθεί στο 25% έως 54 % των ασθενών με κοιλιοκάκη,¹⁷⁴ αν και υπάρχουν και μελέτες που θεωρούν ότι είναι πολύ λιγότερο συχνή.¹⁷⁵ Άλλες πάλι φορές αναφέρεται ότι ο μηχανισμός της αναιμίας της χρόνιας νόσου παίζει βασικό ρόλο και στην αναιμία που συνοδεύει την κοιλιοκάκη.¹⁸⁶

Αναιμία παρατηρείται επίσης και στην ερπητοειδή δερματίτιδα η οποία μπορεί να οφείλεται στη δυσαπορρόφηση του σιδήρου και των βιταμινών ή να σχετίζεται με τη φαρμακευτική αντιμετώπιση της νόσου και ιδιαίτερα τη θεραπεία με τη δαψόνη η οποία επιπλέκεται με ανεπιθύμητες ενέργειες όπως η αιμόλυση και η μεθαιμοσφαιριναιμία.¹⁷⁶

Η **σιδηροπενική αναιμία**, που οφείλεται συνήθως είτε σε αυξημένες απώλειες σιδήρου είτε σε διαταραχή της απορρόφησής του, είναι πολύ συχνή σε έδαφος κοιλιοκάκης και έχει αναφερθεί στο 46% των περιπτώσεων υποκλινικής νόσου με υψηλότερο επιπολασμό στους ενήλικες σε σχέση με τα παιδιά.¹⁷²

Ο σίδηρος απορροφάται στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου και η απορρόφηση του εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες στους οποίους συμπεριλαμβάνονται η επιφάνεια

του βλεννογόνου και η εντερική οξύτητα. Η σιδηροπενική αναιμία εκδηλώνεται συνήθως ως υπόχρωμη μικροκυτταρική αναιμία και οι ασθενείς έχουν χαρακτηριστικά χαμηλά επίπεδα σιδήρου ορού, αυξημένη ολική σιδηροδεσμευτική ικανότητα και χαμηλά επίπεδα φερριτίνης.

Η ανθεκτική στη θεραπεία σιδηροπενική αναιμία μπορεί να είναι η μοναδική εκδήλωση της κοιλιοκάκης.¹⁷⁷ Έτσι, ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης σε ασθενείς με ανθεκτική σιδηροπενική αναιμία μπορεί να φτάσει το 20%.¹⁷⁸

Η θεραπεία της σιδηροπενικής αναιμίας επί εδάφους κοιλιοκάκης συνίσταται κυρίως σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και σε χορήγηση σκευασμάτων σιδήρου, όπου είναι απαραίτητο, μέχρι να αποκατασταθούν τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και οι αποθήκες σιδήρου. Η αποκατάσταση της αιμοσφαιρίνης μπορεί να χρειαστεί έως και ένα χρόνο ενώ χρειάζονται τουλάχιστον δύο χρόνια για τη φόρτιση των αποθηκών σιδήρου.¹⁷⁹

Το φυλλικό οξύ αποτελεί ένα βασικό στοιχείο του μεταβολισμού των αμινοξέων και των νουκλεϊνικών οξέων. Η επάρκεια του είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική αιμοποίηση και την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος. Το φυλλικό οξύ απορροφάται κατά κύριο λόγο στο δωδεκαδάκτυλο και η δυσαπορρόφηση του είναι συχνή σε ασθένειες του λεπτού εντέρου.

Η ανεπάρκεια φυλλικού εμφανίζεται συνήθως ως μακροκυτταρική και μεγαλοβλαστική αναιμία αλλά είναι συχνές οι διαταραχές και των άλλων κυτταρικών σειρών. Συνυπάρχουσα σιδηροπενία, όπως συμβαίνει στην κοιλιοκάκη, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα άτυπα ευρήματα στη μορφολογία του περιφερικού αίματος ώστε οι ασθενείς να μην παρουσιάζουν τη χαρακτηριστική μακροκυττάρωση αλλά να παρατηρείται δίμορφος πληθυσμός ερυθροκυττάρων που αντανακλά και τις δυο ανεπάρκειες. Η μεγάλου βαθμού ανεπάρκεια φυλλικού οξέος μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα ελάττωση του αριθμού των λευκών και των αιμοπεταλίων και να εκδηλωθεί ως σοβαρή πανκυτταροπενία.

Υπάρχουν διάφορες μελέτες που επιβεβαιώνουν την ανεπάρκεια φυλλικού ως συχνό εύρημα σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθείσα κοιλιοκάκη¹⁸⁰

Η ελεύθερη γλουτένης δίαιτα και η χορήγηση σκευασμάτων φυλλικού αποτελούν την ενδεικνυόμενη θεραπευτική αγωγή.

Η βιταμίνη B12 αποτελεί βασικό συμπράγοντα και συνένζυμο σε πολλαπλές βιοχημικές οδούς συμπεριλαμβανομένων των οδών σύνθεσης DNA και μεθειονίνης. Αν και η κύρια θέση απορρόφησης της βιταμίνης B12 είναι το άπω τμήμα του ειλεού (όπου απορροφάται συνδεδεμένη με τον ενδογενή παράγοντα) μια μικρή ποσότητα απορροφάται παθητικά κατά μήκος όλου του λεπτού εντέρου.

Η ανεπάρκεια της B12 είναι συνήθης στην κοιλιοκάκη και η συχνότητά της κυμαίνεται από 8% έως 41%.^{181,182}

Η αιτιολογία της ανεπάρκειας B12 στην κοιλιοκάκη δεν είναι γνωστή αλλά μπορεί να περιλαμβάνει ελαττωμένη γαστρική οξύτητα, μικροβιακή υπερανάπτυξη, αυτοάνοση γαστρίτιδα, ελαττωμένη σύνδεση με τους παράγοντες μεταφοράς ή δυσλειτουργία του άπω τμήματος του λεπτού εντέρου.^{183,184}

Η υποψία ανεπάρκειας B12 θα πρέπει να μπαίνει σε όλους τους ασθενείς με κοιλιοκάκη που παρουσιάζουν αιματολογικές και νευρολογικές διαταραχές. Η μέτρηση των επιπέδων B12 στον ορό μπορεί να είναι παραπλανητική και δύσκολη να ερμηνευτεί ιδιαίτερα αν τα αποτελέσματα βρίσκονται στα κατώτερα φυσιολογικά επίπεδα ή συνυπάρχει ανεπάρκεια φυλλικού οξέος.¹⁸⁵ Στους ασθενείς με ανεπάρκεια B12 θα πρέπει να χορηγηθεί παρεντερική θεραπεία με βιταμίνη B12.

Η αναιμία χρονίας νόσου είναι η πιο συχνή μορφή αναιμίας σε νοσηλευόμενους ασθενείς και παρατηρείται σε συνδυασμό με οξείες ή χρόνιες φλεγμονές. Η αυξημένη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών αναστέλλει άμεσα την ερυθροποίηση, παρεμβαίνει στην παραγωγή ερυθροποιητίνης και επιφέρει αλλαγές στην ομοιόσταση του σιδήρου όπως ελαττωμένη απορρόφηση από το έντερο και ελαττωμένη απελευθέρωση από τα μακροφάγα.¹⁸⁷

Η αναιμία χρονίας νόσου δεν αναγνωρίζεται ως συχνό εύρημα στην κοιλιοκάκη, αν και υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι μπορεί να αποτελεί τον κύριο μηχανισμό αναιμίας σε ορισμένους ασθενείς.¹⁸⁸

Η συστηματική φλεγμονή η οποία συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνών οξείας φάσης στον ορό είναι ασυνήθης, αν και η διέγερση των μονοπύρηνων κυττάρων της lamina propria από τα πεπτίδια γλιαδίνης οδηγεί σε υπερπαραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών που αποτελούν μεσολαβητές της αναμίας χρονίας νόσου όπως η ιντερφερόνη γ και η ιντερλευκίνη 6.^{189,190}

4.3.2 Άλλα αιματολογικά και βιοχημικά ευρήματα

Στους νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με κοιλιοκάκη μπορεί να παρατηρηθούν παθολογικές ηπατικές δοκιμασίες. Η αιτιολογία πιστεύεται ότι είναι μια μη ειδική ηπατίτιδα. Η αύξηση των τρανσαμινασών είναι αναστρέψιμη και οι τιμές τους επανέρχονται στο φυσιολογικό 6-12 μήνες μετά την έναρξη της ΔΕΓ. Σε μερικούς, όμως, ασθενείς η αύξηση των τρανσαμινασών μπορεί να οφείλεται σε συνυπάρχουσα αυτοάνοση νόσο όπως πρωτοπαθή χολική κίρρωση, αυτοάνοση ηπατίτιδα ή πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα.^{191,77}

Η δυσασπορρόφηση της λιποδιαλυτής βιταμίνης Κ μπορεί να οδηγήσει στην εκδήλωση διαταραχών πήξης με παράταση του χρόνου προθρομβίνης, ενώ η δυσασπορρόφηση της λιποδιαλυτής βιταμίνης D και του ασβεστίου μπορεί να οδηγήσει σε δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, ελαττωμένη οστική πυκνότητα και αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων.¹⁹²

Για τους βιοχημικούς δείκτες αναφέρεται ότι η μέτρηση του ασβεστίου και της αλκαλικής φωσφατάσης του ορού δεν αποτελούν πάντα αξιόπιστους δείκτες του οστικού μεταβολισμού και στους ασθενείς με οστεοπενία θα πρέπει να ελέγχονται τα επίπεδα παραθορμόνης και βιταμίνης D.^{193,194}

Το φυλλικό οξύ, βιταμίνη Β12, η βιταμίνη Β6 και η ριβοφλαβίνη χρειάζονται για το μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης. Υψηλότερα επίπεδα ομοκυστεΐνης έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με κοιλιοκάκη που δεν είναι σε θεραπεία σε σχέση με υγιείς μάρτυρες τα οποία, όμως, επανέρχονται εντός φυσιολογικών ορίων μετά την αποκατάσταση της ατροφίας του εντερικού βλενογόννου.¹⁹⁵

Έτσι, σε αυτούς τους ασθενείς αυξάνει ο κίνδυνος των καρδιαγγειακών παθήσεων και ισχαιμικών επεισοδίων παρά τα χαμηλά επίπεδα χοληστερίνης που συνήθως έχουν.¹⁹⁶

Ορισμένα πιο σπάνια εργαστηριακά ευρήματα που μπορεί να παρατηρηθούν σε ορισμένους ασθενείς με κοιλιοκάκη είναι τα χαρακτηριστικά του υποσπληνισμού στη μορφολογία του περιφερικού αίματος (σωμάτια Howell–Jolly, στοχοκύτταρα, αυξημένα αιμοπετάλια).¹⁹⁷

Κεφάλαιο 5: Θεραπεία

Η πιστή τήρηση της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης, δηλαδή πρόσληψη γλουτένης λιγότερο από μια φορά το μήνα, θεωρείται η μόνη θεραπεία της κοιλιοκάκης, εύκολα εφαρμόσιμη και ασφαλής, η οποία απαλλάσσει τον ασθενή από τα συμπτώματα και αποτελεσματικά αποτρέπει τις δυνητικές επιπλοκές. Όμως η εφ' όρου ζωής συμμόρφωση σε μια τέτοια δίαιτα είναι περιοριστική, κουραστική και πολυδάπανη, επηρεάζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο αρνητικά την ποιότητα της καθημερινότητας των ασθενών. Επίσης πολλές φορές τροφές που θεωρούνται ελεύθερες γλουτένης εμπεριέχουν μικρές ποσότητες κρυμμένης γλουτένης.

Όλοι οι παραπάνω λόγοι, καθώς και, σε πολύ λίγες περιπτώσεις, η αναποτελεσματικότητα της θεραπείας με τη δίαιτα, εύλογα δημιούργησαν την ανάγκη για ανεύρεση εναλλακτικών και συμπληρωματικών θεραπειών. Η καλύτερη κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών της κοιλιοκάκης οδήγησε στην ανακάλυψη καινούργιων πολλαπλών θεραπευτικών προσεγγίσεων πολλές από τις οποίες βρίσκονται σε στάδια κλινικών δοκιμών.

Η αποτοξίκωση της γλουτένης η οποία γίνεται με τη βοήθεια ενζύμων στον εντερικό αυλό τα οποία ελαττώνουν την ανοσογονικότητα των πεπτιδίων της γλουτένης, η δημιουργία νέων ειδών σιταριού μη τοξικών που δεν εμπεριέχουν γλουτένη, η παρεμπόδιση της αύξησης της διαπερότητας του εντερικού επιθηλίου με τους ανταγωνιστές της ζονουλίνης (AT-1001) που δεσμεύονται στους ZOT υποδοχείς εμποδίζοντας έτσι την εξασθένιση των ισχυρών δεσμών μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων, η παρεμπόδιση της παρουσίας του αντιγόνου χρησιμοποιώντας αναστολείς της TG2 και των συστατικών του συστήματος HLA, η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι της ιντερφερόνης γ (INF γ), του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF α) και της ιντερλευκίνης 15 (IL 15) που εμποδίζουν την καταστροφή του εντερικού βλενογόννου, η χορήγηση ιντερλευκίνης 10 (IL10) που καταστέλει τη TH1 απάντηση, η παρεμπόδιση της μετανάστευσης των T κυττάρων στους εντερικούς ιστούς με τη βοήθεια αντιπροσκολλητικών παραγόντων όπως τα αντι $\alpha 4$ αντισώματα, αλλά και η

επαγωγή ανοχής από του στόματος, είναι δυνητικές θεραπευτικές μέθοδοι της κοιλιοκάκης υπό μελέτη.¹⁹⁸

Εκτός, όμως, από την πιστοποίηση της αποτελεσματικότητας όλων αυτών των θεραπειών στην εμφάνιση των συμπτωμάτων και της ιστολογικής βλάβης της κοιλιοκάκης, η ιδανική εναλλακτική θεραπεία που θα αντικαταστήσει επιτυχώς τη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης πρέπει να είναι, πρωτίστως, απόλυτα ασφαλής χωρίς παρενέργειες. Γι' αυτούς τους λόγους η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης παραμένει προς το παρόν η θεραπεία εκλογής.

Όσον αφορά την αντιμετώπιση της ανθεκτικής κοιλιοκάκης η νόσος τύπου I ανταποκρίνεται στα κορτικοστεροειδή και άλλα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και πολύ σπάνια εξελίσσεται σε EALT.¹⁹⁹

Παρότι η θεραπευτική αντιμετώπιση τόσο της ανθεκτικής κοιλιοκάκης τύπου II, που θεωρείται προνεοπλασματική κατάσταση, όσο και του EALT με κυτταροτοξικούς παράγοντες είναι απογοητευτική, εντούτοις η αυτόλογη και η ετερόλογη μεταμόσχευση μυελού είναι ελπιδοφόρες.²⁰⁰

Είναι πλέον γνωστό ότι εάν οι ασθενείς ακολουθήσουν ΔΕΓ επί πέντε τουλάχιστον χρόνια ο κίνδυνος ανάπτυξης κακοήθειας επανέρχεται στα επίπεδα του γενικού πληθυσμού.²⁰¹ Γι' αυτό η έγκαιρη ανίχνευση και αντιμετώπιση της νόσου, ιδιαίτερα της άτυπης ή σιωπηλής μορφής των ενηλίκων είναι πολύ σημαντική και επιβεβλημένη.

B. Ειδικό μέρος

Κεφάλαιο 6. Σκοπός της μελέτης

Η κοιλιοκάκη είναι μια πιο διαδεδομένη νόσος στους ενήλικες απ' ό,τι θεωρούνταν παλιά. Με τη βοήθεια των όλο και περισσότερο ευαίσθητων και ειδικών ορολογικών δεικτών έχει γίνει γνωστό ότι η πλειονότητα των ενηλίκων αφενός δεν παρουσιάζει την κλασική μορφή της νόσου, που είναι τα συμπτώματα της δυσασπορρόφησης του λεπτού εντέρου, αφ' ετέρου έχει ήπιες ιστολογικές αλλοιώσεις, οι οποίες, τις πιο πολλές φορές, δεν ταιριάζουν με τα κριτήρια καθορισμού της νόσου, όπως π.χ. με την ποικίλου βαθμού ατροφία των λαχνών του βλενογόννου του λεπτού εντέρου.²⁰²

Έτσι, πολλές περιπτώσεις κοιλιοκάκης στους ενήλικες δε διαγιγνώσκονται ποτέ, ενώ η καθυστέρηση της διάγνωσης κυμαίνεται από 4,5 έως 9 έτη.^{173,203}

Η εφ' όρου ζωής αποφυγή της γλουτένης είναι στις μέρες μας η μόνη αποτελεσματική θεραπεία που συνιστάται στους ασθενείς με κοιλιοκάκη. Τόσο οι μελέτες όσο και η κλινική εμπειρία δείχνουν ότι η κλινική εικόνα, οι εργαστηριακές παράμετροι αλλά και η ποιότητα ζωής των ασθενών όχι μόνο καλυτερεύουν, αλλά επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα πολύ γρήγορα μετά την εισαγωγή δίαιτας ελεύθερης γλουτένης. Επίσης, μελέτες αποδεικνύουν ότι με τη συμμόρφωση στη συγκεκριμένη διαίτα αποφεύγονται οι δυνητικές επιπλοκές της νόσου.²⁰⁴

Η τήρηση της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης απαιτεί τη συνεργασία ασθενών, συγγενών, ιατρών και διαιτολόγων. Η παραμονή των συμπτωμάτων συνήθως οφείλεται σε μη συμμόρφωση με τη δίαιτα. Γι' αυτό, η κλινική εκτίμηση των ασθενών από το θεράποντα ιατρό είναι απαραίτητη και σημαντική, αλλά πολλές φορές αδυνατεί από μόνη της να εντοπίσει τους ασθενείς που τηρούν μερικώς τη ΔΕΓ, γιατί πολλά από τα συμπτώματα της κοιλιοκάκης είναι μη ειδικά.

Από την άλλη μεριά, η συστηματική χρήση της βιοψίας του λεπτού εντέρου, επεμβατικής μεθόδου και δύσκολης πολλές φορές να εφαρμοστεί στην παρακολούθηση της κοιλιοκάκης, παρότι από πολλούς θεωρήθηκε το βασικό κριτήριο,²⁰⁵ έχει αμφισβητηθεί, γιατί οι αλλοιώσεις του βλενογόννου του εντέρου δεν αποκαθίστανται ολοκληρωτικά ακόμα και όταν εφαρμόζεται πιστά η ΔΕΓ.^{206,207}

Η χρησιμοποίηση των ορολογικών δεικτών στην κοιλιοκάκη φαίνεται, λοιπόν, να είναι μια εύκολα εφαρμόσιμη, άμεση και αξιόπιστη μέθοδος τόσο στη διάγνωση όσο και στην παρακολούθηση της νόσου.^{208,168,209}

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η αναζήτηση και μελέτη των ειδικών αυτοαντισωμάτων στη διάγνωση, παρακολούθηση καθώς και στην πρόγνωση της κοιλιοκάκης.

Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της μελέτης αυτής είναι ότι αναφέρεται στον ελληνικό πληθυσμό και αφορά ενήλικες ασθενείς, που συνήθως εμφανίζουν άτυπη κλινική συμπτωματολογία, με αποτέλεσμα την καθυστέρηση της τελικής διάγνωσης και κατ' επέκταση της έναρξης δίαιτας ελεύθερης γλουτένης.

Η ανάδειξη της tTG ως το κύριο αυτοαντιγόνο, που επάγει ανοσιακή απάντηση στον εντερικό βλεννογόνο, έθεσε στο προσκήνιο ερευνητικές μελέτες για το σημαντικό ρόλο των αντι-tTG αντισωμάτων τόσο στην παθογένεια όσο και στη διάγνωση της νόσου. Έτσι, ένας επιπλέον στόχος της μελέτης μας αποτελεί η αξιολόγηση των αντι-tTG αντισωμάτων σε σχέση με τα έναντι EmA στη διαγνωστική προσέγγιση, αλλά κυρίως στην παρακολούθηση Ελλήνων ενηλίκων ασθενών, καθώς και η κατάρτιση αλγορίθμου στα πλαίσια κατευθυντήριων οδηγιών στη διερεύνηση της νόσου.

Επίσης, μελετάται η συχνότητα εμφάνισης της νόσου στους συγγενείς πρώτου βαθμού των ασθενών με κοιλιοκάκη.

Κεφάλαιο 7. Υλικό και μεθοδολογία

7.1 Ασθενείς – δείγματα

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 113 Έλληνες ενήλικες ασθενείς που πάσχουν από κοιλιοκάκη και πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια αυτής, οι οποίοι παραπέμφθησαν στο Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του Νοσοκομείου «ο Ευαγγελισμός» από τα Εξωτερικά ιατρεία και τη Γαστρεντερολογική κλινική του ίδιου νοσοκομείου.

Οι ασθενείς αυτοί χωρίστηκαν σε δύο ομάδες από τις οποίες η πρώτη ομάδα (ομάδα Α) αποτελούνταν από 70 πρωτοδιαγνωσθέντες ασθενείς με κοιλιοκάκη, 20 άντρες (ποσοστό 28,6%) και 50 γυναίκες (ποσοστό 71,4%) με ηλικίες κατά τη διάγνωση από 19 έως 66 έτη ($39,1 \pm 11,1$ έτη).

Ακολούθως, η δεύτερη (ομάδα Β) αποτελούνταν από 43 ασθενείς, 15 άντρες (ποσοστό 34,9%) και 28 γυναίκες (ποσοστό 65,1%) με κοιλιοκάκη, στους οποίους όμως η διάγνωση της νόσου είχε τεθεί στο παρελθόν, πριν αρχίσει η μελέτη μας, (μέση ηλικία διάγνωσης $21 \pm 18,6$ έτη) και ήταν ήδη σε παρακολούθηση και δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, με ηλικίες από 17 έως 66 έτη ($31,8 \pm 14,5$) κατά την πρώτη μέτρηση. Σε αυτούς τους ασθενείς η μέση διάρκεια της νόσου ήταν $10,9 \pm 8,5$ έτη.

Επίσης, στη μελέτη συμμετείχαν και 47 άτομα (ομάδα Γ) που είναι πρώτου βαθμού συγγενείς 28 ασθενών με κοιλιοκάκη. Στα 47 αυτά άτομα οι 23 ήταν άνδρες και οι 24 γυναίκες με ηλικίες από 1 έως 59 έτη. Συνολικά, μελετήθηκαν 10 γονείς, 8 αδέρφια και 29 παιδιά των 28 αυτών ασθενών.

Ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν 70 άτομα από τα οποία τα 30 ήταν ασθενείς με φλεγμονώδη και μη φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου (8 με νόσο του Crohn, 7 με ελκώδη κολίτιδα, 6 με ευερέθιστο έντερο και 9 με μικροσκοπική κολίτιδα), 20 γυναίκες και 10 άντρες με μέση ηλικία 41 έτη (21-55), ενώ τα υπόλοιπα 40 ήταν μάρτυρες-υγιή άτομα, αιμοδότες, 22 γυναίκες και 18 άντρες με μέση ηλικία 38 έτη (18-58).

Η διάγνωση τόσο της κοιλιοκάκης όσο και των φλεγμονωδών και μη φλεγμονωδών νοσημάτων του εντέρου, σε όλους τους ασθενείς, έγινε με βάση την κλινική εικόνα, την

αντικειμενική εξέταση και τα χαρακτηριστικά εργαστηριακά, ενδοσκοπικά και κυρίως τα ιστολογικά ευρήματα.

Οι ασθενείς ενημερώθηκαν σχετικά με τη μελέτη και αποδέχθηκαν τη συμμετοχή τους.

Σε όλους τους ασθενείς στην πρώτη επίσκεψη καταγράφονταν τα δημογραφικά στοιχεία, το ατομικό και κληρονομικό ιστορικό καθώς και τα συμπτώματα που είχαν σχέση με την κοιλιοκάκη.

Οι ασθενείς κατά τη διάγνωση είχαν ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα συμπτώματα: αναιμία, συμπτώματα από το γαστρεντερικό σύστημα, απώλεια βάρους, διαταραχές εμμήνου ρύσεως, διαταραχές μεταβολισμού ασβεστίου, δερματικές εκδηλώσεις, νευρολογικές εκδηλώσεις.

Μεταξύ των ασθενών και των δύο ομάδων εντοπίστηκαν αυτοί με συνυπάρχοντα άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (Σακχαρώδης διαβήτης τύπου Ι, αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, σύνδρομο Sjögren και ατροφική γαστρίτιδα).

Σε κάθε επίσκεψη στην παρακολούθηση γινόταν κλινική εκτίμηση του ασθενούς από το θεράποντα ιατρό, αλλά και αξιολόγηση από τον ίδιο τον ασθενή τόσο των συμπτωμάτων του, όσο και της ποιότητας ζωής του. Έτσι η έκβαση της νόσου χαρακτηρίστηκε ως σταθερή κλινική εικόνα, μικρή βελτίωση και ύφεση των συμπτωμάτων.

Ιδιαίτερη προσπάθεια, επίσης, γινόταν στο να εκτιμηθεί και να προσδιορισθεί ο βαθμός τήρησης της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης. Οι περισσότεροι ασθενείς, λοιπόν, τηρούσαν τη δίαιτα, το 72,9% και το 88,4% της Α και Β ομάδας αντίστοιχα, και οι υπόλοιποι, το 27,1% της ομάδας Α και το 11,6% της Β, την τηρούσαν μερικώς. Δεν υπήρχαν ασθενείς που δεν τηρούσαν καθόλου τη δίαιτα.

Τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών, η έκβαση της νόσου, η τήρηση της δίαιτας, τα συμπτώματα και οι συνοδές νόσοι φαίνονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 2,3,4).

Πίνακας 2. Δημογραφικά στοιχεία, βαθμός τήρησης της ΔΕΓ και έκβαση της νόσου στους ασθενείς των ομάδων Α και Β

		Α ομάδα		Β ομάδα	
		N	%	N	%
Φύλο	Άντρες	20	28,6	15	34,9
	Γυναίκες	50	71,4	28	65,1
ΔΕΓ	Τήρηση της δίαιτας	51	72,9	38	88,4
	Μερική τήρηση της δίαιτας	19	27,1	5	11,6
Έκβαση	Σταθερή κλινική εικόνα	6	8,6	2	4,7
	Μικρή βελτίωση	16	22,9	3	7,0
	Ύφεση συμπτωμάτων	48	68,6	38	88,4
Ηλικία, μέση τιμή ±SD		39,1±11,1		31,8±14,5	
Ηλικία κατά τη διάγνωση, μέση τιμή ±SD		-		21,0±18,6	

Πίνακας 4. Συχνότητα κλινικών εκδηλώσεων στη διάγνωση της κοιλιοκάκης στους ασθενείς των ομάδων Α και Β

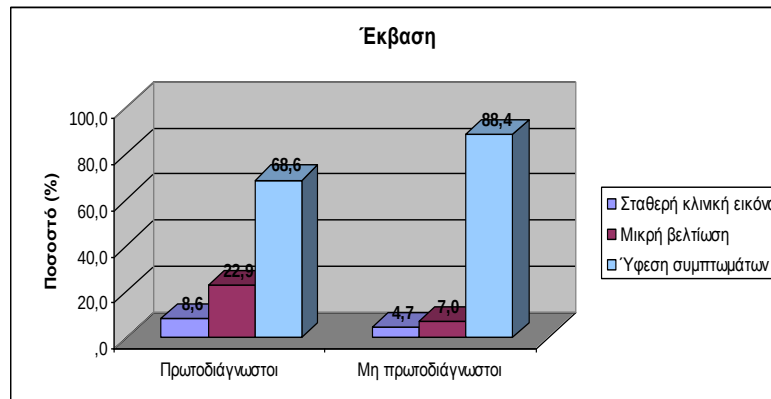
Κλινικές εκδηλώσεις κατά τη διάγνωση	Α ομάδα		Β ομάδα*	
	N	%	N	%
Αναιμία	48	68,6	11	50,0
Συμπτώματα από το Γ/Σ	34	48,6	13	59,1
Απώλεια βάρους	12	17,1	4	18,2
Διαταραχές εμμήνου ρύσεως	7	10,0	5	22,7
Διαταραχές μεταβολισμού Ca	7	10,0	4	18,2
Δερματικές εκδηλώσεις	6	8,6	3	13,6
Νευρολογικές εκδηλώσεις	0	0,0	1	4,5
Άλλα	6	8,6	2	9,1

* τα συμπτώματα αφορούν στους ασθενείς που είναι ήδη σε ΔΕΓ αλλά δεν πρωτοδιεγνώσθησαν σε παιδική ηλικία (N=22).

Πίνακας 4. Συχνότητα συνύπαρξης άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων με την κοιλιοκάκη στους ασθενείς των ομάδων Α και Β

Συνοδά νοσήματα	Α ομάδα		Β ομάδα	
	N	%	N	%
Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	8	11,4	1	4,5
IDDM	2	2,9	0	0,0
Σύνδρομο Sjogren	1	1,4	1	4,5
Ατροφική γαστρίτιδα	2	2,9	0	0,0

Στο γράφημα που ακολουθεί (εικόνα 6) δίνεται η έκβαση της νόσου των συμμετεχόντων, ξεχωριστά για κάθε ομάδα.



Εικόνα 6. Έκβαση της νόσου στους ασθενείς των ομάδων Α και Β

Η συλλογή, φυγοκέντρηση των δειγμάτων του αίματος και ακολούθως η μέτρηση των διαφόρων παραμέτρων γινόταν στο εργαστήριο του τμήματος ανοσολογίας ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ "ο Ευαγγελισμός". Το υπόλοιπο δείγμα φυλασσόταν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) έως την ολοκλήρωση του εργαστηριακού ελέγχου όλων των δειγμάτων.

Στους ασθενείς της πρώτης ομάδας (ομάδα Α) έγιναν αιμοληψίες κατά τη χρονική στιγμή της διάγνωσης 0 και ακολούθως στους 6, 12, 24 και 36 μήνες μετά, ενώ στη δεύτερη ομάδα (ομάδα Β) μια φορά κάθε έτος για τρία έτη. Στην ομάδα ελέγχου και στους συγγενείς των ασθενών με κοιλιοκάκη έγινε μια μόνο αιμοληψία.

7.2 Παράμετροι που μελετήθηκαν

Στα δείγματα των ασθενών που συγκεντρώθηκαν προσδιορίστηκαν οι παρακάτω παράμετροι :

1. Αυτοαντισώματα έναντι ενδομυϊού τάξεως IgA (EmA)
2. Αντισώματα έναντι γλιαδίνης τάξεως IgA (AGA-A) και IgG (AGA-G)
3. Αυτοαντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης τάξεως IgA (tTG-A)
4. Ποσοτικός προσδιορισμός ανοσοσφαιρινών, IgG, IgA, και IgM
5. Ποσοτικός προσδιορισμός υποτάξεων των IgG ανοσοσφαιρινών

6. Προσδιορισμός επιπέδων αιμοσφαιρίνης (Hb), ασβεστίου (Ca) και τιμή της ταχύτητας καθίζησης ερυθρών (ΤΚΕ).

Ο προσδιορισμός των ανοσοσφαιρινών και των υποτάξεων έγινε μόνο στο δείγμα της πρώτης αιμοληψίας κάθε ασθενούς.

7.3 Μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν

α) Έμμεσος ανοσοφθορισμός (IIF)

Η μέθοδος του ανοσοφθορισμού βασίζεται στη χρησιμοποίηση αντισωμάτων συνδεδεμένων με φθορίζουσες ουσίες για την ανίχνευση και εντόπιση αντιγόνου (Ag) ή αντισώματος (Ab) σε ιστούς ή κύτταρα. Διακρίνεται σε άμεσο (direct immunofluorescence-DF) και έμμεσο (indirect immunofluorescence-IIF).

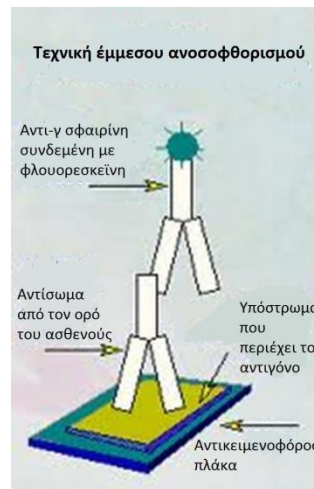
Στη μελέτη μας η ανίχνευση των αντισωμάτων έναντι ενδομυίου έγινε με την τεχνική του **έμμεσου ανοσοφθορισμού**, την οποία, το 1954, πρώτοι οι Weller και Coons χρησιμοποίησαν σε μονό στρώμα μονιμοποιημένων κυττάρων. Αυτή η τεχνική, που άρχισε να εφαρμόζεται από το 1957 για τη διερεύνηση των αυτοάνοσων νοσημάτων, αποτελεί μία απλή και ευαίσθητη μέθοδο, η οποία χρησιμοποιείται μέχρι σήμερα για τον εντοπισμό ενός μεγάλου φάσματος αυτοαντισωμάτων .

Πάνω σε αντικειμενοφόρες πλάκες που φέρουν το κατάλληλο υπόστρωμα (τομές ιστών, καλλιεργήματα κυττάρων) τοποθετείται το υπό εξέταση δείγμα (που πιθανά φέρει τα αντισώματα) σε αραιώση. Η σύνδεση του αντισώματος του δείγματος με το αντιγόνο-στόχο του υποστρώματος αναδεικνύεται με την προσθήκη σε δεύτερο χρόνο αντι-αντισώματος (αντι-γ σφαιρίνη) συνδεδεμένη με τη φθορίζουσα χρωστική ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη (FITC) με λαμπερό πράσινο φως.

Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε ότι τρεις παράγοντες επηρεάζουν την τεχνική του IIF: 1) η στερεωτική ουσία που χρησιμοποιείται στην προετοιμασία και μονιμοποίηση του ιστού, 2) η αναλογία φθορίζουσας ουσίας/πρωτεΐνης (F/P) και 3) η ειδικότητα της τάξης της ανοσοσφαιρίνης που θα συζευχθεί. Ορισμένες στερεωτικές ουσίες ή συνδυασμοί αυτών είναι γνωστό ότι καταστρέφουν κάποια αντιγόνα και η χρήση τους θα έπρεπε να αποφεύγεται. Η ευαισθησία και η μη ειδική σύνδεση του υποστρώματος της

ανοσοσφαιρίνης που θα συζευχθεί, καθορίζεται από την αναλογία F/P, ενώ η ειδικότητα της συζευγμένης ανοσοσφαιρίνης καθορίζεται από την ενεργοποίηση εκ νέου της τάξης της ανοσοσφαιρίνης.

Η παρουσία των αυτοαντισωμάτων ελέγχεται στη συνέχεια με μικροσκόπηση σε μικροσκόπιο φθορισμού και εκτιμάται ο τύπος φθορισμού καθώς και ο τίτλος του αντισώματος. Στο σχήμα που ακολουθεί (εικόνα 7) φαίνεται η αρχή του έμμεσου ανοσοφθορισμού.



Εικόνα 7. Αρχή μεθόδου έμμεσου ανοσοφθορισμού.

- Προσδιορισμός EmA με IIF

Η μέθοδος του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF) για την ανίχνευση των EmA χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα τομές οισοφάγου πιθήκου .

Τα αντισώματα έναντι ενδομυίου κατευθύνονται εναντίον ινών τύπου ρετικουλίνης, στον συνδετικό ιστό γύρω από τις λείες μυϊκές ίνες στις εντερικές οδούς των πιθήκων. Τα δείγματα επωάζονται με το υπόστρωμα που δρα ως αντιγόνο και ακολούθως τα ασύνδετα αντισώματα ξεπλένονται. Το υπόστρωμα κατόπιν επωάζεται με αντι-ανθρώπινη γ-σφαιρίνη τάξης IgA, σημασμένη με φθοριόχρωμα (FITC, *Fluorescein isothiocyanate*) και το ασύνδετο αντιδραστήριο ξεπλένεται. Οι πλάκες διαβάζονται με μικροσκόπιο φθορισμού, όπου τα θετικά δείγματα εμφανίζουν φθορισμό, ο οποίος αντιστοιχεί σε περιοχές του τμήματος όπου έχει δεσμευθεί το αυτοαντίσωμα, δηλαδή στις παρυφές των δεματίων των λείων μυϊκών ινών του ενδομυίου.

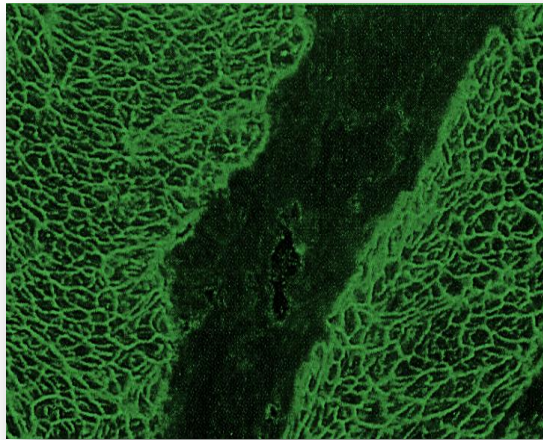
Ένα δείγμα θεωρείται αρνητικό όταν ο φθορισμός του είναι ανάλογος ή λιγότερο φωτεινός από τον αρνητικό μάρτυρα ενώ χαρακτηρίζεται σαν θετικό αν η συγκεκριμένη χρώση είναι εντονότερη από τον αρνητικό μάρτυρα .

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο ιστός οισοφάγου πιθήκου είναι εγγενώς επιρρεπής σε αυτοφθορισμό, ανεξαρτήτως από τη διαδικασία που ακολουθείται για την παραγωγή των αντικειμενοφόρων πλακών του ιστού. Επίσης, ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται γιατί αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), αντισώματα έναντι των μιτοχονδρίων (AMA), αντισώματα έναντι λείων μυϊκών ινών (ASMA) και αντισώματα έναντι σκελετικών μυών, μπορεί να αντιδράσουν με το υπόστρωμα του οισοφάγου.

Η παρουσία δύο ή περισσότερων αντισωμάτων σε έναν ορό, τα οποία αντιδρούν με τον ίδιο ιστό, ενδέχεται να επηρεάσει την ανίχνευσή τους με ανοσοφθορισμό, γεγονός που υποδεικνύει την αναγκαιότητα εμπειρίας και γνώσης από τον εξεταστή.

Τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου αντιδρούν ως δίκτυο λεπτών ακανόνιστων γραμμών που περιβάλλουν το σαρκείλλημα του κάθε λείου μυϊκού ινιδίου. Αυτό αποτελεί σημαντική διαφορά σε σχέση με τα αντισώματα έναντι των λείων μυϊκών ινών, τα οποία αντιδρούν με το σαρκόπλασμα.

Στην εικόνα που ακολουθεί (εικόνα 8) φαίνονται τα θετικά EmA σε τομές οισοφάγου πιθήκου.



Εικόνα 8: Παράδειγμα θετικών αυτοαντισωμάτων EmA με την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού σε τομές οισοφάγου πιθήκου.

Στη μελέτη μας χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια της εταιρείας INOVA (NOVA Lite® Monkey Oesophagus IFA Kit/Slides), USA. Ως θετικά θεωρήθηκαν αρχικά τα δείγματα των οποίων η ένταση του φθορισμού ήταν μεγαλύτερη του αρνητικού μάρτυρα σε αραιώση 1:5. Ακολούθησε τιτλοποίηση και καταγράφηκε ο τελικός τίτλος του θετικού αποτελέσματος (ημιποσοτικός προσδιορισμός).

β) Ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA

Η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA (Enzyme-linked immunoabsorbent assay) αποτελεί μια απλή στην εκτέλεσή της τεχνική με μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα καθώς και δυνατότητα αυτοματοποίησης.

Σε πλάκα από πολυστυρένιο 96 φρεατίων, στα οποία έχει καθηλωθεί το αντιγόνο, τοποθετούνται προαραιωμένοι οροί ελέγχου και αραιωμένα δείγματα ασθενών, τα αντισώματα των οποίων μπορούν να συνδεθούν με το ακινητοποιημένο αντιγόνο-στόχο. Στη συνέχεια προστίθεται αντι-ανθρώπινο αντίσωμα συνδεδεμένο με ένζυμο (υπεροξειδάση ή αλκαλική φωσφατάση). Μετά την προσθήκη κατάλληλου χρωμογόνου υποστρώματος ακολουθεί ενζυμική αντίδραση, που εκφράζεται με αλλαγή του χρώματος του διαλύματος. Γίνεται διακοπή της αντίδρασης και στη συνέχεια λαμβάνεται με φωτομέτρηση σε κατάλληλο μήκος κύματος η οπτική πυκνότητα. Αυτή μεταφράζεται σε θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα σύμφωνα με το διαχωριστικό όριο (cut-off point) της δοκιμασίας ή σε ποσοτική έκφραση της παρουσίας αντισώματος συγκρινόμενη με την καμπύλη αναφοράς που προέρχεται από τιμές πρότυπων ορών ελέγχου.

Η χρήση των εμπορικά διαθέσιμων kits της ELISA για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων έχει πλέον καθιερωθεί στα ανοσολογικά εργαστήρια. Η ευρύτατη χρήση τους οφείλεται στην απλότητά τους, την αντικειμενικότητα στην αξιολόγηση του αποτελέσματος, στην ταχύτητά τους και την δυνατότητα αυτοματοποίησης.

Η ELISA είναι μία μέθοδος με πολύ μεγάλη ευαισθησία. Εντούτοις, το βασικό μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η χαμηλή ειδικότητά της που αποδίδεται εν μέρει στη μικρή καθαρότητα των αντιγόνων. Αύξηση της καθαρότητας του αντιγόνου

απαιτεί ακραίες συνθήκες, γεγονός που οδηγεί σε αποδιάταξη της φυσικής πρωτεΐνης και ενδεχόμενη απώλεια των διαμορφωτικών επιτόπων.

- **Αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης**

Στη μελέτη μας εξετάσαμε τα αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης τάξεως IgA . Η μέτρησή τους έγινε με Elisa με τη χρήση των εμπορικών kit QUANTA Lite™ της εταιρείας INOVA Diagnostics, USA. Η τεχνική εκτελέστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας. Ως θετικά θεωρήθηκαν τα δείγματα των οποίων η τιμή ήταν μεγαλύτερη του διαχωριστικού ορίου που ήταν > 25 IU/ml.

- **Αντισώματα έναντι γλιαδίνης**

Τα αντισώματα γλιαδίνης που εξετάσαμε στη μελέτη μας είναι τάξεως IgA και IgG. Η μέτρησή τους έγινε με Elisa με τη χρήση των εμπορικών kit QUANTA Lite™ της εταιρείας INOVA Diagnostics, USA. Η τεχνική εκτελέστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας. Ως θετικά θεωρήθηκαν τα δείγματα των οποίων η τιμή ήταν μεγαλύτερη του διαχωριστικού ορίου που τόσο για τα AGA IgA όσο και για τα AGA IgG ήταν > 25 IU/ml.

γ) Νεφελομετρία

Η νεφελομετρία είναι μέθοδος προσδιορισμού της συγκέντρωσης πρωτεϊνών κυρίως, η οποία βασίζεται στη μέτρηση της σκέδασης που δημιουργείται όταν φωτεινή δέσμη, κατάλληλου μήκους κύματος, προσπίπτει πάνω σε σωματίδια που αιωρούνται σε διάλυμα ή εναιώρημα. Τα σωματίδια μπορεί να είναι συμπλέγματα μορίων ή συμπλέγματα μορίων και σωματιδίων. Η μέθοδος αξιοποιεί τη γραμμική σχέση μεταξύ της έντασης της σκέδασης και της συγκέντρωσης των σωματιδίων σύμφωνα με την εξίσωση του Rayleigh.

Απαραίτητες προϋποθέσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό μιας πρωτεΐνης είναι, η συγκέντρωσή της να βρίσκεται σε επίπεδα εφικτά για τη μέθοδο και να υπάρχει διαθέσιμο ειδικό αντίσωμα έναντι αυτής. Από την σύνδεση του αντισώματος με την πρωτεΐνη θα προκύψει διαλυτό ανοσοσύμπλεγμα, το οποίο προκαλεί σκέδαση της προσπίπτουσας φωτεινής δέσμης. Η ένταση της σκέδασης εξαρτάται από την ποσότητα των ανοσοσυμπλεγμάτων, η οποία είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Μια

νεφελομετρική μέθοδος, ανάλογα με τη φάση της αντίδρασης κατά την οποία μετράται η σκέδαση, χαρακτηρίζεται ως τελικού σημείου και κινητική νεφελομετρία.

Οι σύγχρονοι νεφελομετρικοί αναλυτές είναι κλειστά συστήματα που διαθέτουν πηγή Laser και που το σκεδαζόμενο φως κατευθύνεται σε φωτοπολλαπλασιαστή, μετατρέπεται σε ηλεκτρικό σήμα και διοχετεύεται σε μικροϋπολογιστή. Εκεί, η μέγιστη ταχύτητα μεταβολής της σκέδασης μετατρέπεται στην αντίστοιχη συγκέντρωση του αντιγόνου σε ελάχιστο χρόνο. Με τη νεφελομετρία προσδιορίζονται συγκεντρώσεις πρωτεϊνών της τάξης 10^{-3} - 10^{-6} g/l.

- **Ανοσοσφαιρίνες**

Οι ανοσοσφαιρίνες που εξετάσαμε στη μελέτη μας είναι IgA, IgG και IgM. Η μέτρησή τους έγινε με νεφελομετρία με τη χρήση των εμπορικών kit NAS IGA, NAS IGG και NAS IGM της εταιρείας SIEMENS. Η τεχνική εκτελέστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας. Οι τιμές αναφοράς για την IgA ήταν 70-400 mg/dl, για την IgG 700-1600 mg/dl και για την IgM 40-230 mg/dl.

- **Υποτάξεις ανοσοσφαιρινών**

Εξετάσαμε επίσης τις τέσσερις υποτάξεις (IgG1, IgG2, IgG3 και IgG4) της ανοσοσφαιρίνης IgG. Η μέτρησή τους έγινε με νεφελομετρία με τη χρήση των εμπορικών kit N AS IGG1-2 και N Latex IGG3 και N Latex IGG4 της εταιρείας SIEMENS. Οι τιμές αναφοράς για την IgG1 ήταν 405-1011 mg/dl, για την IgG2 169-786 mg/dl, για την IgG3 11-85 mg/dl και για την IgG4 3-201 mg/dl.

Επίσης, η μέτρηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης έγινε σε αιματολογικό αναλυτή Sysmex της Roche με τιμές αναφοράς >13,5 g/l για τους άνδρες και >12,0 g/l για τις γυναίκες. Ο υπολογισμός της ταχύτητας καθιζήσεως έγινε με τη μέθοδο κατά Westergren με τιμές αναφοράς 0-20 mm την πρώτη ώρα. Τέλος, ο προσδιορισμός των επιπέδων ασβεστίου έγινε σε βιοχημικό αναλυτή Cobas της Roche με τιμές αναφοράς 8,2-10,4 mg/dl.

δ) Στατιστική ανάλυση

Οι μέσες τιμές (mean), οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation=SD), οι διάμεσοι (median) και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (interquartile range) χρησιμοποιήθηκαν για

την περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών. Για την περιγραφή των αντισωμάτων EmA όμως χρησιμοποιήθηκαν οι αρνητικές τιμές των δεκαδικών λογαρίθμων λόγω του ότι τα αντισώματα εκφράζονται σε αραιώσεις ($1/\kappa$) και όσο μεγαλύτερη η τιμή του παρανομαστή τόσο περισσότερο θετικό είναι το αντίσωμα. Έτσι, με τη μετατροπή αυτή μπορεί να γίνει αντιληπτή η πτώση των αντισωμάτων στην περιγραφή των δεδομένων.

Οι απόλυτες (N) και οι σχετικές (%) συχνότητες χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών. Για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's χ^2 test ή το Fisher's exact test όπου ήταν απαραίτητο. Η ανάλυση διασποράς για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (ANOVA) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να ελεγχθούν διαφορές στις μετρήσεις μεταξύ των ομάδων αλλά και χρονικά. Επίσης, με την ανωτέρω μέθοδο εκτιμήθηκε εάν ο βαθμός μεταβολής στο χρόνο των υπό μελέτη παραμέτρων ήταν διαφορετικός μεταξύ δυο ομάδων. Εξαιτίας της ασυμμετρίας των κατανομών, χρησιμοποιήθηκαν λογαριθμικοί μετασχηματισμοί των μεταβλητών στην μέθοδο επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ANOVA.

Για τον έλεγχο του σφάλματος τύπου I, λόγω των πολλαπλών συγκρίσεων, χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση κατά Bonferroni σύμφωνα με την οποία το επίπεδο σημαντικότητας είναι $0,05/\kappa$ (κ = αριθμός των συγκρίσεων). Για την σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ περισσότερων από δύο ομάδων χρησιμοποιήθηκε ο παραμετρικός έλεγχος ανάλυσης διασποράς (ANOVA) ή το μη παραμετρικό κριτήριο Kruskal-Wallis.

Επίσης, υπολογίστηκε η ευαισθησία (Se), η ειδικότητα (Sp) που έχουν τα αντισώματα για τη διάγνωση (μεταξύ ασθενών και ομάδας ελέγχου που περιελάμβανε υγιή άτομα και άτομα με φλεγμονώδεις και μη νόσους του εντέρου) καθώς και τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης τους (95%CI).

Επιπρόσθετα, μέσω της ROC ανάλυσης βρέθηκε για τα αντισώματα το βέλτιστο σημείο-όριο (optimal cut-off) για την πρόγνωση της τήρησης της δίαιτας. Γι' αυτό το σημείο υπολογίστηκε η ευαισθησία (Se), η ειδικότητα (Sp), η αρνητική (NPV) και θετική προγνωστική αξία (PPV) καθώς και τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης τους (95%CI). Επιπλέον, προκειμένου να συγκριθεί η προγνωστική αξία των αντισωμάτων, χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα λογαριθμιστικής παλινδρόμησης και σύγκριση της

επιφάνειας κάτω από την καμπύλη, μέσω των προβλεπόμενων τιμών που προέκυπταν από τα μοντέλα.

Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0,05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά προγράμματα SPSS 17.0 και STATA 8.0.

Κεφάλαιο 8. Αποτελέσματα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το σύνολο των 113 ασθενών χωρίστηκε στην ομάδα Α (70 άτομα), στην οποία η πρώτη διάγνωση της νόσου έγινε στις αρχικές μετρήσεις της μελέτης μας, και στην ομάδα Β (43 άτομα) που ήδη βρίσκονταν σε ΔΕΓ, στην οποία η διάγνωση είχε τεθεί στο παρελθόν, προγενέστερα της μελέτης μας και η μέση διάρκεια νόσου ήταν $10,9 \pm 8,5$ έτη. Σε κάθε μια από αυτές τις δύο ομάδες των ασθενών υπήρχαν δυο επιμέρους υποομάδες αυτοί που τηρούσαν τη ΔΕΓ και αυτοί που την τηρούσαν μερικώς. Τα αντισώματα που προσδιορίστηκαν σε όλα τα δείγματα, σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές για κάθε ομάδα, ήταν τα έναντι EmA, tTG-A, AGA-A και AGA-G.

Επιπλέον, οι αρχικές μετρήσεις της ομάδας Α συγκρίθηκαν με αυτές της ομάδας ελέγχου (40 υγιή άτομα και 30 με φλεγμονώδη και μη φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου), ενώ ελέγχθηκαν για κοιλιοκάκη 47 συγγενείς πρώτου βαθμού από 28 ασθενείς των ομάδων Α και Β.

8.1 Αρχικές μετρήσεις στη διάγνωση – ομάδα ελέγχου

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 5) καταγράφεται η συχνότητα των αντισωμάτων EmA, tTG-A, AGA-A και AGA-G των πρωτοδιαγνωσθέντων ατόμων, της ομάδας Α, κατά την αρχική μέτρηση και τα αντίστοιχα ποσοστά της ομάδας ελέγχου.

Πίνακας 5. Συχνότητα ανίχνευσης αντισωμάτων της ομάδας Α και της ομάδας ελέγχου

		Ομάδα				P Pearson's χ^2 test
		Ομάδα Α		Ομάδα ελέγχου		
		N	%	N	%	
AGA-A	Αρνητικά	5	7,1	68	97,1	<0,001
	Θετικά	65	92,9	2	2,9	
AGA-G	Αρνητικά	6	8,6	67	95,7	<0,001
	Θετικά	64	91,4	3	4,3	
tTG-A	Αρνητικά	4	5,7	67	95,7	<0,001
	Θετικά	66	94,3	3	4,3	
EmA	Αρνητικά	3	4,3	70	100,0	<0,001
	Θετικά	67	95,7	0	0,0	

Φαίνεται ότι τα άτομα της ομάδας Α είχαν θετικά όλα τα αντισώματα, AGA-A (92,9%), AGA-G (91,4%), tTG-A (94,3%) και EmA (95,7%), κατά την αρχική μέτρηση, σε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά ($p < 0,001$) σε σύγκριση με τα αντίστοιχα της ομάδας ελέγχου.

Στην προσπάθεια αναζήτησης του καλύτερου προγνωστικού δείκτη για την κοιλιοκάκη στις ίδιες ομάδες προσδιορίστηκαν επίσης η ευαισθησία, η ειδικότητα, η θετική (PPV) και η αρνητική (NPV) προγνωστική αξία των αντισωμάτων καθώς και τα διαστήματα εμπιστοσύνης (ΔΕ). (Πίνακας 6)

Πίνακας 6. Ευαισθησία, ειδικότητα, PPV και NPV στην κοιλιοκάκη

	Ευαισθησία (%) (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (%) (95% ΔΕ)	PPV (%) (95% ΔΕ)	NPV (%) (95% ΔΕ)
AGA-A	92,9 (84,1 – 97,6)	97,1 (90,1 – 99,7)	97,0 (89,6 – 99,6)	93,2 (84,7 – 97,7)
AGA-G	91,4 (82,3 – 96,8)	95,7 (88,0 – 99,1)	95,5 (87,5 – 99,1)	91,8 (83,0 – 96,9)
tTG-A	94,3 (86,0 – 98,4)	95,7 (88,0 – 99,1)	95,7 (87,8 – 99,1)	94,4 (86,2 – 98,4)
EmA	95,7 (88,0 – 99,1)	100,0 (94,9 – 100,0)	100,0 (94,6 – 100,0)	95,9 (88,5 – 99,1)

Η ευαισθησία για τα AGA-A ήταν 92,9% (84,1%-97,6%) και η ειδικότητα 97,1% (90,1-99,7%), για τα AGA-G 91,4% (82,3%-96,8%) και 95,7% (88,0%-99,1%), ενώ για τα tTG-A 94,3% (86,0%-98,4%) και 95,7% (88,0%-99,1%) αντίστοιχα. Τέλος, για τα EmA περιγράφεται η μεγαλύτερη ευαισθησία που ήταν 95,7% (88,0%-99,1%) και η μεγαλύτερη ειδικότητα 100% (94,9%-100,0%). Τα EmA όμως είχαν επίσης τη μεγαλύτερη PPV και NPV με ποσοστά 100% (94,6%-100%) και 95,9 (88,5%-99,1%) ενώ τη μικρότερη PPV και NPV είχαν τα AGA-G με 95,5% (87,1-99,1%) και 91,8% (83,0%-96,9%) αντίστοιχα.

Η διακριτική ικανότητα των EmA ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με αυτή των AGA-A, των AGA-G και των tTG-A ($p=0,032$, $p=0,039$ και $p=0,043$), ενώ δεν βρέθηκαν άλλες διαφορές στη διακριτική ικανότητα μεταξύ των αντισωμάτων.

8.2 Μεταβολές των αντισωμάτων σε σχέση με το χρόνο

α) Μεταβολές των αντισωμάτων σε σχέση με το χρόνο-ομάδα Α

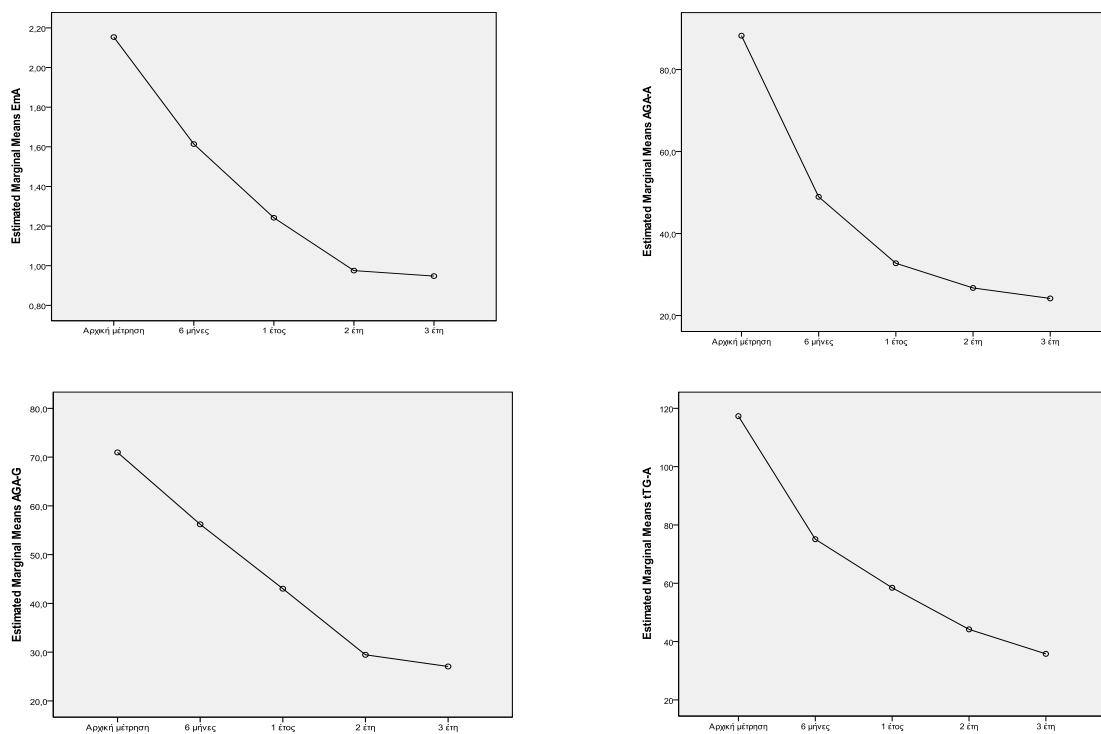
Μετά την αρχική μέτρηση, που για τους 70 ασθενείς της ομάδας Α ήταν και ο χρόνος που τέθηκε η διάγνωση της νόσου, ακολούθησαν αιμοληψίες στους 6 μήνες και 1, 2 και 3 έτη μετά τη διάγνωση. Έγιναν μετρήσεις των EmA, AGA-A, AGA-G και tTG-A σε όλες τις πιο πάνω χρονικές στιγμές, οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά ποσοτικά και ποιοτικά μαζί με τα επίπεδα σημαντικότητας στους Πίνακες 7, 8.

Όσον αφορά, λοιπόν, τις μεταβολές στις ποσοτικές μετρήσεις των αντισωμάτων (Πίνακας 7) συμπεραίνουμε ότι για όλα τα αντισώματα υπήρξε σημαντική μείωση των τιμών στο χρόνο. Συγκεκριμένα για τα EmA και AGA-A υπήρξε σημαντική μείωση από την αρχική μέτρηση στους 6 μήνες, από τους 6 μήνες στο 1 έτος και από το 1 έτος στα 2 έτη. Δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά οι τιμές τους από τα 2 στα 3 έτη αλλά συνολικά η μείωση των τιμών τους από την αρχική μέτρηση μέχρι τα 3 έτη ήταν σημαντική.

Για τα AGA-G και tTG-A όμως υπήρξε σημαντική μείωση σε όλα τα επιμέρους χρονικά διαστήματα, δηλαδή από την αρχική τους μέτρηση στους 6 μήνες, από τους 6 μήνες στο 1 έτος, από το 1 έτος στα 2 έτη καθώς και από τα 2 στα 3 .

Συμπερασματικά, όλα τα αντισώματα μειώνονται στο πρώτο εξάμηνο και εξακολουθούν να μειώνονται στο 1^ο και στο 2^ο έτος. Τα AGA-G και tTG-A συνεχίζουν να μειώνονται και στο 3^ο έτος.

Οι ποσοτικές μεταβολές του κάθε αντισώματος χωριστά των ασθενών της ομάδας Α σε σχέση με το χρόνο φαίνονται στα διαγράμματα της εικόνας 10.



Εικόνα 10. Ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας A σε σχέση με το χρόνο

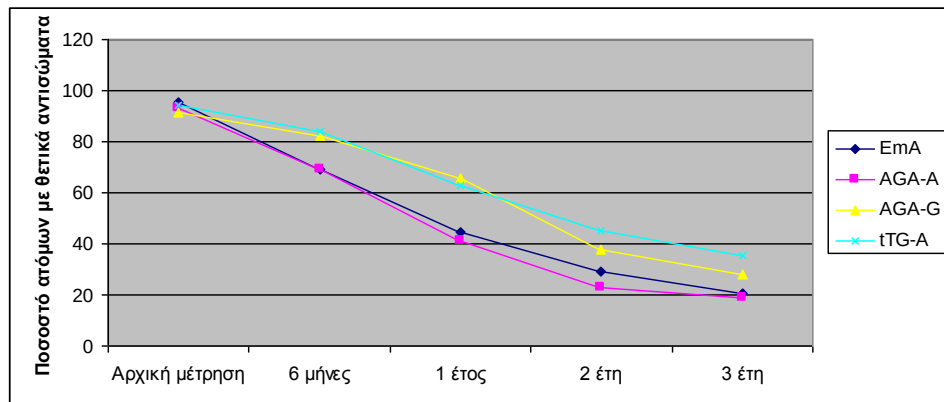
Όπως και στις ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων έτσι και στις μεταβολές των ποσοστών (%) των ασθενών με θετικά αντισώματα συνολικά έχουμε σημαντική μείωση γενικά στο χρόνο, δηλαδή από την αρχική μέτρηση μέχρι τα τρία έτη, για όλα τα αντισώματα. Στα επιμέρους χρονικά διαστήματα όμως έχουμε μικρές διαφορές. (Πίνακας 8)

Έτσι, το ποσοστό των ατόμων της ομάδας A με θετικά EmA μειώθηκε σημαντικά από την αρχική μέτρηση στους 6 μήνες και από τους 6 μήνες στο 1 έτος, ενώ δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή του ποσοστού αυτού από το 1 έτος στα 2 και από τα 2 στα 3 έτη.

Όσον αφορά το ποσοστό των ατόμων με θετικά AGA-A και αυτό με θετικά tTG-A μειώθηκαν σημαντικά από την αρχική μέτρηση στους 6 μήνες, από τους 6 μήνες στο 1 έτος και από το 1 έτος στα 2 χωρίς να υπάρχει σημαντική μεταβολή από τα 2 στα 3 έτη. Τέλος, το ποσοστό των ασθενών με θετικά AGA-G μειώθηκε σημαντικά από τους 6 μήνες στο 1 έτος και από το 1 έτος στα 2. Δεν υπήρξε όμως σημαντική μεταβολή αυτού από την αρχική μέτρηση στους 6 μήνες και από τα 2 στα 3 έτη.

Συμπερασματικά, τα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά EmA, AGA-A και tTG-A αντισώματα μειώνονται στο πρώτο εξάμηνο. Δε μειώνεται το ποσοστό αυτών με θετικά AGA-G. Από τους 6 μήνες στον 1 χρόνο όμως μειώνονται σημαντικά όλα τα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά αντισώματα, μείωση που συνεχίζεται για τα AGA-A, AGA-G και tTG-A και από το 1^ο στο 2^ο έτος. Από το 2^ο στο 3^ο έτος κανένα αντίσωμα δεν μειώνεται περαιτέρω.

Το γράφημα της εικόνας 11 απεικονίζει τη μεταβολή του ποσοστού των ασθενών της ομάδας A με θετικά αντισώματα σε σχέση με το χρόνο.



Εικόνα 11. Μεταβολή του ποσοστού των ασθενών της ομάδας A με θετικά αντισώματα σε σχέση με το χρόνο.

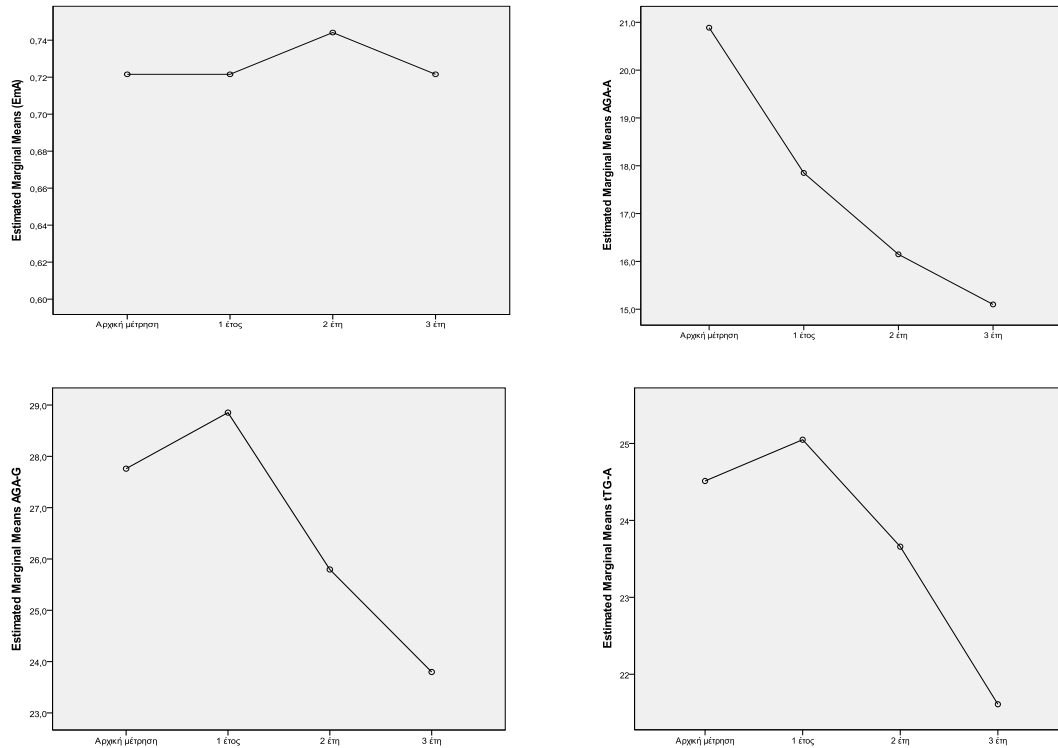
β) Μεταβολές των αντισωμάτων σε σχέση με το χρόνο-ομάδα B

Για τους 43 ασθενείς της ομάδας B, στους οποίους η διάγνωση είχε προηγηθεί της μελέτης μας, έγιναν τέσσερις αιμοληψίες -αρχική μέτρηση και ακολούθως μια κάθε έτος στα επόμενα 3 έτη- και αντίστοιχες μετρήσεις των EmA, AGA-A, AGA-G και tTG-A οι οποίες φαίνονται ποσοτικά και ποιοτικά (%) μαζί με τα επίπεδα σημαντικότητας (p) στους Πίνακες 9,10.

Στις ποσοτικές μετρήσεις δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή των τιμών των EmA, AGA-G και tTG-A στο χρόνο. Υπήρξε μόνο σημαντική μείωση των τιμών του AGA-A στο χρόνο ενώ πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι δε διέφεραν οι τιμές των EmA, AGA-A, AGA-G και tTG-A μεταξύ των διαδοχικών μετρήσεων. (Πίνακας 9)

Συμπερασματικά λοιπόν θα λέγαμε ότι κανένα από τα αντισώματα των ασθενών της ομάδας Β δε μεταβάλλεται σημαντικά στο χρόνο με εξαίρεση τα AGA-A.

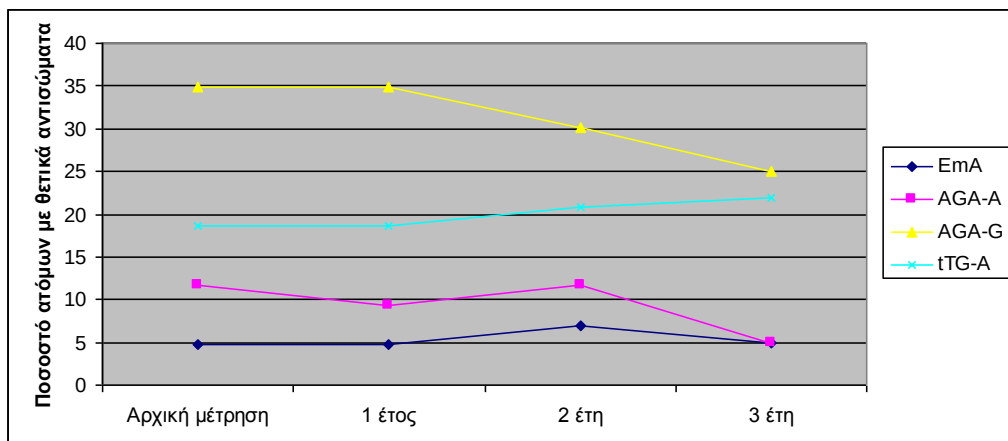
Οι ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας Β σε σχέση με το χρόνο φαίνονται στην εικόνα 12.



Εικόνα 12. Ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας Β σε σχέση με το χρόνο

Στη συνέχεια ελέγχθηκαν οι ποιοτικές μεταβολές των ποσοστών των συμμετεχόντων της ομάδας Β με θετικά αντισώματα στο χρόνο. Όπως και στις ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων αυτής της ομάδας, έτσι και στις ποιοτικές δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή. Δε μεταβλήθηκε σημαντικά ούτε το ποσοστό του AGA-A.

Στο γράφημα που ακολουθεί (εικόνα 13) απεικονίζεται η μεταβολή ποσοστού των ασθενών της ομάδας Β με θετικά αντισώματα σε σχέση με το χρόνο.



Εικόνα 13. Μεταβολή του ποσοστού των ασθενών της ομάδας Β με θετικά αντισώματα σε σχέση με το χρόνο.

8.3 Μεταβολές των αντισωμάτων στο χρόνο σε σχέση με τη διαίτα

α) Μεταβολές των αντισωμάτων στο χρόνο σε σχέση με τη διαίτα-ομάδα Α

Οι 51 από τους 70 ασθενείς της ομάδας Α, δηλαδή το 72,9%, τηρούσε τη ΔΕΓ χωρίς παρεκκλίσεις ενώ οι υπόλοιποι 19, δηλαδή το 27,1% αυτών την τηρούσε μερικώς. Δεν υπήρχαν ασθενείς που δεν την τηρούσαν καθόλου, ίσως γιατί η παρακολούθησή τους σε τακτά χρονικά διαστήματα τους εξανάγκαζε να ακολουθούνε τους κανόνες.

Οι ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας Α στο χρόνο σε σχέση με την τήρηση της διαίτας καθώς και οι ποιοτικές μεταβολές των ποσοστών περιγράφονται αναλυτικά μαζί με τα επίπεδα σημαντικότητας στους πίνακες 11,12.

Βλέπουμε, λοιπόν, ότι υπήρξε σημαντική μείωση στις τιμές των AGA-A από την αρχική μέτρηση στα 3 χρόνια ανεξάρτητα από την τήρηση ή μερική τήρηση της διαίτας. Οι τιμές των AGA-A στο 1^ο, 2^ο και 3^ο έτος ήταν σημαντικά υψηλότερες στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη διαίτα, ενώ ο βαθμός μεταβολής τους διέφερε ανάλογα με την τήρηση της διαίτας έχοντας μεγαλύτερη μείωση σε αυτούς που την τηρούσαν.

Όσον αφορά τα AGA-G υπήρξε σημαντική μείωση στις τιμές τους από την αρχική μέτρηση στα 3 χρόνια μόνο στα άτομα που τηρούσαν τη διαίτα. Οι τιμές τους στο 1^ο, 2^ο

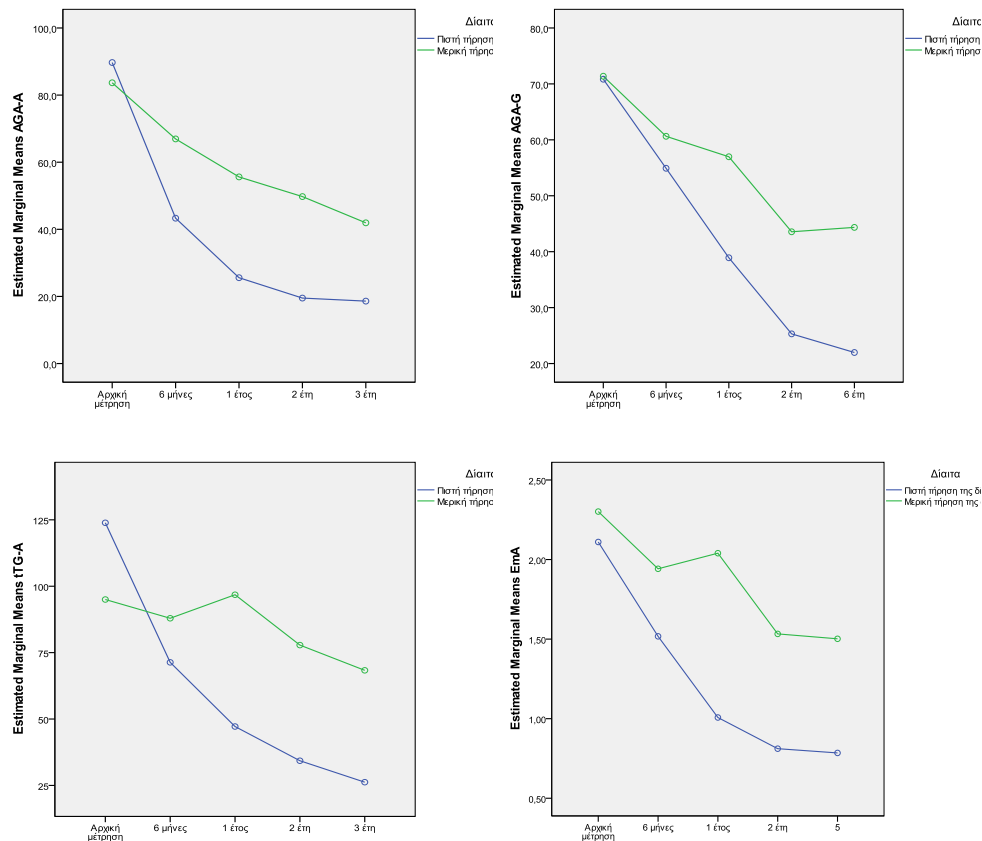
και 3^ο έτος ήταν σημαντικά υψηλότερες στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα και ο βαθμός μεταβολής τους διέφερε σημαντικά ανάλογα με την τήρηση αυτής. Συγκεκριμένα, στα άτομα που τηρούσαν πλήρως τη δίαιτα υπήρξε σημαντική μείωση των τιμών των AGA-G ενώ στα άτομα που την τηρούσαν μερικώς δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή.

Υπήρξε σημαντική μείωση στις τιμές των tTG-A από την αρχική μέτρηση στα 3 χρόνια μόνο στα άτομα που τηρούσαν τη δίαιτα. Οι τιμές των tTG-A στο 1^ο, 2^ο και 3^ο έτος ήταν σημαντικά υψηλότερες στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα ενώ ο βαθμός μεταβολής τους διέφερε σημαντικά ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας. Δηλαδή, στα άτομα που τηρούσαν τη δίαιτα υπήρξε σημαντική μείωση ενώ στα άτομα που την τηρούσαν μερικώς δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή.

Τέλος, υπήρξε σημαντική μείωση και στις τιμές των EmA από την αρχική μέτρηση στα 3 χρόνια ανεξάρτητα από την τήρηση ή μερική τήρηση της δίαιτας. Οι τιμές των EmA στους 6 μήνες καθώς και στο 1^ο, 2^ο και 3^ο έτος ήταν σημαντικά υψηλότερες στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα. Ο βαθμός μεταβολής των EmA διέφερε σημαντικά ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας δηλαδή στα άτομα που τηρούσαν τη δίαιτα υπήρξε σημαντική μεγαλύτερη μείωση σε σύγκριση με τα άτομα που την τηρούσαν μερικώς.

Συμπερασματικά, όλα τα αντισώματα των συμμετεχόντων μειώνονται στο χρόνο περισσότερο σε αυτούς που τηρούν τη δίαιτά τους. Αξίζει να σημειωθεί όμως ότι μόνο τα EmA έχουν διαφορά ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας από το 1^ο κιόλας εξάμηνο.

Στο γράφημα που ακολουθεί (εικόνα 14) απεικονίζει τις μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας A στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτάς.



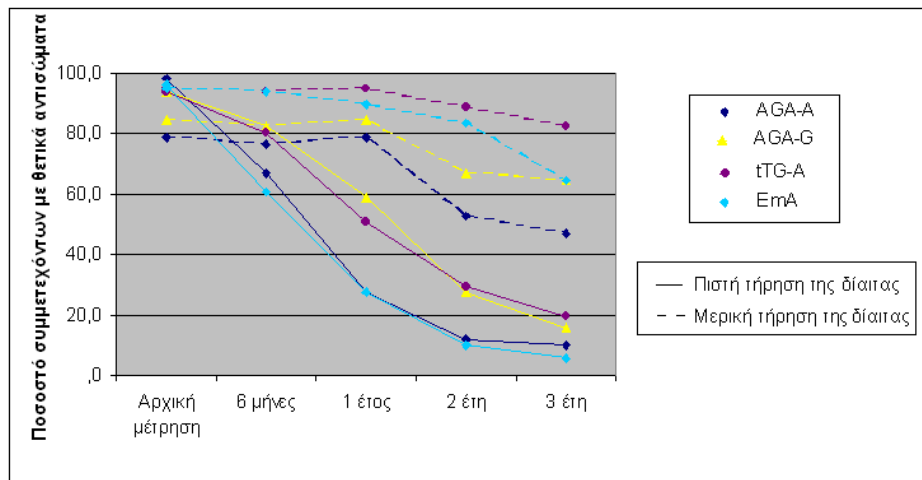
Εικόνα 14. Ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας A στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας

Τα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά AGA-A μειώθηκαν σημαντικά από την αρχική μέτρηση μέχρι τα 3 χρόνια ανεξάρτητα από την τήρηση ή μερική τήρηση της δίαιτας. Τα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά AGA-A στην αρχική μέτρηση ήταν σημαντικά υψηλότερα στα άτομα που τηρούσαν τη δίαιτα ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά AGA-A στο 1^ο, 2^ο και 3^ο έτος ήταν σημαντικά υψηλότερα στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα.

Τα ποσοστά τόσο των συμμετεχόντων με θετικά AGA-G όσο και αυτών με θετικά tTG-A μειώθηκαν σημαντικά από την αρχική μέτρηση μέχρι τα 3 χρόνια μόνο στα άτομα που τηρούσαν πλήρως τη δίαιτα ενώ στο 1^ο, 2^ο και 3^ο έτος ήταν σημαντικά υψηλότερα στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα.

Σημαντική μείωση παρατηρήθηκε και στα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά EmA από την αρχική μέτρηση μέχρι τα 3 χρόνια ανεξάρτητα από την τήρηση ή μερική τήρηση της δίαιτας. Επίσης, τα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά EmA στους 6 μήνες, στο 1^ο, 2^ο και 3^ο έτος ήταν σημαντικά υψηλότερα στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα.

Στο παρακάτω γράφημα (εικόνα 15) δίνεται η μεταβολή των ποσοστών των συμμετεχόντων με θετικά αντισώματα στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτάς τους.



Εικόνα 15. Μεταβολή του ποσοστού των ασθενών της ομάδας A με θετικά αντισώματα στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας.

β) Μεταβολές των αντισωμάτων στο χρόνο σε σχέση με τη δίαιτα –ομάδα B

Οι 38 από τους 43 ασθενείς της B ομάδας, δηλαδή το 88,4 %, τηρούσαν τη ΔΕΓ χωρίς παρεκκλίσεις, ενώ μόνο 5 ασθενείς, δηλαδή το 11,6%, την τηρούσαν μερικώς.

Τόσο οι ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας B στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτάς τους όσο και οι ποιοτικές μεταβολές των ποσοστών των ασθενών με θετικά και αρνητικά αντισώματα περιγράφονται στους πίνακες 13, 14 αντίστοιχα.

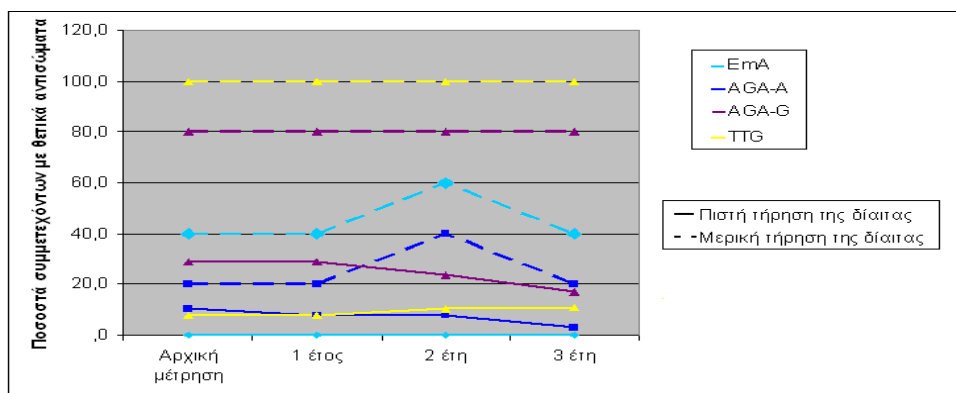
Όσον αφορά τις ποσοτικές μεταβολές για κανένα από τα αντισώματα δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή συνολικά από την αρχική μέτρηση στα 3 έτη ούτε στα άτομα που

τηρούσαν τη δίαιτα ούτε στα άτομα που την τηρούσαν μερικώς. Οι τιμές του AGA-A δεν διέφεραν σημαντικά ανάλογα με την τήρηση ή μερική τήρηση της διαίτας σε καμία μέτρηση, αλλά ούτε και ο βαθμός μεταβολής του δε διέφερε ανάλογα με την τήρηση της διαίτας.

Οι τιμές των AGA-G, των tTG-A και των EmA, όμως, σε όλες τις μετρήσεις ήταν σημαντικά υψηλότερες στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα χωρίς όμως ο βαθμός μεταβολής τους να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με την τήρηση της διαίτας.

Επίσης και τα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά AGA-A, όχι μόνο δε μεταβλήθηκαν σημαντικά από την αρχική μέτρηση μέχρι τα 3 χρόνια, ανεξάρτητα από την τήρηση ή μερική τήρηση της διαίτας, αλλά δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους σε καμία μέτρηση. Ούτε τα ποσοστά των συμμετεχόντων με θετικά EmA, tTG-A και AGA-G μεταβλήθηκαν σημαντικά από την αρχική μέτρηση μέχρι τα 3 χρόνια ανεξάρτητα από την τήρηση ή μερική τήρηση της διαίτας, αλλά εδώ τα αντίστοιχα ποσοστά τους ήταν σημαντικά υψηλότερα στα άτομα που τηρούσαν μερικώς τη δίαιτα.

Συμπερασματικά, λοιπόν, τόσο για τις ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας B σε σχέση με τη ΔΕΓ όσο και για τα αντίστοιχα ποσοστά (%) θα λέγαμε ότι δεν υπάρχει καμία σημαντική μεταβολή στο χρόνο ανεξάρτητα από την τήρησης της διαίτας (εικόνα 16).



Εικόνα 16. Μεταβολή του ποσοστού των ασθενών της ομάδας B με θετικά αντισώματα στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της διαίτας.

8.4 Προγνωστική αξία των αντισωμάτων για την τήρηση της δίαιτας

Για να συγκριθεί η προγνωστική αξία των αντισωμάτων για την τήρηση της δίαιτας, στους ασθενείς της ομάδας A χρησιμοποιήθηκαν οι ROC αναλύσεις για κάθε χρονικό διάστημα και έγινε σύγκριση της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη.

Προκειμένου να βρεθεί για κάθε αντίσωμα το βέλτιστο σημείο για την πρόγνωση της τήρησης της δίαιτας υπολογίστηκε η ευαισθησία, η ειδικότητα, η αρνητική (NPV) και θετική προγνωστική αξία (PPV) καθώς και τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης τους (95%CI). Έτσι για κάθε αντίσωμα αναφέρονται δύο όρια: το διαγνωστικό όριο το οποίο δίνεται από το εργαστήριο σύμφωνα με τη μέθοδο προσδιορισμού που χρησιμοποιείται (Δ. Όριο 1) και το διαγνωστικό όριο που προκύπτει από τη ROC καμπύλη για την τήρηση της ΔΕΓ (Δ. Όριο 2).

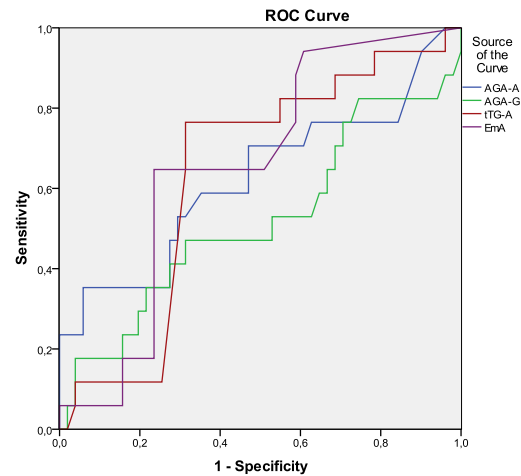
Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται αναλυτικά οι ευαισθησίες, ειδικότητες, PPV και NPV για την τήρηση της δίαιτας, καθώς και οι επιφάνειες κάτω από την καμπύλη (AU ROC) για όλα τα αντισώματα κατά την μέτρηση των 6 μηνών. (Πίνακας 15).

Πίνακας 15. ROC ανάλυση για την προγνωστική αξία των αντισωμάτων στην τήρηση της ΔΕΓ στους έξι μήνες

Αντίσωμα	Διαγνωστικά Όρια	Ευαισθησία (%) (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (%) (95% ΔΕ)	PPV (%) (95% ΔΕ)	NPV (%) (95% ΔΕ)	AU ROC (95% ΔΕ)
AGA-A	Δ.Όριο 1 (25)	76,5 (50,1 – 93,2)	33,3 (20,8 – 47,9)	27,7 (15,6 – 42,6)	81,0 (58,1 – 94,6)	
	Δ.Όριο 2	-	-	-	-	0,62 (0,45 - 0,80)
AGA-G	Δ.Όριο 1 (25)	82,4 (56,6 – 96,2)	17,7 (8,4 – 30,9)	25,0 (14,4 – 38,4)	75,0 (42,8 – 94,5)	
	Δ.Όριο 2	-	-	-	-	0,52 (0,35 - 0,70)
tTG-A	Δ.Όριο 1 (25)	94,1 (71,3 – 99,9)	19,6 (9,8 – 33,1)	28,1 (17,0 – 41,5)	90,9 (58,7 – 99,8)	
	Δ.Όριο 2	-	-	-	-	0,63 (0,49 - 0,78)
EmA	Δ.Όριο 1 (1/10)	94,1 (71,3 – 99,9)	39,2 (25,8 – 53,9)	34,0 (20,9 – 49,3)	95,2 (76,2 – 99,9)	
	Δ.Όριο 2 (1/80)	64,7 (38,3 – 85,8)	76,5 (62,5 – 87,2)	47,8 (26,8 – 69,4)	86,7 (73,2 – 95,0)	0,64 (0,50 - 0,79)

Σημαντική προγνωστική ικανότητα όσον αφορά την τήρηση της δίαιτας στους πρώτους 6 μήνες από την αρχική διάγνωση και ταυτόχρονη έναρξη της ΔΕΓ, είχαν μόνο τα EmA. Άρα τα EmA είναι τα μοναδικά αντισώματα που έχουν προγνωστική αξία για το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.

Στο παρακάτω γράφημα (εικόνα 17) δίνονται οι ROC καμπύλες που αφορούν την προγνωστική αξία όλων των αντισωμάτων για την τήρηση της ΔΕΓ στους 6 μήνες.



Εικόνα 17. ROC καμπύλες στην πρόγνωση για την τήρηση της ΔΕΓ στους 6 μήνες

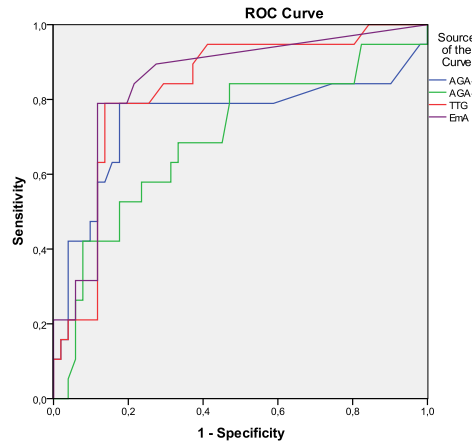
Οι ίδιες παράμετροι για όλα τα αντισώματα υπολογίστηκαν ακολούθως και για το επόμενο χρονικό διάστημα, δηλαδή το 1 έτος. Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται αναλυτικά οι ευαισθησίες, ειδικότητες, θετικές και αρνητικές προγνωστικές αξίες, καθώς και οι επιφάνειες κάτω από την καμπύλη για όλα τα αντισώματα κατά την μέτρηση του 1 έτους.

Πίνακας 16. ROC ανάλυση για την προγνωστική αξία των αντισωμάτων στην τήρηση της ΔΕΓ στο 1 έτος

Αντίσωμα	Διαγνωστικά Όρια	Ευαισθησία(%) (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (%) (95% ΔΕ)	PPV (%) (95% ΔΕ)	NPV (%) (95% ΔΕ)	AU ROC (95% ΔΕ)
AGA-A	Δ.Όριο 1 (25)	79,0 (54,4 – 94,0)	72,6 (58,3 – 84,1)	51,7 (32,5 – 70,6)	90,2 (76,9 – 97,3)	
	Δ.Όριο 2 (30)	79,0 (54,4 – 94,0)	82,4 (69,1 – 91,6)	62,5 (40,6 – 81,2)	91,3 (79,2 – 97,6)	0,75 (0,59 - 0,91)
AGA-G	Δ.Όριο 1 (25)	84,2 (60,4 – 96,6)	41,2 (27,6 – 55,8)	34,8 (21,4 – 50,3)	87,5 (67,6 – 97,3)	
	Δ.Όριο 2(27,7)	84,2 (60,4 – 96,6)	52,9 (38,5 – 67,1)	40,0 (24,9 – 56,7)	90,0 (73,5 – 97,9)	0,70 (0,55 - 0,84)
tTG-A	Δ.Όριο 1 (25)	94,7 (74,0 – 99,9)	49,0 (34,8 – 63,4)	40,9 (26,3 – 56,8)	96,2 (80,4 – 99,9)	
	Δ.Όριο 2 (33)	79,0 (54,4 – 94,0)	86,3 (73,7 – 94,3)	68,2 (45,1 – 86,1)	91,7 (80,0 – 97,7)	0,83 (0,72 - 0,94)
EmA	Δ.Όριο 1 (1/10)	89,5 (66,9 – 98,7)	72,6 (58,3 – 84,1)	54,8 (36,0 – 72,7)	94,9 (82,7 – 99,4)	
	Δ.Όριο 2 (1/80)	79,0 (54,4 – 94,0)	88,2 (76,1 – 95,6)	71,4 (47,8 – 88,7)	91,8 (80,4 – 97,7)	0,85 (0,74 - 0,95)

Γι' αυτό το χρονικό διάστημα σημαντική προγνωστική ικανότητα όσον αφορά την τήρηση της δίαιτας είχαν τα όλα τα αντισώματα. Τα tTG-A και EmA όμως είχαν

σημαντικά μεγαλύτερη προγνωστική ικανότητα σε σύγκριση με τα AGA-G ($p=0,046$ και $p=0,025$ αντίστοιχα). Στο γράφημα που ακολουθεί (εικόνα 18) δίνονται οι ROC καμπύλες που αφορούν την προγνωστική αξία όλων των αντισωμάτων για την τήρηση της ΔΕΓ στο 1 έτος.



Εικόνα 18. ROC καμπύλες στην πρόγνωση για την τήρηση της ΔΕΓ στους στο 1 έτος

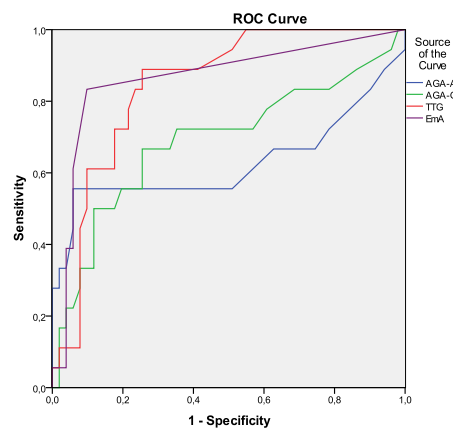
Στο χρονικό διάστημα των 2 ετών αναφέρεται ο πίνακας που ακολουθεί (Πίνακας 17) στον οποίο καταγράφονται οι ευαισθησίες, ειδικότητες, θετικές και αρνητικές προγνωστικές αξίες, καθώς και οι επιφάνειες κάτω από την καμπύλη για όλα τα αντισώματα κατά την μέτρηση στο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.

Πίνακας 17. ROC ανάλυση για την προγνωστική αξία των αντισωμάτων στην τήρηση της ΔΕΓ στα 2 έτη

Αντίσωμα	Διαγνωστικά όρια	Ευαισθησία (%) (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (%) (95% ΔΕ)	PPV (%) (95% ΔΕ)	NPV (%) (95% ΔΕ)	AU ROC (95% ΔΕ)
AGA-A	Δ.Όριο 1 (25)	52,6 (28,9 – 75,6)	88,2 (76,1 – 95,6)	62,5 (35,4 – 84,8)	83,3 (70,7 – 92,1)	
	Δ.Όριο 2	-	-	-	-	0,61 (0,42 - 0,79)
AGA-G	Δ.Όριο 1 (25)	66,7 (41,0 – 86,7)	72,6 (58,3 – 84,1)	46,2 (26,6 – 66,6)	86,1 (72,1 – 94,7)	
	Δ.Όριο 2 (30,9)	66,7 (41,0 – 86,7)	74,5 (60,4 – 85,7)	48,0 (27,8 – 68,7)	86,4 (72,7 – 94,8)	0,69 (0,53 - 0,85)
TTG-A	Δ.Όριο 1 (25)	88,9 (65,3 – 98,6)	70,6 (56,2 – 82,5)	51,6 (33,1 – 69,9)	94,7 (82,3 – 99,4)	
	Δ.Όριο 2 (33)	88,9 (65,3 – 98,6)	74,5 (60,4 – 85,7)	55,2 (35,7 – 73,6)	95,0 (83,1 – 99,4)	0,84 (0,75 - 0,94)
EmA	Δ.Όριο 1 (1/10)	83,3 (58,6 – 96,4)	90,2 (78,6 – 96,7)	75,0 (50,9 – 91,3)	93,9 (83,1 – 98,7)	
	Δ.Όριο 2 (1/10)	83,3 (58,6 – 96,4)	90,2 (78,6 – 96,7)	75,0 (50,9 – 91,3)	93,9 (83,1 – 98,7)	0,87 (0,75 - 0,98)

Παρατηρώντας τις επιφάνειες κάτω από τις καμπύλες εύκολα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι προγνωστική ικανότητα όσο αφορά την τήρηση της δίαιτας είχαν τα όλα τα αντισώματα εκτός από τα AGA-A. Η προγνωστική ικανότητα όμως των tTG και EmA όσο αφορά την τήρηση της ΔΕΓ, όπως και στο 1 έτος, ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή του AGA-G ($p=0,028$ και $p=0,006$ αντίστοιχα).

Στο γράφημα που ακολουθεί (εικόνα 19) δίνονται οι ROC καμπύλες που αφορούν την προγνωστική αξία όλων των αντισωμάτων για την τήρηση της ΔΕΓ στα 2 έτη.



Εικόνα 19. ROC καμπύλες στην πρόγνωση για την τήρηση της ΔΕΓ στα 2 έτη

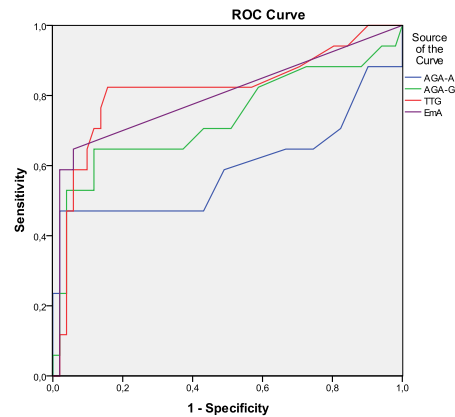
Ακολουθώς, για το χρονικό διάστημα των 3 ετών στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 18) περιγράφονται αναλυτικά οι ευαισθησίες, ειδικότητες, θετικές και αρνητικές προγνωστικές αξίες καθώς και οι επιφάνειες κάτω από την καμπύλη για όλα τα αντισώματα

Πίνακας 18. ROC ανάλυση για την προγνωστική αξία των αντισωμάτων στην τήρηση της ΔΕΓ στα 3 έτη

Αντίσωμα	Διαγνωστικά όρια	Ευαισθησία (%) (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (%) (95% ΔΕ)	PPV (%) (95% ΔΕ)	NPV (%) (95% ΔΕ)	AU ROC (95% ΔΕ)
AGA-A	Δ.Όριο 1 (25)	47,1 (23,0 – 72,2)	90,2 (78,6 – 96,7)	61,5 (31,6 – 86,1)	83,6 (71,2 – 92,2)	
	Δ.Όριο 2	-	-	-	-	0,59 (0,39 - 0,79)
AGA-G	Δ.Όριο 1 (25)	64,7 (38,3 – 85,8)	84,3 (71,4 – 93,0)	57,9 (33,5 – 79,8)	87,8 (75,2 – 95,4)	
	Δ.Όριο 2(30,15)	64,7 (38,3 – 85,8)	88,2 (76,1 – 95,6)	64,7 (38,3 – 85,8)	88,2 (76,1 – 95,6)	0,73 (0,57 - 0,90)
tTG-A	Δ.Όριο 1 (25)	82,4 (56,6 – 96,2)	80,4 (66,9 – 90,2)	58,3 (36,6 – 77,9)	93,2 (81,3 – 98,6)	
	Δ.Όριο 2 (31)	82,4 (56,6 – 96,2)	84,3 (71,4 – 93,0)	63,6 (40,7 – 82,8)	93,5 (82,1 – 98,6)	0,82 (0,68 - 0,95)
EmA	Δ.Όριο 1 (1/10)	64,7 (38,3 – 85,8)	94,1 (83,8 – 98,8)	78,6 (49,2 – 95,3)	88,9 (77,4 – 95,8)	
	Δ.Όριο 2 (1/10)	64,7 (38,3 – 85,8)	94,1 (83,8 – 98,8)	78,6 (49,2 – 95,3)	88,9 (77,4 – 95,8)	0,80 (0,65 - 0,94)

Σημαντική προγνωστική ικανότητα όσο αφορά την τήρηση της ΔΕΓ είχαν τα όλα τα αντισώματα εκτός από τα AGA-A. Γι' αυτό το χρονικό διάστημα όμως δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στην προγνωστική ικανότητα των αυτοαντισωμάτων όσον αφορά την τήρηση της δίαιτας.

Στο γράφημα που ακολουθεί (εικόνα 20) δίνονται οι καμπύλες ROC για όλα τα αντισώματα κατά τα τρία έτη.



Εικόνα 20. ROC καμπύλες στην πρόγνωση για την τήρηση της ΔΕΓ στα 3 έτη

Συμπερασματικά, λοιπόν, θα λέγαμε ότι στους 6 μήνες μόνο τα EmA έχουν προγνωστική ικανότητα. Στο πρώτο και δεύτερο έτος όμως όλα τα αντισώματα εκτός από τα AGA-A έχουν προγνωστική ικανότητα με τα EmA και tTG-A να έχουν ισάξια και καλύτερη από τα AGA-G. Στα τρία χρόνια όλα τα αντισώματα εκτός από τα AGA-A έχουν προγνωστική ικανότητα, η οποία είναι ισάξια.

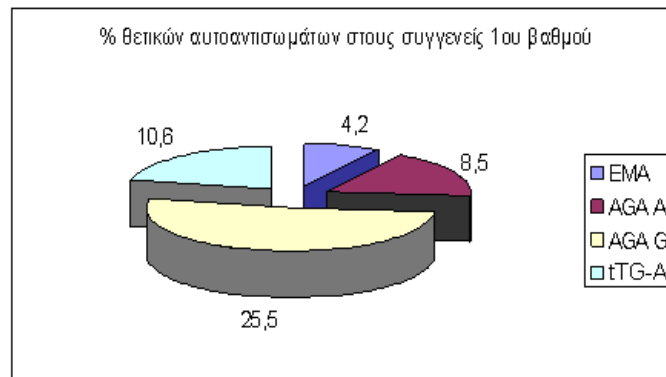
8.5 Προσδιορισμός αντισωμάτων στους συγγενείς

Στους 47 συγγενείς πρώτου βαθμού των 28 ασθενών με κοιλιοκάκη, οι οποίοι ήταν 10 γονείς, 8 αδέρφια και 29 παιδιά, έγινε ορολογικός έλεγχος των EmA, AGA-A, AGA-G και tTG-A.

Από τις μετρήσεις των αντισωμάτων βρέθηκε ότι θετικά EmA είχαν δύο συγγενείς (2/47) ποσοστό 4,2%, θετικά AGA-A είχαν τέσσερις (4/47) ποσοστό 8,5%, θετικά AGA-G

είχαν δώδεκα (12/47) ποσοστό 25,5% και θετικά tTG-A πέντε (5/47) ποσοστό 10,6% αντίστοιχα.

Σχηματική παράσταση των αντισωμάτων που ανευρέθησαν στους συγγενείς πρώτου βαθμού των ασθενών με κοιλιοκάκη της παρούσας μελέτης παρουσιάζεται στην εικόνα 21.



Εικόνα 21. Σχηματική απεικόνιση των ανευρισκόμενων αντισωμάτων στους συγγενείς πρώτου βαθμού ατόμων με κοιλιοκάκη.

Τα δύο άτομα που είχαν EmA θετικά, ποσοστό 4,2%, βρέθηκε ότι έπασχαν από κοιλιοκάκη. Ο θετικός ορολογικός τους έλεγχος επιβεβαιώθηκε και με βιοψία.

Τα δύο αυτά άτομα ήταν ένα κορίτσι 12 ετών που είχε κοιλιοκάκη ο πατέρας του και ένα αγόρι 18 ετών που νοσούσε η μητέρα του

Οι τιμές των αντισωμάτων τους φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 19)

Πίνακας 19. Οι τιμές των αυτοαντισωμάτων των συγγενών πρώτου βαθμού που πάσχουν από κοιλιοκάκη

Ασθενείς	EmA	AGA-A	AGA-G	tTG-A
1	1/40	55	76	90
2	1/20	65	87	67

Στους υπόλοιπους 45 συγγενείς που δεν έπασχαν από κοιλιοκάκη τα EmA ήταν αρνητικά αλλά σε ορισμένους από αυτούς καταγράφηκαν θετικές τιμές σε ένα ή

περισσότερα από τα άλλα αντισώματα. Έτσι, οι θετικές τιμές των AGA-A των συγγενών που δεν έπασχαν ήταν 29 U/L και 26 U/L, οι αντίστοιχες των AGA-G κυμαίνονταν από 27,1 έως 133 U/L, ενώ των tTG-A ήταν 49 U/L, 60,2 U/L και 63 U/L.

8.6 Μέτρηση ανοσοσφαιρινών και υποτάξεων

Επιπρόσθετα, μόνο στο αρχικό δείγμα όλων των συμμετεχόντων της μελέτης μας, έγινε ποσοτικός προσδιορισμός των ανοσοσφαιρινών IgG, IgA, IgM καθώς και των υποτάξεων της IgG

Οι μέσες τιμές των IgG, IgA, IgM, IgG1, IgG2, IgG3 και IgG4 στους ασθενείς των ομάδων Α και Β, στους συγγενείς καθώς και στην ομάδα ελέγχου φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 20).

Πίνακας 20. Μέση τιμή των ανοσοσφαιρινών και των υποτάξεων που μετρήθηκαν σε όλους τους συμμετέχοντες στη μελέτη

	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Συγγενείς	Ομάδα ελέγχου
	Μέση τιμή±SD	Μέση τιμή±SD	Μέση τιμή±SD	Μέση τιμή±SD
IgG	1235,9±302,6	1246,9±266,9	1238,6±251,6	1247,6±245,6
IgA	204,6±143,3	172,3±68,8	195,7±89,6	202,4±90,4
IgM	125,9±62,4	123±60,2	131,6±58,3	127,6±59,4
IgG1	691,9±236,1	745,7±208,5	712,5±202,3	698,8±198,4
IgG2	349,3±129,1	363±104,2	353,4±112,4	345,4±115,8
IgG3	41,4±18,9	68,4±90,5	55,4±34,6	60,3±65,3
IgG4	45,6±40,1	48,2±29,6	49,1±31,3	46±34,2

Δε βρέθηκε σημαντική διαφορά στις ανωτέρω παραμέτρους όταν συγκρίθηκαν μεταξύ των τεσσάρων ομάδων ($p > 0,05$). Επίσης κανένα άτομο από καμία ομάδα δεν είχε IgA ανεπάρκεια.

8.7 Μέτρηση γενικών παραμέτρων

α) Αιμοσφαιρίνη

Στον πίνακα (Πίνακας 21) που ακολουθεί δίνονται οι τιμές της αιμοσφαιρίνης ξεχωριστά για κάθε ομάδα Α και την ομάδα Β σε κάθε μέτρηση.

Πίνακας 21. Μέσες τιμές αιμοσφαιρίνης των ομάδων Α και Β

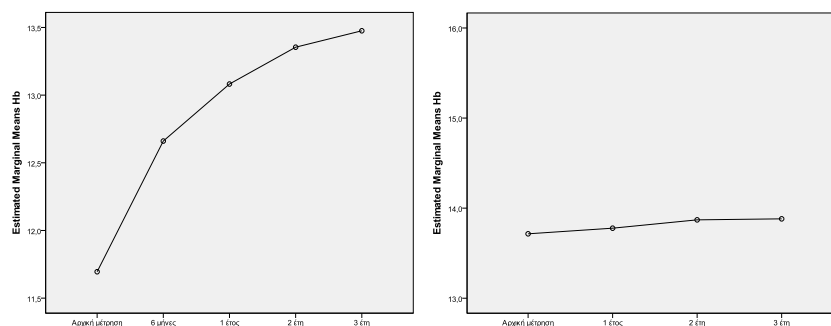
	A ομάδα	B ομάδα
	Μέση τιμή±SD	Μέση τιμή±SD
Αρχική /0	11,7±1,6	13,8±1,2
6 μήνες	12,6±1,3	-
1 έτος	13±1,4	13,9±1,2
2 έτη	13,3±1,3	13,9±1,2
3 έτη	13,4±1,3	13,9±1,6
P ⁺ Αρχική vs 6 μήνες	<0,001	1,000**
P ⁺ 6 μήνες vs 1 έτος	<0,001	-
P ⁺ 1 έτος vs 2 έτη	0,004	1,000
P ⁺ 2 έτη vs 3 έτη	0,589	1,000
P ⁺ Αρχική vs 3 έτη	<0,001	1,000
p*	<0,001	0,293

* Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. ⁺ επίδραση του χρόνου

**αφορά τη σύγκριση της αρχικής τιμής με τις τιμές στο 1^ο έτος

Μόνο στους ασθενείς της ομάδας Α οι τιμές της αιμοσφαιρίνης μεταβλήθηκαν σημαντικά στο χρόνο. Πιο συγκεκριμένα, στην ομάδα Α οι τιμές της αιμοσφαιρίνης αυξήθηκαν σημαντικά από την αρχική μέτρηση μέχρι τους 6 μήνες, από τους 6 μήνες στο 1 έτος και από το 1 έτος μέχρι τα 2 έτη. Δεν υπήρξε σημαντική αύξηση από τα 2 στα 3 έτη, ενώ συνολικά από την αρχική μέτρηση μέχρι τα 3 έτη υπήρξε σημαντική αύξηση των τιμών της αιμοσφαιρίνης. Στους ασθενείς της ομάδας Β δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή των τιμών της αιμοσφαιρίνης στο χρόνο. Οι μέσες τιμές της αιμοσφαιρίνης για τους συγγενείς που εξετάστηκαν ήταν 13,9±1,6 και για την ομάδα ελέγχου 14,1 ± 1,4.

Στο γράφημα που ακολουθεί δίνεται η μεταβολή της μέσης τιμής της αιμοσφαιρίνης των ασθενών της ομάδας Α και της ομάδας Β σε σχέση με το χρόνο (εικόνα 22).



Εικόνα 22. Μεταβολή της μέσης τιμής της αιμοσφαιρίνης της ομάδας Α και της ομάδας Β σε σχέση με το χρόνο

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 22) περιγράφονται τα ποσοστά των ασθενών των ομάδων Α και Β με φυσιολογικές και παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης ξεχωριστά για κάθε ομάδα και σε κάθε μέτρηση.

Πίνακας 22. Ποσοστά των ασθενών των ομάδων Α και Β με φυσιολογικές και παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης

	Α ομάδα		Β ομάδα	
	Φυσιολογικές τιμές	Παθολογικές τιμές	Φυσιολογικές τιμές	Παθολογικές τιμές
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Αρχική μέτρηση	22 (31,4)	48 (68,6)	36 (83,7)	7 (16,3)
6 μήνες	38 (55,9)	30 (44,1)		
1 έτος	51 (72,9)	19 (27,1)	39 (90,7)	4 (9,3)
2 έτη	57 (82,6)	12 (17,4)	40 (93)	3 (7)
3 έτη	51 (81)	12 (19)	37 (92,5)	3 (7,5)
P ⁺ Αρχική vs 6 μήνες	0,004		0,333**	
P ⁺ 6 μήνες vs 1 έτος	0,037		-	
P ⁺ 1 έτος vs 2 έτη	0,167		1,000*	
P ⁺ 2 έτη vs 3 έτη	0,805		1,000*	
P ⁺ Αρχική vs 3 έτη	<0,001		0,108*	

⁺Pearson's χ^2 test *Fisher's exact test

**αφορά τη σύγκριση της αρχικής τιμής με τις τιμές στο 1^ο έτος

Υπήρξε σημαντική μεταβολή του ποσοστού των συμμετεχόντων με παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης μόνο στους ασθενείς της ομάδας Α. Συγκεκριμένα, υπήρξε σημαντική μείωση του ποσοστού των συμμετεχόντων με παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης τόσο από την αρχική μέτρηση στους 6 μήνες όσο και από τους 6 μήνες στον 1 χρόνο. Δεν

υπήρξε σημαντική μεταβολή του ποσοστού αυτών από το 1^ο στο 2^ο έτος ούτε και από το 2^ο στο 3^ο έτος. Συνολικά, υπήρξε σημαντική μείωση του ποσοστού των συμμετεχόντων με παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης από την αρχική μέτρηση στα 3 έτη. Αντίθετα, στους ασθενείς της Β ομάδας δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή του ποσοστού των συμμετεχόντων με παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης στο χρόνο.

β) Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών

Στους 40 από τους 70 ασθενείς της ομάδας Α και στους 28 από τους 43 της ομάδας Β μετρήθηκε η ταχύτητα καθίζησης στις διάφορες χρονικές στιγμές. Οι μέσες τιμές αυτής φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 22)

Πίνακας 22. Μέσες τιμές ΤΚΕ των ομάδων Α και Β

ΤΚΕ	Α ομάδα	Β ομάδα
Χρονικές στιγμές	Μέση τιμή ± SD	Μέση τιμή ± SD
Αρχική	12,0±8,0	12,0±8,0
6 μήνες	12,8±8,3	
1 έτος	13±7,9	13±7,9
2 έτη	13,1±8,1	13,1±8,1
3 έτη	13,4±9,0	13,4±9,0
p*	0,589	0,756

*P value για μεταβολή στο χρόνο

Εύκολα συμπεραίνουμε, παρατηρώντας τον πίνακα, ότι δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή της ΤΚΕ σε σχέση με το χρόνο τόσο για τους ασθενείς της ομάδας Α όσο και γι' αυτούς της ομάδας Β.

γ) Ασβέστιο

Τέλος, στους 44 από τους 70 ασθενείς της ομάδας Α και στους 32 από τους 40 ασθενείς της ομάδας Β μετρήθηκε το ασβέστιο στις διάφορες χρονικές στιγμές. (Πίνακας 22)

Πίνακας 22. Μέσες τιμές του ασβεστίου (Ca) των ομάδων Α και Β

	Α ομάδα	Β ομάδα
	Μέση τιμή ± SD	Μέση τιμή ± SD
Αρχική μέτρηση	9,0±0,3	9,3±0,5
6 μήνες	9,1±0,3	
1 έτος	9,3±0,5	9,3±0,4
2 έτη	9,4±0,3	9,4±0,3
3 έτη	9,3±0,4	9,3±0,4
p*	0,729	0,415

*P value για μεταβολή στο χρόνο

Δεν υπήρξε καμία σημαντική μεταβολή στο χρόνο της συγκέντρωσης ασβεστίου τόσο για την ομάδα Α όσο και για την ομάδα Β. Θα μπορούσαμε να παρατηρήσουμε στην ομάδα Α μια μικρή αύξηση της μέσης τιμής μέχρι τα δύο έτη η οποία όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 7. Ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας Α σε σχέση με το χρόνο

	EmA		P***	AGA-A		P ***	AGA-G		P ***	tTG-A		P ***
	Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)		Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)		Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)		Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	
Αρχική μέτρηση	2,2±0,7	2,2 (1,9 - 2,5)		88,6±63,9	83 (36 - 124,8)		71,5±39,1	64,1 (42,4 - 96)		117,1±44,8	111,5 (101 - 149)	
6 μήνες	1,6 ±0,7	1,9 (0,7 - 2,2)	<0,001	48,8±36,3	35,7 (20,5 - 77,5)	<0,001	56,4±33,5	51,7 (35 - 74)	<0,001	76,7±40	75 (43,5 - 110)	<0,001
1 έτος	1,3±0,8	0,7 (0,7 - 2,2)	<0,001	34,5±30,3	21 (15 - 45)	<0,001	45,1±33,5	34,5 (20 - 64)	<0,001	63±49,9	50,5 (19 - 95)	<0,001
2 έτη	1±0,6	0,7 (0,7 - 1)	<0,001	26,9±26,3	17 (13 - 23)	0,012	30,1±22,5	19 (15 - 35)	<0,001	47,3±43,8	21 (14 - 83)	0,001
3 έτη	1±0,6	0,7 (0,7 - 0,7)	0,502	25,6±25,2	17 (13 - 21)	0,268	28±21,4	17,5 (15 - 30,2)	0,018	38,5±39,1	19 (14,5 - 52)	0,014
P** 0 vs 3 έτη	<0,001			<0,001			<0,001			<0,001		
P*	<0,001			<0,001			<0,001			<0,001		

* Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. **επίδραση του χρόνου. *** Για τη σύγκριση διαδοχικών μετρήσεων

Πίνακας 8. Ποιοτικές μεταβολές (%) των αντισωμάτων της ομάδας Α σε σχέση με χρόνο

Χρόνος	EmA		P**	AGA-A		P**	AGA-G		P**	tTG-A		P**
	Αρνητικά	Θετικά		Αρνητικά	Θετικά		Αρνητικά	Θετικά		Αρνητικά	Θετικά	
Αρχική μέτρηση	3 (4,3)	67 (95,7)		5 (7,1)	65 (92,9)		6 (8,6)	64 (91,4)		4 (5,7)	66 (94,3)	
6 μήνες	21 (30,9)	47 (69,1)	<0,001	21 (30,9)	47 (69,1)	<0,001	12 (17,6)	56 (82,4)	0,113	11 (16,2)	57 (83,8)	0,048
1 έτος	39 (55,7)	31 (44,3)	0,003	41 (58,6)	29 (41,4)	0,001	24 (34,3)	46 (65,7)	0,026	26 (37,1)	44 (62,9)	0,005
2 έτη	49 (71)	20 (29)	0,061	54 (77,1)	16 (22,9)	0,019	43 (62,3)	26 (37,7)	0,001	38 (55,1)	31 (44,9)	0,034
3 έτη	54 (79,4)	14 (20,6)	0,255	55 (80,9)	13 (19,1)	0,590	49 (72,1)	19 (27,9))	0,225	44 (64,7)	24 (35,3)	0,250
P* 0 vs 3 έτη	<0,001			<0,001			<0,001			<0,001		

*Pearson's χ^2 test ** Για τη σύγκριση διαδοχικών μετρήσεων (Pearson's χ^2 test)

Πίνακας 9. Ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας Β σε σχέση με το χρόνο

	EmA		p***	AGA-A		p***	AGA-G		p***	tTG-A		p***
	Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)		Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)		Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)		Μέση τιμή±SD	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	
Αρχική μέτρηση	0,72±0,10	0,7 (0,7 - 0,7)		20,4±21,7	15 (13 - 18)		28,1±21,2	18 (14 - 37,4)		24,9±26,2	15 (12 - 21)	
1 έτος	0,72±0,10	0,7 (0,7 - 0,7)	1,000	17,6±9,6	16 (12 - 18)	0,191	28,7±22,5	18 (14 - 35)	1,000	25,4±24,1	16 (15 - 20)	1,000
2 έτη	0,74±0,17	0,7 (0,7 - 0,7)	1,000	15,8±7,6	13 (11 - 18)	0,205	25,6±20,9	18 (12 - 28,8)	1,000	23,7±20	17 (14 - 21)	1,000
3 έτη	0,72±0,11	0,7 (0,7 - 0,7)	1,000	15,1±4,8	14 (12 - 17)	0,389	23,8±19,3	16 (12,5 - 25,4)	1,000	21,6±17,8	15 (12 - 19)	1,000
p** 0 vs 3 έτη	1,000			0,090			0,672			1,000		
p*	0,675			0,025			0,108			0,792		

* Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. **επίδραση του χρόνου. ***Για τη σύγκριση μεταξύ διαδοχικών μετρήσεων

Πίνακας 10. Ποιοτικές μεταβολές (%) των αντισωμάτων της ομάδας Β σε σχέση με το χρόνο

Χρόνος	EmA		p***	AGA-A		p***	AGA-G		p***	tTG-A		p***
	Αρνητικά	Θετικά		Αρνητικά	Θετικά		Αρνητικά	Θετικά		Αρνητικά	Θετικά	
Αρχική μέτρηση	41 (95,3)	2 (4,7)		38 (88,4)	5 (11,6)		28 (65,1)	15 (34,9)		35 (81,4)	8 (18,6)	
1 έτος	41 (95,3)	2 (4,7)	1,000**	39 (90,7)	4 (9,3)	1,000**	28 (65,1)	15 (34,9)	1,000	35 (81,4)	8 (18,6)	1,000
2 έτη	40 (93)	3 (7)	1,000**	38 (88,4)	5 (11,6)	1,000**	30 (69,8)	13 (30,2)	0,818	34 (79,1)	9 (20,9)	1,000
3 έτη	38 (95)	2 (5)	1,000**	38 (95)	2 (5)	1,000**	30 (75)	10 (25)	0,631	32 (78)	9 (22)	0,909
p* 0 vs 3 έτη	1,000**			0,435**			0,350			0,789		

*Pearson's χ^2 test. **Fisher's exact test. ***Για τη σύγκριση μεταξύ διαδοχικών μετρήσεων (Pearson's χ^2 test).

Πίνακας 11. Ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας Α στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της διαίτας

	AGA-A			AGA-G			tTG-A			EmA		
	Τήρηση της διαίτας	Μερική τήρηση της διαίτας	P*	Τήρηση της διαίτας	Μερική τήρηση της διαίτας	P*	Τήρηση της διαίτας	Μερική τήρηση της διαίτας	P*	Τήρηση της διαίτας	Μερική τήρηση της διαίτας	P*
Αρχική μέτρηση												
Μέση τιμή±SD	89,7±68,8	85,7±49,9	0,422	70,8±36,7	73,4±45,9	0,516	123,9±45,7	98,8±37,4	0,097	2,1±0,6	2,3±0,7	0,339
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	72,7 (36 -124,8)	95,9 (32- 125,2)		62,3 (42,4 -96)	68 (38 - 101)		125 (101 - 155)	101 (100 - 102)		2,2 (1,9 - 2,5)	2,5 (1,9 - 2,8)	
6 μήνες												
Μέση τιμή±SD	43,3±29,6	65,1±49	0,143	54,9±31,6	60,9±39,3	0,971	71,3±40,2	92,6±36	0,150	1,5±0,7	1,9±0,6	0,046
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	30 (20 - 60)	52 (27 - 98)		51,7 (32,4 -65)	50 (38 - 85)		65 (41 - 103)	110 (98 - 115)		1,9 (0,7 - 1,9)	2,2 (1,6 - 2,2)	
1 έτος												
Μέση τιμή±SD	25,6±20,9	58,4±38,5	0,001	38,9±30,5	61,9±36,1	0,044	47,2±40,1	105,5±49,5	<0,001	1±0,6	2,1±0,7	<0,001
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	18 (14 - 27)	48 (31 - 90)		27 (18- 49,7)	60,2 (29 - 97,4)		28 (17 - 66)	100 (96 - 104)		0,7 (0,7 - 1)	2,2 (1,9 - 2,5)	
2 έτη												
Μέση τιμή±SD	19,5±11,6	46,8±41,4	0.173	25,3±18,5	43,7±27,3	0,011	34,3±37,1	84,1±41,2	<0,001	0,8±0,4	1,6±0,6	<0,001
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	17 (13 - 20)	40 (12 - 98)		18 (15 - 33)	40,9 (17 - 61)		17 (12 - 35)	97,5 (53 - 105)		0,7 (0,7 - 0,7)	1,6 (1 - 1,9)	
3 έτη												
Μέση τιμή±SD	18,6±10,6	46,6±41,1	0.262	22±14,5	46,2±28,1	0,001	26,2±28,7	75,4±43,5	<0,001	0,8±0,4	1,6±0,7	<0,001
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	15 (13 - 20)	17 (12 - 76)		17 (14 - 23)	52 (16 - 66)		17 (14 - 23)	90 (33 - 110)		0,7 (0,7 - 0,7)	1,9 (0,7 - 1,9)	
P** 0 vs 3 έτ	<0,001	0,024		<0,001	0,09		<0,001	0,249		<0,001	0,001	
P‡	0,004			0,001			<0,001			0,03		

*Διαφορά μεταξύ των ομάδων **Διαφορά μεταξύ των μετρήσεων.

‡ Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

Πίνακας 12. Ποιοτικές μεταβολές (%) των αντισωμάτων της ομάδας Α στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας

	AGA-A			AGA-G			tTG-A			EmA		
	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*
Αρχική μέτρηση												
Αρνητικά, N (%)	1 (2)	4 (21,1)	0,017⁺	3 (5,9)	3 (15,8)	0,334 ⁺	3 (5,9)	1 (5,3)	1,000 ⁺	2 (3,9)	1 (5,3)	1,000 ⁺
Θετικά, N (%)	50 (98)	15 (78,9)		48 (94,1)	16 (84,2)		48 (94,1)	18 (94,7)		49 (96,1)	18 (94,7)	
6 μήνες												
Αρνητικά, N (%)	17 (33,3)	4 (23,5)	0,449	9 (17,6)	3 (17,6)	1,000 ⁺	10 (19,6)	1 (5,9)	0,268 ⁺	20 (39,2)	1 (5,9)	0,014⁺
Θετικά, N (%)	34 (66,7)	13 (76,5)		42 (82,4)	14 (82,4)		41 (80,4)	16 (94,1)		31 (60,8)	16 (94,1)	
1 έτος												
Αρνητικά, N (%)	37 (72,5)	4 (21,1)	<0,001	21 (41,2)	3 (15,8)	0,047	25 (49)	1 (5,3)	0,001	37 (72,5)	2 (10,5)	<0,001
Θετικά, N (%)	14 (27,5)	15 (78,9)		30 (58,8)	16 (84,2)		26 (51)	18 (94,7)		14 (27,5)	17 (89,5)	
2 έτη												
Αρνητικά, N (%)	45 (88,2)	9 (47,4)	0,001⁺	37 (72,5)	6 (33,3)	0,005	36 (70,6)	2 (11,1)	<0,001	46 (90,2)	3 (16,7)	<0,001
Θετικά, N (%)	6 (11,8)	10 (52,6)		14 (27,5)	12 (66,7)		15 (29,4)	16 (88,9)		5 (9,8)	15 (83,3)	
3 έτη												
Αρνητικά, N (%)	46 (90,2)	9 (52,9)	0,002⁺	43 (84,3)	6 (35,3)	<0,001⁺	41 (80,4)	3 (17,6)	<0,001	48 (94,1)	6 (35,3)	<0,001⁺
Θετικά, N (%)	5 (9,8)	8 (47,1)		8 (15,7)	11 (64,7)		10 (19,6)	14 (82,4)		3 (5,9)	11 (64,7)	
P** 0 vs 3 έτη	<0,001	0,047		<0,001	0,255 ⁺		<0,001	0,326 ⁺		<0,001	0,037⁺	

*Διαφορά μεταξύ των ομάδων (Pearson's χ^2 test) **Διαφορά μεταξύ των μετρήσεων (Pearson's χ^2 test), ⁺Fisher's exact test

Πίνακας 13. Ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων της ομάδας Β στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας

	AGA-A			AGA-G			tTG-A			EmA		
	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*
Αρχική μέτρηση												
Μέση τιμή±SD	20,4±22,8	19,8±12,6	0,892	25,1±19,1	50,5±25,2	0,006	20±21	63±36	<0,001	0,7±0	0,88±0,27	<0,001
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	15,5 (13 - 18)	14 (13 - 18)		17,5 (14 - 31,7)	45,3 (45 - 56)		15 (12 - 17)	50 (35 - 103)		0,7 (0,7 - 0,7)	0,7 (0,7 - 1)	
1 έτος												
Μέση τιμή±SD	17,2±9,8	20,8±7,6	0,238	24,4±18,6	60,6±26,6	0,001	19,4±15,5	70,8±31,2	<0,001	0,7±0	0,88±0,27	<0,001
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	14,5 (12 - 18)	18 (17 - 20)		18 (14 - 31)	72 (57 - 76)		16 (13 - 17)	68 (56 - 110)		0,7 (0,7 - 0,7)	0,7 (0,7 - 1)	
2 έτη												
Μέση τιμή±SD	15,1±6,7	21±12,1	0,180	22,1±17,6	51,7±27	0,003	18±7,6	67,2±31,6	<0,001	0,7±0	1,06±0,39	<0,001
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	13 (11 - 17)	15 (13 - 25,8)		17,5 (12 - 21,7)	52 (43,9 - 62,5)		16 (14 - 20)	56 (39 - 111)		0,7 (0,7 - 0,7)	1 (0,7 - 1,3)	
3 έτη												
Μέση τιμή±SD	14,7±3,8	17,8±9,8	0,342	19,3±12	55,5±31,3	<0,001	17,1±9	54,4±30,6	<0,001	0,7±0	0,88±0,27	<0,001
Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	14 (12 - 17)	15 (12 - 16)		16 (12 - 17)	56,8 (45 - 69)		15 (12 - 17)	39 (33 - 70)		0,7 (0,7 - 0,7)	0,7 (0,7 - 1)	
P** 0 vs 3 έτη	0,256	1,000		0,538	1,000		1,000	1,000		1,000	1,000	
P‡	0,687			0,663			0,591			0,268		

*Διαφορά μεταξύ των ομάδων **Διαφορά μεταξύ των μετρήσεων.

‡ Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

Πίνακας 14. Ποιοτικές μεταβολές (%) των αντισωμάτων της ομάδας Β στο χρόνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας

	EmA			AGA-A			AGA-G			tTG-A		
	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*	Τήρηση της δίαιτας	Μερική τήρηση της δίαιτας	P*
Αρχική μέτρηση												
Αρνητικά, N (%)	38 (100)	3 (60)	0,043	34 (89,5)	4 (80)	0,479	27 (71,1)	1 (20)	<0,001	35 (92,1)	0 (0)	0,011
Θετικά, N (%)	0 (0)	2 (40)		4 (10,5)	1 (20)		11 (28,9)	4 (80)		3 (7,9)	5 (100)	
1 έτος												
Αρνητικά, N (%)	38 (100)	3 (60)	0,043	35 (92,1)	4 (80)	0,402	27 (71,1)	1 (20)	<0,001	35 (92,1)	0 (0)	0,011
Θετικά, N (%)	0 (0)	2 (40)		3 (7,9)	1 (20)		11 (28,9)	4 (80)		3 (7,9)	5 (100)	
2 έτη												
Αρνητικά, N (%)	38 (100)	2 (40)	0,024	35 (92,1)	3 (60)	0,095	29 (76,3)	1 (20)	<0,001	34 (89,5)	0 (0)	0,001
Θετικά, N (%)	0 (0)	3 (60)		3 (7,9)	2 (40)		9 (23,7)	4 (80)		4 (10,5)	5 (100)	
3 έτη												
Αρνητικά, N (%)	35 (100)	3 (60)	0,010	34 (97,1)	4 (80)	0,237	29 (82,9)	1 (20)	<0,001	32 (88,9)	0 (0)	0,013
Θετικά, N (%)	0 (0)	2 (40)		1 (2,9)	1 (20)		6 (17,1)	4 (80)		4 (11,1)	5 (100)	
P** 0 vs 3 έτη	- ⁺⁺	1,000		0,359	1,000		0,233	1,000		0,707	1,000	

*Διαφορά μεταξύ των ομάδων (Fisher's exact test) **Διαφορά μεταξύ των μετρήσεων (Fisher's exact test) ⁺⁺ Δεν υπολογίστηκε λόγω μη ύπαρξης κατανομής

Κεφάλαιο 9. Συζήτηση

Οι ανοσολογικοί δείκτες έχουν διευκολύνει και προάγει σημαντικά τη διάγνωση της κοιλιοκάκης, ιδιαίτερα της λανθάνουσας και δυνητικής μορφής. Παρατηρείται, λοιπόν, με τη βοήθειά τους, αυξημένη ανίχνευση των ασθενών με άτυπη κλινική εικόνα, οι οποίοι πλέον αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό των πρωτοδιαγνωσθέντων, με τη μέση ηλικία διάγνωσης της νόσου να έχει αυξηθεί και να βρίσκεται στην 4^η και 5^η δεκαετία της ζωής.^{52,53} Όμως, οι ανοσολογικοί δείκτες είναι απαραίτητοι και στην παρακολούθηση της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης (ΔΕΓ). Η ανίχνευση των σχετιζόμενων με την κοιλιοκάκη αντισωμάτων τη στιγμή της διάγνωσης και η σταδιακή πτώση των τίτλων τους σε φυσιολογικά επίπεδα μετά την έναρξη της ΔΕΓ επιβεβαιώνουν τη διάγνωση της νόσου και τη σωστή τήρηση της δίαιτας.

Η χρησιμοποίηση των αντιγλιαδινικών αντισωμάτων (AGA), ως ανοσολογικός δείκτης στη νόσο της κοιλιοκάκης, προηγείται χρονικά των αντισωμάτων έναντι ενδομυίου (EmA) και αυτών έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης (αντι-tTG). Στις διάφορες μελέτες τόσο για τα αντιγλιαδινικά αντισώματα τάξεως IgA (AGA-A) όσο και για τα τάξεως IgG (AGA-G), τα οποία προσδιορίζονται με τη μέθοδο της ELISA, παρατηρούνται αρκετές διαφορές ως προς την ειδικότητα και την ευαισθησία.

Όσον αφορά τα AGA-A το μεγαλύτερο μέρος της βιβλιογραφίας εισηγείται ότι η ειδικότητα τους πλησιάζει το 90%. Ακόμα μεγαλύτερες διακυμάνσεις παρατηρούνται στον υπολογισμό της ευαισθησίας τους, η οποία τελικά φαίνεται να υπολογίζεται ότι βρίσκεται μεταξύ 85%-90%.

Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε για τα AGA-A ευαισθησία 92,9%, ειδικότητα 97,1%, PPV 97,0% και NPV 93,2%.

Τα ποσοστά αυτά είναι παρόμοια με αυτά ορισμένων μελετών αλλά είναι λίγο υψηλότερα σε σχέση με τα ποσοστά κάποιων άλλων. Έτσι, οι Bardella και συν²¹⁰ βρήκαν για τα AGA-A ευαισθησία χαμηλότερη 89,1% και ειδικότητα περίπου ίδια 95% με τη δικιά μας, ενώ σε μια άλλη μελέτη οι Bode και συν,²¹¹ παρότι καταλήγουν στην ίδια ειδικότητα 95%, αναφέρουν ευαισθησία ακόμα πιο χαμηλή 77%, θετική προγνωστική αξία 71-90% και αρνητική προγνωστική αξία 97%.

Σε μια προπάθειά τους οι Rostom και συν.¹⁶⁸ να συγκεντρώσουν τα αποτελέσματα των εργασιών για τη διαγνωστική ακρίβεια των ορολογικών δεικτών στην κοιλιοκάκη των ενηλίκων περιγράφουν και αυτοί μια μεγάλη ετερογένεια στα αποτελέσματα που αφορούν τα AGA-A. Εντούτοις, προσπαθούν να κάνουν μια προσέγγιση: Οι πέντε από τις δέκα μελέτες δείχνουν ευαισθησίες μεγαλύτερες από 80%, από τις οποίες κάποιες έχουν μεγαλύτερη από 90%. Υπάρχουν, όμως, και μελέτες οι οποίες αναφέρουν ευαισθησίες κάτω από 65%. Όσον αφορά την ειδικότητα, αυτή είναι μεγαλύτερη του 80% στις περισσότερες και σε ορισμένες, μάλιστα, είναι μεγαλύτερη του 90%. Σε πολύ λίγες αναφέρεται ειδικότητα κάτω από 80%.

Για τα AGA-G στην παρούσα μελέτη διαπιστώσαμε ότι όλα τα ποσοστά των διαγνωστικών δοκιμασιών ήταν τα χαμηλότερα από όλους τους υπόλοιπους ανοσολογικούς δείκτες που μετρήσαμε. Συγκεκριμένα βρήκαμε ευαισθησία 91,4%, ειδικότητα 95,7%, PPV 95,5% και NPV 91,8%, αποτελέσματα που γενικά συμφωνούν με αυτά των άλλων μελετών. Στη βιβλιογραφία περιγράφονται μεγάλες διαφορές στις μετρήσεις της ευαισθησίας αυτού του δείκτη η οποία τελικά κυμαίνεται από 17% έως 100%, αλλά οι διαφορές στην ειδικότητα είναι μικρότερες με την πλειονότητα των μετρήσεων να είναι πάνω από 80%. Έτσι, ενδεικτικά, αναφέρεται ότι οι Lock και συν.²¹² βρίσκουν για τα AGA-G σε σχέση με τα AGA-A χαμηλότερη ευαισθησία (77%), ειδικότητα (91%) και PPV (79%), συμπέρασμα το οποίο συμφωνεί και με άλλες μελέτες.^{210-215,168}

Εμφανές, λοιπόν, είναι ότι μεγάλες διαφορές υπάρχουν στα αποτελέσματα των διαφόρων ερευνητών και για τις δύο τάξεις των αντιγλιαδινικών αντισωμάτων με τα AGA-A να έχουν συνήθως λίγο μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα από τα AGA-G. Παρόλ' αυτά όμως, ακόμα κι αν θεωρήσουμε ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα των AGA-A είναι το λιγότερο 90%, η χρήση τους δεν είναι δελεαστική στην καθημερινή κλινική πρακτική λόγω της ύπαρξης άλλων ορολογικών δεικτών με καλύτερη διαγνωστική εφαρμογή.

Ένας άλλος δείκτης που μελετήσαμε ήταν τα EmA, τα οποία είχαν τη μεγαλύτερη ευαισθησία 95,7%, ειδικότητα 100%, PPV 100% και NPV 95,9% σε σχέση με τα AGA-A, AGA-G και tTG-A, ευρήματα που συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα με πολύ μικρές αποκλίσεις.

Στη μελέτη των Carrocio και συν.²¹⁶ αναφέρεται ότι τόσο η ευαισθησία και η ειδικότητα των EmA όσο και η PPV και NPV είναι 100%. Το ίδιο επιβεβαιώνουν και κάποιες άλλες μελέτες.^{212,217}

Οι περισσότεροι, όμως, ερευνητές δηλώνουν ότι η ευαισθησία των EmA είναι λίγο χαμηλότερη από 100%. Έτσι οι Biagi και συν.²¹⁸ βρήκαν ότι η ειδικότητα και η ευαισθησία των EmA είναι 100% και 94,6% αντίστοιχα, ενώ οι Dahele και συν.²¹⁹ αναφέρουν ακόμα μικρότερη ευαισθησία 86,8% αλλά ειδικότητα 100%. Αντίθετα, όμως, στην εργασία των Bardella και συν. η ειδικότητα των EmA είναι 97,3% ενώ η ευαισθησία 100%.²¹⁰

Οι Rostom και συν.¹⁶⁸ μας δίνουν συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα 11 μελετών και για τα EmA σε ενήλικες ασθενείς: η ειδικότητα είναι 100% σε όλες εκτός από μια στην οποία είναι 97,2%. Συνολικά, για όλες τις μελέτες που συγκεντρώθηκαν, η υπολογιζόμενη συνδυασμένη ευαισθησία και ειδικότητα με τα διαστήματα εμπιστοσύνης ήταν 97% (95% CI: 95.7–98.5) και 99.6% (95% CI: 98.8–99.9), αντίστοιχα.

Όσον αφορά τα tTG-A οι αναφορές στη βιβλιογραφία δείχνουν μια ειδικότητα μεγαλύτερη από 95% και ευαισθησία μεταξύ 90% και 96%.²²⁰⁻²²²

Παρότι τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα έχουν μειωθεί με τη χρησιμοποίηση της ανθρώπινης ανασυνδυασμένης ιστικής τρανσλουταμινάσης και έχουν περιορισθεί στους ασθενείς με νόσους του ήπατος, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, αρθρίτιδα και φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου, εντούτοις, υπάρχουν διαφορές στην ειδικότητα και στην ευαισθησία μεταξύ των διαφόρων kits που χρησιμοποιούνται στα εργαστήρια.²²³⁻²²⁵

Στη μελέτη μας βρέθηκε για τα tTG-A ευαισθησία 94,3%, ειδικότητα 95,7%, PPV 95,7% και NPV 94,4%.

Παρόμοια αποτελέσματα περιγράφουν οι Carrocio και συν. οι οποίοι έχοντας ως υλικό 207 ενήλικες ασθενείς βρήκαν για τα tTG-A ευαισθησία 97% και ειδικότητα 100%, ενώ υπολόγισαν μια PPV 80% και NPV 100%.²¹⁶

Αντίστοιχα σε μια ανασκόπηση 34 μελετών οι Lewis και συν.²²⁶ περιγράφουν ότι τόσο τα EmA όσο και τα tTG-A είχαν υψηλές ειδικότητες (>99% και >98% αντίστοιχα), όπως επίσης και μεγάλες ευαισθησίες (και τα δύο 93%). Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη, η μέτρηση των tTG-A που χρησιμοποιεί ως αντιγόνο την ανθρώπινη

ανασυνδυασμένη ιστική τρανσγλουταμινάση είναι ο προτεινόμενος δείκτης για τον αρχικό έλεγχο.

Αξίζει, επίσης, να αναφέρουμε ότι παρόμοια αποτελέσματα για τις διαγνωστικές δοκιμασίες των ανοσολογικών δεικτών στη διάγνωση της κοιλιοκάκης είχαμε βρει και σε παλαιότερες εργασίες μας.^{227,228}

Γενικά, η ευαισθησία όλων των ορολογικών δεικτών φαίνεται να είναι χαμηλότερη από τις προαναφερθείσες, δηλαδή έχουμε περισσότερα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα, όταν η νόσος της κοιλιοκάκης σχετίζεται με ηπιότερες ιστολογικές βλάβες. Κάποιες μελέτες αναφέρουν ευαισθησίες για τα EmA και tTG-A χαμηλότερες του 90% όταν υπάρχουν βλάβες του εντερικού βλεννογόνου σε στάδια μικρότερα του Marsh III.²²⁹⁻²³¹

Άλλες φορές πάλι περιγράφονται περιπτώσεις με EmA αρνητικά αντισώματα οι οποίες χαρακτηρίζονται από μακροχρόνια νόσο με σοβαρές επιπλοκές και συμπτωματολογία όπου υπάρχουν εναποθέσεις IgA ειδικών αυτοαντισωμάτων στο βλεννογόνο του λεπτού εντέρου.²³²

Σε αυτά τα EmA αρνητικά άτομα, που αναφέρεται να είναι το 10-20% αυτών με κοιλιοκάκη, οι ορολογικοί δείκτες υποεκτιμούν την αληθινή επίπτωση της νόσου καθυστερώντας τη διάγνωση αυτής με τις επακόλουθες επιπλοκές.²³³

Ένας άλλος λόγος να υπάρχουν EmA αρνητικά στην πρωτοδιάγνωση ενός ασθενούς είναι το γεγονός ότι πολλοί ασθενείς αρχίζουν τη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης πριν επισκεφθούν το γιατρό τους,²³⁴ ενώ κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι ακόμα και το κάπνισμα μερικές φορές είναι δυνατό να καταστείλει την παραγωγή των EmA και των anti-tTG.²³⁵

Δεν πρέπει, όμως, ποτέ να ξεχνάμε ότι άτομα που πάσχουν από IgA ανεπάρκεια, στη μελέτη μας δεν είχαμε κανέναν, δε διαγιγνώσκονται με ορολογικές μεθόδους που βασίζονται στη μέτρηση της IgA. Έτσι, γι' αυτούς τους ασθενείς, που έχουν αυξημένη πιθανότητα να νοσήσουν από κοιλιοκάκη, όπως ήδη έχουμε αναφέρει, συνιστάται ιδιαίτερη επαγρύπνηση και χρησιμοποίηση δεικτών τάξεως IgG.^{124,125}

Στη μελέτη μας, κατά τη διάγνωση, τρεις ασθενείς είχαν EmA αρνητικά, ενώ ταυτόχρονα οι δύο από αυτούς είχαν και tTG-A αρνητικά. Είχαν, όμως, και οι τρεις AGA-A θετικά και ο ένας είχε και AGA-G θετικά. Και στους τρεις υπήρχε υποψία της νόσου γιατί ήταν συγγενείς ατόμων με κοιλιοκάκη. Στον πρώτο έγινε προληπτικά

γαστροσκόπηση, ενώ στους άλλους δύο υπήρχαν συμπτώματα της νόσου, αναιμία και εκδηλώσεις από το γαστρεντερικό αντίστοιχα. Τα ιστολογικά ευρήματα έθεσαν οριστικά τη διάγνωση της κοιλιοκάκης. Οι ασθενείς ακολούθησαν ΔΕΓ με πολύ καλά αποτελέσματα και στην παρακολούθηση τα EmA αλλά και τα tTG-A ήταν πάντα αρνητικά στους δύο. Στον τρίτο, επίσης, τα EmA συνέχισαν να είναι αρνητικά, ενώ με την πάροδο του χρόνου και την τήρηση της ΔΕΓ αρνητικοποιήθηκαν και τα tTG-A.

Για τους παραπάνω λόγους, δηλαδή τις περιπτώσεις κοιλιοκάκης με αρνητικά αντισώματα, η 100% NPV για τα EmA και tTG-A που περιγράφεται σε πολλές μελέτες, όπως έχουμε αναφέρει, σε άλλες φαίνεται να είναι λίγο μικρότερη.

Είναι γνωστό ότι ο βαθμός της προγνωστικής αξίας μιας δοκιμασίας εξαρτάται από την ειδικότητα αυτής, αλλά και από την επίπτωση της νόσου στο δείγμα που μελετάται. Γι' αυτό το λόγο, η PPV των ορολογικών δοκιμασιών που συζητούμε φαίνεται να είναι υψηλή στις διάφορες μελέτες, όταν αναφέρονται σε ομάδες ατόμων με μεγάλη επίπτωση της νόσου, όπως είναι και η δικιά μας, ενώ πέφτει όταν αναφερόμαστε στο γενικό πληθυσμό, στον οποίο η επίπτωση της κοιλιοκάκης είναι χαμηλή, περίπου 1%. Όταν, όμως, έχουμε χαμηλή PPV σημαίνει ότι περισσότεροι ασθενείς θα υποβληθούν σε περαιτέρω έλεγχο ο οποίος δεν είναι απαραίτητος, αφού τελικά δεν πάσχουν από τη νόσο. Επίσης, ο δείκτης που έχει τη μεγαλύτερη ειδικότητα έχει και τη μεγαλύτερη PPV. Δηλαδή τα EmA στη μελέτη μας, όπως και στις υπόλοιπες αναφορές, επειδή έχουν άριστη ειδικότητα έχουν και μεγαλύτερη PPV σε σχέση με τα tTG-A.

Αντίθετα, η NPV αυξάνεται όταν στον υπό μελέτη πληθυσμό η επίπτωση της νόσου είναι μικρή, αρκεί η ευαισθησία του δείκτη να είναι μεγαλύτερη του 50%. Στην πραγματικότητα ακόμα και δείκτες πολύ ειδικοί, όπως τα EmA και tTG-A, μας δίνουν 30% έως 35% ψευδώς θετικά αποτελέσματα, όταν χρησιμοποιούνται σε πληθυσμούς με χαμηλή επίπτωση.²³⁶

Ο κατάλληλος δείκτης για τη διάγνωση της κοιλιοκάκης πρέπει να είναι ευαίσθητος, έτσι ώστε να μπορεί να ανιχνεύσει και χαμηλούς τίτλους αντισωμάτων, αλλά να είναι και ειδικός, ώστε να αποφευχθούν άσκοπες βιοψίες σε άτομα με μικρή υποψία νόσου.

Στη μελέτη μας η διακριτική ικανότητα του EmA ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με αυτή του AGA-A, του AGA-G και του tTG-A ($p=0,032$, $p=0,039$ και $p=0,043$).

Πολλές μελέτες περιγράφουν την ανωτερότητα των EmA στη διάγνωση της κοιλιοκάκης. Υποστηρίζουν ότι ανεξάρτητα του πόσο θετικός είναι ο τίτλος των EmA και ποια είναι η κλινική εικόνα και τα συμπτώματα των υπό εξέταση ατόμων, η θετικότητα του και μόνο προλέγει την επακόλουθη εμφάνιση και διάγνωση της κοιλιοκάκης.²³⁷

Οι Kuypers και συν. βρήκαν ότι ακόμα και τα άτομα ελεύθερα συμπτωμάτων κοιλιοκάκης, με φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, αλλά που είχαν θετικά EmA, στην παρακολούθηση, είτε εμφάνισαν ατροφία του βλεννογόνου του εντέρου, είτε ανταποκρίθηκαν θετικά σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης.²³⁸

Παρότι τα EmA και τα tTG-A σχετίζονται στενά και η ευαισθησία και η ειδικότητά τους είναι παρόμοιες, εντούτοις, υπάρχουν περιπτώσεις κοιλιοκάκης με θετικά EmA που έχουν αρνητικά tTG-A και αντίστροφα. Η μέτρηση του τίτλου των tTG-A δε δίνει πάντα λύση για τις περιπτώσεις των EmA αρνητικών ασθενών.²³²

Οι αρχικές μετρήσεις των ειδικών αντισωμάτων, γενικότερα, πρέπει να γίνονται, όμως, όχι μόνο για να επιβεβαιωθεί ή να αποφευχθεί η ιστολογική διάγνωση, αλλά και για να υπάρχει και μια γραμμή βάσης από την οποία ξεκινώντας θα μπορέσουμε να εκτιμήσουμε την τήρηση και την αποτελεσματικότητα της ΔΕΓ.

Γι' αυτό το λόγο, ένας άλλος στόχος της μελέτης μας ήταν να δούμε εάν οι μεταβολές των τίτλων και των τιμών των αντισωμάτων με το χρόνο υποδηλώνουν αξιόπιστα τη συμμόρφωση ή μη με τη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης.

Παρότι οι ορολογικοί δείκτες έχουν έναν αδιαμφισβήτητο ρόλο στη διάγνωση της κοιλιοκάκης, η ευαισθησία και η ακρίβειά τους στην παρακολούθηση δεν έχει εδραιωθεί και οι γνώμες διίστανται. Ενώ μερικές μελέτες δεν πιστεύουν ότι ο ρυθμός πτώσης των αντισωμάτων αντικατοπτρίζει αξιόπιστα το βαθμό τήρησης της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης,²⁴⁰⁻²⁴³ άλλες υποστηρίζουν ότι η μείωση και η αρνητικοποίηση των ορολογικών δεικτών είναι χρήσιμοι δείκτες για τη σωστή παρακολούθηση αυτής, χωρίς όμως να υπάρχει ομοφωνία ποιος είναι ο καταλληλότερος δείκτης.²⁴⁴⁻²⁴⁸

Τα ποσοστά των ασθενών που τελικά τηρούν τη ΔΕΓ ποικίλουν. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφορα ποσοστά που κυμαίνονται από 35%-80%.^{239,250,207} Στη μελέτη μας τη δίαιτα τηρούσαν εξ ολοκλήρου το 72,9% των ασθενών με πρώτη διάγνωση-ομάδα Α και το 88,4 % των ασθενών στους οποίους η διάγνωση της νόσου είχε τεθεί στο παρελθόν- ομάδα Β.

Όσον αφορά λοιπόν τους ασθενείς που ήδη βρίσκονταν σε δίαιτα – ομάδα Β δεν υπάρχουν σημαντικές μεταβολές των αντισωμάτων στο χρόνο, ούτε ποιοτικές ούτε ποσοτικές. Όλα τα αντισώματα σε αυτούς παραμένουν αμετάβλητα. Φαίνεται ότι όσοι έχουν μπει στο πρόγραμμα της δίαιτας την ακολουθούν και αυτοί που την τηρούν μερικώς συνεχίζουν κατά τον ίδιο τρόπο.

Στους ασθενείς μας, όμως, με πρώτη διάγνωση-ομάδα Α, υπήρχαν εμφανή αποτελέσματα στη μεταβολή των αντισωμάτων από τους πρώτους έξι μήνες της έναρξης της ΔΕΓ. Συνολικά, σε όλους αυτούς τους ασθενείς, με τήρηση και μερική τήρηση της δίαιτας, παρατηρήθηκε μείωση τόσο του ποσοστού όσο και των απόλυτων αριθμητικών τιμών όλων των αντισωμάτων το καθένα σε διαφορετικό βαθμό. Τα αποτελέσματά αυτά συμφωνούν με τα συμπεράσματα των προηγούμενων μελετών.^{207,234,240,242}

Ιδιαίτερα στους ασθενείς που τηρούσαν τη ΔΕΓ χωρίς παρεκκλίσεις η μείωση των τιμών όλων των αντισωμάτων ήταν σαφώς μεγαλύτερη. Στους πρώτους έξι μήνες και στον πρώτο χρόνο τη μεγαλύτερη μείωση είχαν τα EmA και AGA-A. Συγκεκριμένα, στο τέλος του πρώτου χρόνου από τα άτομα με πρώτη διάγνωση που τηρούσαν τη δίαιτα το 27,5% είχε θετικά EmA και AGA-A, το 51% είχε θετικά tTG-A και το 58,8% AGA-G. Είχαμε περαιτέρω μείωση του ποσοστού των ατόμων με θετικά αντισώματα μέχρι και τα τρία έτη, όπου το 5,9% είχε θετικά EmA, το 9,8% θετικά AGA-A, το 15,7% AGA-G και το 19,6% θετικά tTG-A. Συμφωνούμε, σε γενικές γραμμές, με τα αποτελέσματα των Sugai και συν.²⁴⁶ οι οποίοι στον ένα χρόνο αναφέρουν ότι σχεδόν παράλληλα και περισσότερο από τους άλλους ανοσολογικούς δείκτες μειώθηκαν οι τιμές των EmA και AGA-A, με ποσοστό θετικών ασθενών 15,6% και 23,9% αντίστοιχα, και λιγότερο οι τιμές των tTG-A με ποσοστό 50%.

Διαφέρουν τα αποτελέσματα των Midhagen και συν.²³⁴ οι οποίοι αναφέρουν ότι στους 12 μήνες τα tTG-A και AGA-A αρνητικοποιήθηκαν σε όλους τους ασθενείς, με

το 16%, όμως, των μετρήσεων των tTG-A να είναι οριακές, ενώ τα EmA παρέμειναν θετικά στο 13% αυτών. Οι ίδιοι περιγράφουν ότι στους 6 μήνες 7% των ασθενών είχαν AGA-A θετικά, το 35% είχαν EmA θετικά και το 29% tTG-A θετικά. Επίσης οι Volta και συν. συμφωνούν μαζί τους για τα EmA και AGA-A, χωρίς, όμως, να έχουν μελετήσει τα tTG-A.²⁷⁰

Οι Burgin-Wolf και συν.²⁴⁴ βρήκαν ότι οι αυξομειώσεις τόσο των EmA και των tTG-A είναι παρόμοιες. Οι περισσότεροι ασθενείς με tTG-A θετικά αρνητικοποιήθηκαν στον ένα χρόνο. Οι δυο ασθενείς που παρέμειναν θετικοί μετά τα τρία χρόνια ήταν και EmA θετικοί, γεγονός που κατά τους συγγραφείς υποδηλώνει ότι μάλλον δεν τηρούσαν τη ΔΕΓ.

Στη μελέτη μας τρεις ασθενείς παρέμειναν με θετικά EmA και ταυτόχρονα θετικά tTG-A στα τρία χρόνια της παρακολούθησης. Επειδή όμως τηρούσαν σωστά τη δίαιτα κατατάχθηκαν στην κατηγορία της μη ανταποκρινόμενης κοιλιοκάκης και χρειάστηκε να υποβληθούν σε περαιτέρω εργαστηριακό έλεγχο για τη διερεύνησή τους.

Η μελέτη μας δείχνει ότι οι διακυμάνσεις των μετρήσεων των αντισωμάτων επηρεάζονται από το βαθμό τήρησης της δίαιτας. Τόσο τα ποσοστά των θετικών ασθενών όσο και της μέσης συγκέντρωσης των περισσότερων δοκιμασιών διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ασθενών που τηρούσαν ολοκληρωτικά τη δίαιτα και αυτών που την τηρούσαν μερικώς.

Χρησιμοποιήθηκαν λοιπόν οι ROC αναλύσεις στους 6, 12, 24, και 36 μήνες για να εκτιμηθεί η ικανότητα των διαφόρων αντισωμάτων να εντοπίζουν τις διαιτητικές παρεκκλίσεις και να διαχωρίζουν την τήρηση της ΔΕΓ από τη μερική τήρηση αυτής. Τα EmA είναι ο μόνος ορολογικός δείκτης που έχει προγνωστική ικανότητα για την τήρηση της δίαιτας στους 6 μήνες. Για τα υπόλοιπα χρονικά διαστήματα δηλαδή τη μακροχρόνια παρακολούθηση τα EmA και τα tTG-A είναι ισάξια και καλύτερα από τα AGA-G.

Σύμφωνα με τα παραπάνω είναι η μελέτη των Sugai και συν.²⁴⁶ οι οποίοι παρακολούθησαν επί ένα έτος 82 πρωτοδιάγνωστους ασθενείς μετρώντας οκτώ ανοσολογικούς δείκτες και συμπέραναν ότι τα EmA φαίνεται να είναι ο καλύτερος δείκτης για την παρακολούθηση της κοιλιοκάκης, αν και επισημαίνουν ότι για τη

διάγνωση της νόσου η ευαισθησία του είναι λίγο χαμηλή ειδικά όταν οι ιστολογικές βλάβες που υπάρχουν είναι μικρές.

Οι Burgin-Wolf και συν.²⁴⁴ πιστεύουν ότι η μέτρηση των tTG-A είναι ισάξια με αυτή των EmA και ότι οι δύο δοκιμασίες δίνουν ανάλογες πληροφορίες. Γι' αυτό το λόγο συστήνουν τη χρησιμοποίηση των tTG-A που έχει όλα τα πλεονεκτήματα των παραμέτρων που μετρώνται με Elisa ως εναλλακτική λύση τόσο στη διάγνωση όσο και στην παρακολούθηση της κοιλιοκάκης.

Υπάρχουν όμως και μελέτες που καταλήγουν ότι τα tTG-A είναι ο καλύτερος δείκτης στην παρακολούθηση της νόσου.

Έτσι, οι Fabiani και συν.²⁴⁵ συγκρίνοντας τα EmA και τα tTG-A βρήκαν ότι τα tTG-A είναι πιο ευαίσθητα στο να αποκαλύπτουν ελάχιστες διαιτητικές παρεκκλίσεις, ενώ οι Dipper και ²⁴⁷ συμπληρώνουν και αυτοί ότι τα tTG-A είναι καλύτερα από τα EmA στην παρακολούθηση των ασθενών που είναι σε ΔΕΓ.

Παρότι τα EmA έχουν εξαιρετική ειδικότητα στη διάγνωση της νόσου της κοιλιοκάκης καθώς και μεγάλη προγνωστική αξία στην παρακολούθηση της ΔΕΓ, εντούτοις έχουν και αρκετά μειονεκτήματα. Ο ανοσοφθορισμός, με τον οποίο προσδιορίζονται, είναι τεχνική επίμοχθη, χρονοβόρος, που δεν προτυποποιείται εύκολα με αποτέλεσμα η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της να είναι αρκετά υποκειμενική. Υπάρχουν, λοιπόν, αρκετά προβλήματα στην ερμηνεία της, ιδιαίτερα όταν το προσωπικό του εργαστηρίου δεν είναι έμπειρο.

Από τη στιγμή που τα tTG-A μπορούν να μετρηθούν χρησιμοποιώντας την ELISA, μια ιδιαίτερα πρακτική, αυτοματοποιημένη και οικονομικότερη μέθοδο, είναι πολύ δελεαστικό να χρησιμοποιούνται αυτά αντί των EmA. Χρήσιμη, επίσης, πολλές φορές είναι η αναζήτηση των tTG-A και σε περιπτώσεις κοιλιοκάκης με EmA αρνητικά.²⁵¹

Από την άλλη μεριά, όμως, τα tTG-A μετριοούνται με αντιδραστήρια τα οποία χρησιμοποιούν διαφορετικούς επιτόπους της tTG2 ως αντιγόνα με αποτέλεσμα τα ποσοστά ειδικότητας της μεθόδου να διαφέρουν. Γι' αυτό το λόγο η θετική προγνωστική αξία των tTG-A είναι πολλές φορές χαμηλή ειδικά σε πληθυσμούς χαμηλού κινδύνου.²⁵²

Όπως ήδη έχουμε αναφέρει, ένα από τα μειονεκτήματα της αναζήτησης των tTG-A είναι το γεγονός ότι μπορεί να θετικοποιούνται και σε μερικές άλλες καταστάσεις,

όπως σε φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου και σε κάποιες παθήσεις του ήπατος. Όμως, αξίζει να υπογραμμίσουμε ότι πολύ υψηλοί τίτλοι, ιδιαίτερα μεγαλύτεροι από 100 U/L, δεν έχουν ποτέ παρατηρηθεί σε αυτές τις περιπτώσεις.^{253,254}

Επίσης στη μελέτη μας επιβεβαιώνεται, η αυξημένη συχνότητα συνύπαρξης άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων με την κοιλιοκάκη, που, όπως έχουμε αναφέρει, συνήθως μοιράζονται κάποιους κοινούς γενετικούς τόπους. Συνολικά και στις δύο ομάδες 9 ασθενείς (8,0%) είχαν ταυτόχρονα και αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, 2 ασθενείς (1,8%) είχαν IDDM, άλλοι 2 (1,8%) είχαν σύνδρομο Sjögren και 2 (1,8%) είχαν ατροφική γαστρίτιδα.

Από καιρό είναι γνωστό ότι η εμφάνιση της κοιλιοκάκης είναι πιο συχνή μεταξύ των συγγενών των ατόμων που πάσχουν από τη νόσο. Εξετάσαμε, λοιπόν, 47 συγγενείς 28 ασθενών με κοιλιοκάκη και προσδιορίσαμε στον ορό αυτών τα EmA, tTG-A, AGA-A και AGA-G. Βρέθηκε ότι δύο άτομα νοσούν, δηλαδή ποσοστό 4,2%, που συμφωνεί με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που εξετάζουν τους συγγενείς πρώτου βαθμού ατόμων με κοιλιοκάκη, στις οποίες η αναφερόμενη συχνότητα της νόσου στηρίζεται στις μετρήσεις των ορολογικών δεικτών. Χρησιμοποιούνται τα EmA και τα tTG-A, είτε μόνα τους είτε σε συνδυασμό με τα AGA και, ενδεικτικά, κάποιες από τις ανευρισκόμενες συχνότητες της κοιλιοκάκης μεταξύ των συγγενών πρώτου βαθμού είναι 2,8%, 4,5%, 4,8% και 8,2%.^{255-257,259} Οι διακυμάνσεις, που υπάρχουν μεταξύ των αντίστοιχων ποσοστών που αναφέρουν οι διάφοροι ερευνητές, μπορεί να δικαιολογηθούν από τις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται στην κάθε μελέτη, αλλά και από το διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο που υπάρχει στον υπό μελέτη πληθυσμό.

Η συχνότητα της κοιλιοκάκης στους συγγενείς πρώτου βαθμού αυξάνει σημαντικά όταν τα άτομα που εξετάζονται προέρχονται από οικογένειες στις οποίες υπάρχουν δύο ή περισσότερα άτομα με κοιλιοκάκη ή ερπητοειδή δερματίτιδα. Σε μελέτες που αφορούσαν τέτοιες οικογένειες η συχνότητα των καινούργιων περιπτώσεων με νόσο υπολογίστηκε 6,4% 9,4% και 17,2%²⁵⁸⁻²⁶⁰ αντίστοιχα, ενώ αυξημένη συχνότητα υπάρχει και σε συγγενείς δευτέρου βαθμού.²⁶⁰

Οι συγγενείς που χρησιμοποιήσαμε στη μελέτη μας δεν προέρχονταν από οικογένειες που είχαν περισσότερα του ενός άτομα με κοιλιοκάκη, αλλά από τους

υπόλοιπους ασθενείς που μελετήσαμε πολλοί ανήκαν στην ίδια οικογένεια. Συγκεκριμένα, είχαμε πατέρα με γιο, μητέρα με την κόρη της και τον αδελφό της μητέρας, μητέρα με τα δύο της παιδιά, δυο δίδυμα αγόρια, θεία και ανιψιά καθώς και δύο πρώτα ξαδέρφια.

Αξίζει να αναφέρουμε, ωστόσο, ότι ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει στο μέλλον την εμφάνιση της κοιλιοκάκης σε κάποιον που είναι συγγενής με άτομο που πάσχει.²⁴⁹

Είναι λοιπόν γεγονός ότι οι συγγενείς ατόμων που πάσχουν από κοιλιοκάκη έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να νοσήσουν από το γενικό πληθυσμό. Λόγω των δυνητικών επιπλοκών που μπορεί να επιφέρει η αδιάγνωστη και αθεράπευτη νόσος, είναι σημαντικό να εντοπίζονται τα μέλη των οικογενειών, κυρίως αυτά με τη σιωπηλή μορφή της νόσου, προκειμένου να επωφεληθούν τα οφέλη της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης.

Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης των ασθενών και των δύο ομάδων, εκτός από τον προσδιορισμό των αυτοαντισωμάτων, μετρήσαμε και τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης, του ασβεστίου καθώς και την τιμή της ΤΚΕ .

Η κοιλιοκάκη πάντα πρέπει να είναι στη διαφορική διάγνωση των ασθενών με επιμένουσα σιδηροπενική αναιμία καθώς αναφέρεται ότι η συχνότητά της στον πληθυσμό αυτών των ατόμων κυμαίνεται από 3%-14 %.^{178,179, 261}

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι το ποσοστό των ατόμων με κοιλιοκάκη, που εμφανίζουν αναιμία στην πρωτοδιάγνωση, ποικίλει αρκετά και αναφέρεται ότι είναι 12%-69%.^{172,173,262,264}

Οι Annibale B και συν. στην εργασία τους περιγράφουν πως η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και μόνο αυτή, χωρίς λήψη επιπρόσθετου σιδήρου, διορθώνει αποτελεσματικά τη σιδηροπενική αναιμία. Το 77,8% των ασθενών με σιδηροπενική αναιμία και κοιλιοκάκη που ακολούθησε ΔΕΓ δεν είχε αναιμία έξι μήνες μετά την έναρξη της δίαιτας, ενώ το 94,4% δεν εμφάνισε αναιμία στον ένα χρόνο αντίστοιχα.¹⁷⁹ Επίσης, σε μια μακροχρόνια μελέτη αναφέρεται ότι κανένα από τα 30 άτομα που ακολουθούσαν τη ΔΕΓ επί 10 χρόνια δεν είχε έλλειψη σιδήρου.²⁶⁵

Τα ευρήματα της μελέτης μας συμφωνούν σε γενικές γραμμές με τα παραπάνω. Το 68,6% των ασθενών μας εμφάνιζε αναιμία τη στιγμή της διάγνωσης. Στους έξι μήνες το ποσοστό αυτό μειώθηκε στο 44,1% και στον ένα χρόνο στο 27,1%, μείωση

που συνεχίστηκε και στο δεύτερο έτος. Όσον αφορά τους ασθενείς της ομάδας Β, δηλαδή αυτούς που η διάγνωση της νόσου είχε γίνει προγενέστερα της μελέτης μας, το 83,7% αυτών είχε φυσιολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης, οι οποίες δε μεταβλήθηκαν στατιστικά σημαντικά στη διάρκεια των τριών ετών της παρακολούθησης. Αυτό το ποσοστό των ασθενών, όπως έχουμε αναφέρει, είχε μέση διάρκεια νόσου $10,9 \pm 8,5$ έτη και όλο αυτό το χρονικό διάστημα ήταν υπό ΔΕΓ.

Η προοδευτική αποκατάσταση, λοιπόν, της ιστολογικής βλάβης του λεπτού εντέρου λόγω της ΔΕΓ επιτρέπει την απορρόφηση του σιδήρου συμβάλλοντας στη διόρθωση της αναιμίας. Η απαραίτητη φαρμακευτική υποκατάσταση χορηγείται όταν και όπου χρειάζεται.¹⁸¹

Μία άλλη παράμετρος που μελετήσαμε ήταν το ασβέστιο. Δε βρήκαμε στατιστικά σημαντική μεταβολή στις μέσες τιμές των επιπέδων του ασβεστίου στα διάφορα χρονικά διαστήματα σε καμία από τις δύο ομάδες.

Ο μηχανισμός που οδηγεί σε μειωμένη οστική πυκνότητα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη φαίνεται να είναι τελικά πιο πολύπλοκος και πολυπαραγοντικός. Εκτός από τη δυσαπορρόφηση του ασβεστίου, της βιταμίνης D και του επακόλουθου δευτερογενούς υπερπαραθυρεοειδισμού που ενοχοποιούνται από παλιά ως αιτιολογικοί παράγοντες, σημαντικό ρόλο φαίνεται ότι έχουν και οι κυτταροκίνες που παράγονται στη φλεγμονώδη διεργασία που δημιουργείται στον εντερικό βλεννογόνο και οι οποίες είναι ανεξάρτητες της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών.²⁶⁶⁻²⁶⁸

Άλλοι πάλι υποστηρίζουν ότι η μέτρηση του ασβεστίου και της αλκαλικής φωσφατάσης του ορού δεν αποτελούν αξιόπιστους δείκτες του οστικού μεταβολισμού και στους ασθενείς με οστεοπενία θα πρέπει να ελέγχονται τα επίπεδα παραθορμόνης και βιταμίνης D.^{193,194} Οι Silvester και συν. προσπαθώντας να μελετήσουν και να συγκρίνουν τις διεθνείς οδηγίες που κατά καιρούς δίνονται σχετικά με τη μακροχρόνια παρακολούθηση της κοιλιοκάκης, όσον αφορά το ασβέστιο, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι τα επίπεδα ασβεστίου πρέπει να μετρώνται στην παρακολούθηση όλων των ασθενών με κοιλιοκάκη.²⁶⁹

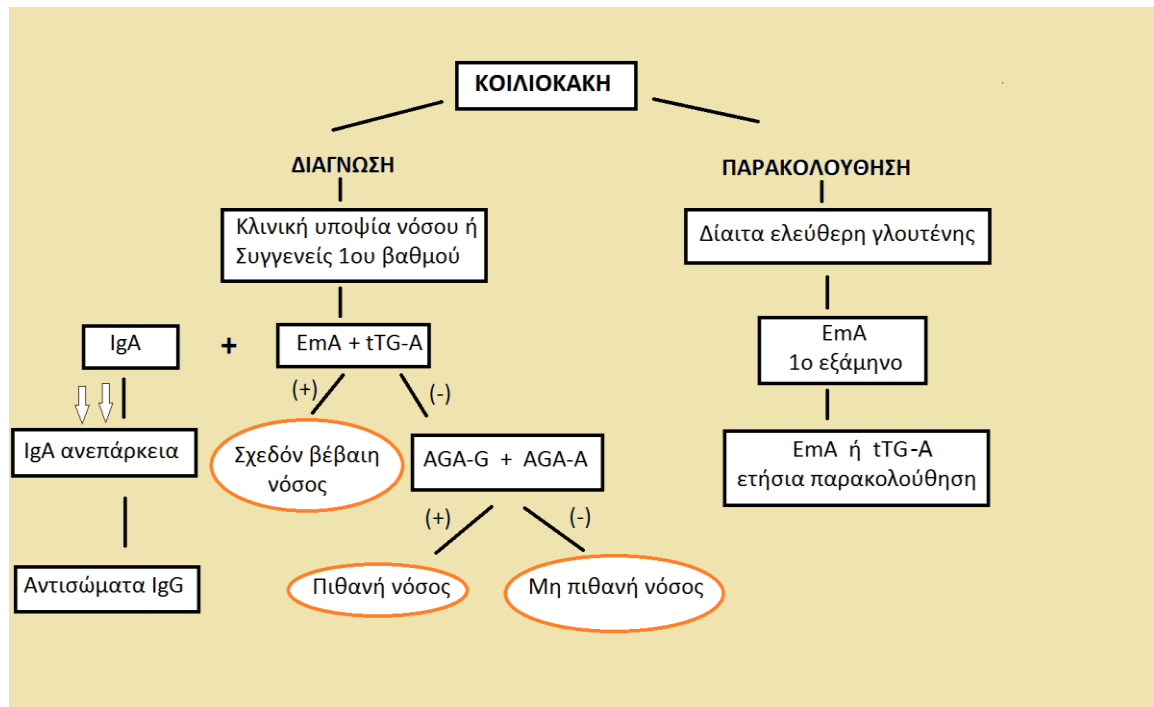
Για την ΤΚΕ δεν βρέθηκαν ιδιαίτερες αναφορές στη βιβλιογραφία. Οι Harper και συν. προσπάθησαν να βρούν κάποια σχέση ανάμεσα στις μεταβολές της ΤΚΕ και

στις μεταβολές της φερριτίνης, θέλοντας να ενισχύσουν την άποψή τους ότι ένα είδος αναιμίας που υπάρχει στην κοιλιοκάκη είναι και αυτή της χρόνιας νόσου.¹⁸⁸ Στη μελέτη μας, πάντως, δε βρήκαμε στατιστικά σημαντική μεταβολή στη μέση τιμή της ΤΚΕ μεταξύ των διαφόρων χρονικών διαστημάτων σε καμία από τις δύο ομάδες ασθενών που εξετάσαμε.

Συνοψίζοντας, λοιπόν, αναφέρουμε ότι η μελέτη μας αφορά Έλληνες ενήλικες ασθενείς με κοιλιοκάκη (πρωτοδιάγνωση ή υπό δίαιτα ελεύθερη γλουτένης) στα δείγματα των οποίων προσδιορίστηκαν εργαστηριακές παράμετροι και αυτοαντισώματα, για χρονικό διάστημα τριών ετών. Βασιζόμενοι στις προαναφερθείσες στατιστικές αναλύσεις, στα συμπεράσματα που προκύπτουν από αυτές και τονίζοντας ότι πάντα πρέπει να λαβαίνουμε υπ' όψιν τις δυνατότητες και ιδιαιτερότητες του κάθε εργαστηρίου, προτείνουμε για την ορολογική διάγνωση και παρακολούθηση της κοιλιοκάκης τον αλγόριθμο που απεικονίζεται στην εικόνα 22 .

Αναλυτικά, για τη διάγνωση, τόσο στα άτομα με κλινική υποψία νόσου όσο και στους συγγενείς πρώτου βαθμού, προτείνεται να γίνεται η μέτρηση IgA ανοσοσφαιρίνης (για τον αποκλεισμό της IgA ανεπάρκειας) και ο προσδιορισμός των επιπέδων των EmA και tTG-A. Στην περίπτωση IgA ανεπάρκειας ακολουθεί ο προσδιορισμός αντισωμάτων τάξεως IgG. Η αναζήτηση των AGA-A και AGA-G κρίνεται απαραίτητη όταν τα EmA και tTG-A είναι αρνητικά.

Όσον αφορά την παρακολούθηση της τήρησης της ΔΕΓ, προτείνουμε τον προσδιορισμό της μεταβολής του τίτλου των EmA για το πρώτο εξάμηνο από την έναρξή της, ενώ για την ετήσια παρακολούθηση τόσο ο τίτλος των EmA, όσο και τα επίπεδα των tTG-A αποτελούν χρήσιμα εργαλεία για τον κλινικό ιατρό.



Εικόνα 22 . Προτεινόμενος αλγόριθμος για τη διαγνωστική προσέγγιση της κοιλιοκάκης.

Περίληψη

Η κοιλιοκάκη, πολυπαραγοντική νόσος, στην οποία γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες εμπλέκονται, θεωρείται η μοναδική αυτοάνοσος διαταραχή που προκαλείται αλλά και διατηρείται ενεργής από ένα εξωγενές αντιγόνο, τη γλουτένη.

Η όλο και αυξανόμενη επίπτωσή της στον πληθυσμό, ιδιαίτερα των ενηλίκων, διαφορετική σε κάθε χώρα, η άτυπη κλινική της εικόνα, αλλά και η δια βίου τήρηση της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης, ως μόνη θεραπεία για την αποφυγή των επιπλοκών, δημιουργούν επιτακτική την ανάγκη για την επιλογή των κατάλληλων ανοσολογικών δεικτών, που θα συμβάλλουν τόσο στη σωστή και έγκαιρη διάγνυσή της, όσο και στην παρακολούθηση του βαθμού τήρησης της δίαιτας εύκολα και αποτελεσματικά.

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη των ειδικών αυτοαντισωμάτων στη διάγνωση, παρακολούθηση καθώς και στην πρόγνωση της κοιλιοκάκης σε Έλληνες ενήλικες ασθενείς.

Ιδιαίτερα, αξιολογήθηκαν τα αντι-tTG αντισώματα σε σχέση με τα έναντι EmA στη διαγνωστική προσέγγιση, αλλά κυρίως στην παρακολούθηση των ασθενών, καθώς και η κατάρτιση αλγορίθμου στα πλαίσια κατευθυντήριων οδηγιών για την διερεύνηση της νόσου.

Υλικό-Μέθοδοι: Η μελέτη περιέλαβε τις εξής ομάδες ατόμων: 1) 113 Έλληνες ενήλικες ασθενείς με κοιλιοκάκη, οι οποίοι χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, την ομάδα Α με 70 πρωτοδιαγνωσθέντες ασθενείς και την ομάδα Β με 43 ασθενείς υπό ΔΕΓ με μέση διάρκεια νόσου $10,9 \pm 8,5$ έτη, στους οποίους η διάγνωση είχε τεθεί προγενέστερα της μελέτης μας. Η παρακολούθηση των ασθενών έγινε για την ομάδα Α κατά τη χρονική στιγμή της διάγνωσης και ακολούθως στους 6, 12, 24 και 36 μήνες μετά, ενώ για την ομάδα Β μια φορά κάθε έτος για τρία έτη 2) 47 άτομα που είναι πρώτου βαθμού συγγενείς των ασθενών με κοιλιοκάκη και 3) 70 άτομα, από τα οποία 30 ήταν ασθενείς με φλεγμονώδη και μη φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου και τα υπόλοιπα 40 υγιή άτομα, αιμοδότες, που αποτέλεσαν την ομάδα σύγκρισης.

Μελετήθηκαν τα αντισώματα: α) έναντι ενδομυίου (EmA) με την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF), β) έναντι γλιαδίνης (AGA) τάξεως IgA και IgG και έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης (tTG) τάξεως IgA με τη μέθοδο της ELISA.

Επιπλέον, έγινε ποσοτικός προσδιορισμός των ανοσοσφαιρινών IgG, IgA και IgM καθώς και των υποτάξεων των IgG ανοσοσφαιρινών με νεφελομετρία. Επίσης, έγινε προσδιορισμός των επιπέδων αιμοσφαιρίνη (Hb), μέτρηση της ταχύτητας καθίζησης ερυθρών (ΤΚΕ) και των επιπέδων ασβεστίου (Ca).

Με τη στατιστική ανάλυση των μετρήσεων προδιορίσθηκε η ευαισθησία, ειδικότητα, θετική και αρνητική προγνωστική αξία των ανοσολογικών δεικτών, μελετήθηκαν οι ποσοτικές και ποιοτικές μεταβολές των αυτοαντισωμάτων και των δύο ομάδων σε σχέση τόσο με το χρόνο όσο και με την τήρηση της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης, ενώ με τη χρησιμοποίηση των ROC αναλύσεων βρέθηκε η προγνωστική αξία των αντισωμάτων για την τήρηση της δίαιτας. Και στις δυο ομάδες, Α και Β, αξιολογήθηκε η μεταβολή της αιμοσφαιρίνης σε σχέση με το χρόνο καθώς και οι τιμές του ασβεστίου και της ΤΚΕ. Επίσης, μελετήθηκαν τα αποτελέσματα των μετρήσεων των αντισωμάτων στους συγγενείς πρώτου βαθμού των ασθενών με κοιλιοκάκη.

Αποτελέσματα: Σύμφωνα με τις μετρήσεις και αναλύσεις που έγιναν στη μελέτη μας βρέθηκε για την ομάδα Α ότι α) Τα EmA είχαν τη μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα καθώς επίσης τη μεγαλύτερη θετική και αρνητική αξία στη διάγνωση της κοιλιοκάκης. Επίσης, η διακριτική ικανότητα τους ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με αυτή του AGA-A, του AGA-G και του tTG-A ($p=0,032$, $p=0,039$ και $p=0,043$), β) Όλα τα αντισώματα EmA, AGA-A, AGA-G και tTG-A μειώνονται ποσοτικά και ποιοτικά στο χρόνο, ιδιαίτερα σε αυτούς που τηρούν αυστηρά τη δίαιτά τους. Στατιστικά σημαντική διαφορά, όμως, από το πρώτο κίόλας εξάμηνο ανάλογα με την τήρηση της δίαιτας παρατηρείται μόνο στα EmA, γ) Όσον αφορά την προγνωστική ικανότητα για την τήρηση της δίαιτας, περαιτέρω μετρήσεις με τη βοήθεια των ROC αναλύσεων επιβεβαίωσε ότι στους 6 μήνες μόνο τα EmA έχουν προγνωστική ικανότητα. Στον ένα χρόνο, όμως, όλα τα αντισώματα έχουν προγνωστική ικανότητα με τα EmA και tTG-A να έχουν ισάξια και καλύτερη από τα AGA-G ($p=0,046$ και $p=0,025$ αντίστοιχα). Αλλά και στα δύο χρόνια η προγνωστική ικανότητα των tTG-A και EmA συνεχίζει να είναι σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με

αυτή του AGA-G ($p=0,028$ και $p=0,006$ αντίστοιχα). Τέλος, στο διάστημα των τριών ετών όλα τα αντισώματα εκτός από τα AGA-A έχουν προγνωστική ικανότητα, η οποία είναι ισάξια, δ) Αναφορικά με τις μετρήσεις της αιμοσφαιρίνης καταγράφηκε σημαντική μείωση του ποσοστού των ασθενών της ομάδα A, με παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης στο χρόνο δηλαδή από την αρχική μέτρηση στα τρία έτη, ε) Τόσο στις μετρήσεις των επιπέδων του ασβεστίου όσο και των τιμών της ΤΚΕ δε βρέθηκαν σημαντικές μεταβολές σε σχέση με το χρόνο.

Για την ομάδα B φαίνεται ότι ούτε στις ποσοτικές μεταβολές των αντισωμάτων των ασθενών ούτε και στα αντίστοιχα ποσοστά υπάρχει σημαντική μεταβολή στο χρόνο ανεξάρτητα από την τήρηση ή μερική τήρηση της δίαιτας. Επίσης, καμία σημαντική μεταβολή σε σχέση με το χρόνο δε βρέθηκε στις μετρήσεις της αιμοσφαιρίνης, της ΤΚΕ και των επιπέδων του ασβεστίου.

Όσον αφορά τις μετρήσεις των ανοσοσφαιρινών IgA, IgM, IgG και των υποτάξεων της IgG, δε βρέθηκε σημαντική διαφορά ($p>0,05$) όταν συγκρίθηκαν μεταξύ των ομάδων μελέτης, ενώ κανένα άτομο δεν είχε IgA ανεπάρκεια.

Επίσης στο 4,2% των συγγενών πρώτου βαθμού των ασθενών με κοιλιοκάκη ανιχνεύθηκαν αντισώματα EmA. Αυτά τα άτομα νοσούσαν από κοιλιοκάκη, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και με βιοψία.

Συμπεράσματα: Η χρησιμοποίηση των ορολογικών δεικτών στην κοιλιοκάκη φαίνεται, λοιπόν, να είναι μια μη επεμβατική εύκολα εφαρμόσιμη, άμεση και αξιόπιστη πρακτική τόσο στη διάγνωση όσο και στην παρακολούθηση της νόσου. Από τις ανοσολογικές παραμέτρους που μελετήσαμε τα έναντι EmA και τα tTG-A, είναι οι βέλτιστοι δείκτες στη διαγνωστική προσέγγιση (στα άτομα με κλινική υποψία της νόσου και στους συγγενείς πρώτου βαθμού ατόμων με κοιλιοκάκη), αλλά και στην παρακολούθηση της δίαιτας ελεύθερη γλουτένης. Η εφαρμογή τους εξαρτάται, σε μεγάλο βαθμό, από τις δυνατότητες και την εξειδίκευση του κάθε εργαστηρίου.

Summary

Detection and study of specific autoantibodies in the diagnosis, monitoring and prognosis of celiac disease

Celiac disease, a multifactorial disease, in which both genetic and environmental factors are implicated, is considered as the only autoimmune disorder caused and kept active by an external antigen, gluten.

Its increasing prevalence on people, especially adults, different in each country, its atypical clinical presentation, but also the lifelong observance of a gluten free diet (GFD) as the only treatment for the avoidance of complications, create an imperative need for the selection of the proper immunological tests that will contribute as much to its correct and timely diagnosis as to the prediction of gluten free diet compliance easily and effectively.

The **aim** of the present thesis was the detection and study of specific autoantibodies in the diagnosis, monitoring as well as the prognosis of celiac disease in Greek adult patients.

In particular, the anti-tissue transglutaminase antibodies were evaluated in relation to the anti endomysium in the diagnostic approach, but mainly to the monitoring of the patients, as well as the constitution of an algorithm in the framework of the guidelines for the examination of the disease.

Material and Methods: The study included the following groups of individuals: 1) 113 Greek adult patients with celiac disease, separated in two groups, group A with newly diagnosed patients and group B with 43 patients already on a GFD with a mean duration of the disease $10,9 \pm 8,5$ years, to whom the diagnosis has taken place prior to our study. The monitoring of the patients took place for group A on the moment of the diagnosis and consequently after 6, 12, 24 and 36 months, while for group B once every year for three years 2) 47 individuals who were first degree relatives with the patients with celiac disease and 3) 70 individuals, from which 30 were patients with inflammatory and non-inflammatory disease of the intestine and the remaining 40 were healthy blood donors who constituted the comparison group.

The antibodies studied were: a) anti endomysium (EmA) with the technique of indirect immunofluorescence (IIF), b) anti-gliadin class IgA (AGA-A) and IgG (AGA-G) and anti tissue transglutaminase class IgA (tTG-A) with the ELISA method.

Furthermore, a quality determination took place of the immunoglobulins IgG, IgA and IgM as well as the subclasses of IgG immunoglobulin with nephelometry.

Furthermore, a determination of the levels of haemoglobin (Hb) and calcium (Ca) as well the measurement of the erythrocyte sedimentation rate (ESR) took place.

With the statistic analysis of the measurements the sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of the immunological markers, the quantity and quality changes of the antibodies were studied of both groups in relation as much to the time as the compliance with the gluten free diet, while with the use of the ROC analyses the predictive capacity of the antibodies for the compliance with the diet was found. In both groups, A and B, the changes of the haemoglobin's measurements were evaluated in relation to the time as well the measurements of calcium and ESR. Moreover, the results of the antibodies' measurements were studied in the first degree relatives of the patients with celiac disease.

Results: According to the measurements and the analyses that were done in our study, in group A it was found that a) the EmA had the highest sensitivity and specificity as well as the largest positive and negative predictive values in the diagnosis of the celiac disease. Furthermore, their discriminant ability was considerably higher in comparison to the one of AGA-A, AGA-G and tTG-A ($p=0,032$, $p=0,039$ and $p=0,043$), b) all the antibodies (EmA, AGA-A, AGA-G and tTG-A) decreased in quality and quantity with time, in particular to those who observed a strict diet. Statistically a considerable difference was observed, however, even from the first semester only in the EmA, c) regarding the predictive capacity for the observance of the diet, further measurements with the help of the ROC analyses confirmed that on 6 months only the EmA has a predictive capacity. In one year, however, all the antibodies had a predictive capacity, with the EmA and tTG-A having an equal and better one than the AGA-G ($p=0,046$ and $p=0,025$ respectively). Subsequently, in two years all the antibodies had a predictive capacity except the AGA-A, with the one of tTG-A and EmA continuing being considerably higher in relation to the one of AGA-G ($p=0,028$, and $p=0,006$ respectively). Finally, in three

years all the antibodies except the AGA-A had a predictive capacity, which was equal, d) regarding the haemoglobin measurements, a considerable decrease in the percentage of the patients of group A with haemoglobin pathologic values was recorded over time, that is from the initial measurement in three years, e) as much in the measurements of calcium as in the values of ESR no considerable changes were found in time.

For group B there was no considerable change in time of the patients' antibodies or on the respective percentages regardless of the compliance or partial compliance with the gluten free diet. Furthermore, no considerable change over time was found in the haemoglobin measurements, the ESR and the calcium levels.

Regarding the measurements of the immunoglobulins IgA, IgM, IgG and the subclasses of the IgG, no considerable difference was found ($p > 0,05$) when compared among the studied groups, while no individual had IgA deficiency.

In the relatives group it was found that 4,2% of the first degree relatives of the patients with celiac disease was detected serologically and it was confirmed with a biopsy that it suffered from the disease.

Conclusions: The use of serologic markers in celiac disease seems to be a non-invasive, easily applicable, direct and reliable practice as much in the diagnosis as in the monitoring of the disease. From the immunologic parameters we studied the anti EmA and the tTG-A, are the optimum markers in the diagnostic approach (in the individuals with clinical suspicion of the disease and the first degree relatives of individuals with celiac disease), but also in the monitoring of the compliance with the gluten free diet. However their application depends, to a great deal, from the capacity and the specialization of each laboratory.

Βιβλιογραφία

1. Μάντζαρης Γ: Εντεροπάθεια από γλουτένη (Κουλιοκάκη) Εσωτερική Παθολογία Σ. Ράπτη, 1086-89, Εκδόσεις Παρισιάνου, Copyright 2006.
2. ESPGHAN Guidelines for the diagnosis of coeliac disease. 2012; 54:136-160.
3. Adams F, translator (1856): "On The Coeliac Affection". The extant works of Aretaeus, The Cappadocian. London: Sydenham Society. pp. 350–1. Retrieved 12 December 2009.
4. Gee, SJ: "On the coeliac affection". St Bartholomew's Hospital Report 1888; 24: 17–20.
5. Haas SV: The value of the banana in the treatment of celiac disease. Am J Dis Child 1924; 24:421-37.
6. Dicke W.K., Weijers H.A., Van de Kamer: A factor in wheat having deleterious effect in celiac disease. Acta Paediatr., 1953, 42:53
7. Paveley WK: From Aretaeus to Crosby: A History of Coeliac Disease British Med Journal 88; 297: 1646-9.
8. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, et al: The prevalence of CD in Europe: results of a centralized, international mass screening project. AnnMed. 2010; 42:587–595.
9. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, et al: Prevalence of CD in at-risk and non at-risk groups: a large, multicentre study. Arch InternMed. 2003;163:286–292.
10. Hovell CJ, Collett JA, Vautier G, et al: High prevalence of coeliac disease in a population-based study from Western Australia: a case for screening? Med J Aust. 2001; 175:247–250.
11. Cook HB, Burt MJ, Collett JA, Whitehead MR, Frampton CM, Chapman BA: Adult coeliac disease: prevalence and clinical significance. J Gastroenterol Hepatol. 2000;15:1032–1036.
12. Oliveira RP, Sdepanian VL, Barreto JA, et al: High prevalence of CD in Brazilian blood donor volunteers based on screening by IgA anti-tissue transglutaminase antibody. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2007; 19:43–49.
13. Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, Pizarro B, laMotta G, de Barrio S: Prevalence of CD in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. Am J Gastroenterol. 2001; 96:2700–2704.
14. Abu-Zekry M, Kryszak D, Diab M, Catassi C, Fasano A: Prevalence of CD in Egyptian children disputes the east-west agriculture-dependent spread of the disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008; 47:136–140.
15. Alarida K, Harown J, Ahmida A, et al: Coeliac disease in Libyan children: a screening study based on the rapid determination of anti-transglutaminase antibodies. Dig Liver Dis. 2011;43(9):688-91
16. Ben Hariz M, Kallel-Sellami M, Kallel L, et al: Prevalence of CD in Tunisia: mass screening study in schoolchildren. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2007;19:687–694.
17. Imanzadeh F, Sayyari AA, Yaghoobi M, Akbari MR, Shafagh H, Farsar AR: CD in children with diarrhea is more frequent than previously suspected. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2005; 40:309–311.

18. Ertekin V, Selimoğlu MA, Kardas, F, Aktas, E: Prevalence of CD in Turkish children. *J Clin Gastroenterol*. 2005; 39:689–691.
19. Sood A, Midha V, Sood N, Avasthi G, Sehgal A: Prevalence of CD among school children in Punjab, North India. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21:1622–1625.
20. Catassi C, Cobellis G: Coeliac disease epidemiology is alive and kicking, especially in the developing world. *Dig Liver Dis*. 2007; 39: 908–910.
21. Catassi C, Ratsch IM, Gandolfi L, et al: Why is coeliac disease endemic in the people of Sahara? *Lancet*. 1999; 354:647–648.
22. Fasano A, Catassi C: Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*. 2001; 120:636–651.
23. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, et al: Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26:1217–1225.
24. Bach JF: The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *NEngl JMed*. 2002; 347:911–920.
25. Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, Haas JE, Sokol RJ, Emery L, et al: Rotavirus infection frequency, risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol* 2006;101:2333–40.
26. Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF: Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review, meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child* 2006; 91:39–43.
27. Kondrashova A, Mustalahti K, Kaukinen K, Viskari H, Volodicheva V, Haapala AM, et al: Lower economic status, inferior hygienic environment may protect against celiac disease. *Ann Med* 2008; 40:223–31.
28. Ivarsson A, Persson LA, Nyström ML, et al: Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr*. 2000; 89:165–171.
29. Gobetti M, Rizzello GM, Di Cagno R, De Angelis M: Sourdough lactobacilli and celiac disease. *Food Microbiol*. 2007; 24:187–196.
30. Zanoni G, Navone R, Lunari C, 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.
31. Mantzaris GJ, Karagiannis JA, Priddle JD, Jewell DP: Cellular hypersensitivity to a synthetic dodecapeptide derived from human adenovirus 12 which resembles a sequence of A-gliadin in patients with coeliac disease. *Gut*. 1990 Jun; 31(6):668-73.
32. Mantzaris G, Jewell DP: In vivo toxicity of a synthetic dodecapeptide from A gliadin in patients with coeliac disease *Scand J Gastroenterol*. 1991 Apr; 26(4):392-8.
33. Mantzaris GJ, Priddle JD, Jewell DP: T lymphocyte responses to a synthetic peptide from the human intestinal adenovirus 12 in coeliac disease. *J Clin Lab Immunol*. 1990 Feb; 31(2):75-9.
34. Roka V, Potamianos SP, Kapsoritakis AN, Yiannaki EE, Koukoulis GN, Stefanidis I, Koukoulis GK, Germanis AE: Prevalence of coeliac disease in the adult population of central Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2007 Nov; 19(11):982-7.
35. Greco L, Romino R, Coto I et al: The first large population based twin study on celiac disease *Gut* 2002 50:624-628.

36. Freeman HJ: Risk factors in familial forms of celiac disease. *World J Gastroenterol.* 2010 Apr 21; 16(15):1828-31.
37. Παπαστεριάδη Χρ: Ανοσογενετική της κοιλιοκάκης, Ανοσολογία εντεροπαθειών Ι. Οικονομίδου, Ο. Μανούσος 68-75, 1994
38. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, et al: European Genetics Cluster on Celiac Disease. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05–DQB1*02(DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol.* 2003;64:469–477.
39. Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby: Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ / heterodimer. *J Exp Med.* 1989; 169:345–350.
40. Sollid LM, Thorsby E: HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology.* 1993; 105:910–922.
41. Van Heel D, West J (2006): "Recent advances in coeliac disease". *Gut* 55 (7): 1037–46.
42. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Nenna R, Maiella G, Lulli P, Mazzilli MC: HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol.* 2009 Jan;70(1):55-9.
43. Jores RD, Frau F, Cucca F, et al: "HLA-DQB1*0201 homozygosity predisposes to severe intestinal damage in celiac disease". *Scand. J. Gastroenterol.* 2007; 42 (1): 48–53.
44. Romanos J, Van Diemen CC, Nolte IM, et al: Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology.* 2009; 137:834–840.
45. Monsuur AJ, Wijmenga C. Understanding the molecular basis of celiac disease: what genetic studies reveal. *Ann Med* 2006;38:578–91.
46. Hunt KA, McGovern DP, Kumar PJ, Ghosh S, Travis SP, Walters JR, Jewell DP, Playford RJ, van Heel DA: A common CTLA4 haplotype associated with coeliac disease. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 440-444.
47. Van Heel DA, Franke L, Hunt KA, et al: A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nat Genet* 2007; 39:827–9.
48. Garner CP, Murray JA, Ding YC, Tien Z, van Heel DA, Neuhausen SL: Replication of celiac disease UK genome-wide association study results in a US population. *Hum Mol Genet.* 2009; 18:4219–4225.
49. Swinson CM, Levi AJ: Is coeliac disease underdiagnosed? *Br Med J* 1980; 281: 1258-1260.
50. Logan RF, Tucker G, Rifkind EA, Heading RC, Ferguson A: Changes in clinical features of coeliac disease in adults in Edinburgh and the Lothians 1960-79. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 286: 95-97.
51. Paré P, Douville P, Caron D, Lagacé R: Adult celiac sprue: changes in the pattern of clinical recognition. *J Clin Gastroenterol* 1988; 10: 395-40.
52. Tack GJ, Verbeek W, Schreurs M, Mulder C. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 7(4):204–213.

53. Murray JA, Rubio-Tapia A, Van Dyke CT, et al: Mucosal atrophy in celiac disease: extent of involvement, correlation with clinical presentation, and response to treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6:186–193.
54. Thomas HJ, Ahmad T, Rajaguru C, Barnardo M, Warren BF, Jewell DP: Contribution of histological, serological, and genetic factors to the clinical heterogeneity of adult-onset coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1076–1083.
55. Freeman HJ: Clinical spectrum of biopsy-defined celiac disease in the elderly. *Can J Gastroenterol* 1995; 9: 42–46.
56. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, Korponay-Szabo I, Sommer R, Schreier E, et al: Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17(1):85–91.
57. Van Heel DA, West J: Recent advances in coeliac disease. *Gut* 2006; 55:1037–46.
58. Volta U: Coeliac disease: recent advances in pathogenesis, diagnosis and clinical signs. *Rec Prog Med* 1999; 1: 37–44.
59. Farrell RJ, Kelly CP: Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002; 346: 180–188. Howdle PD, Losowsky MS. Coeliac disease in adults. In: Marsh MN (ed.) *Coeliac Disease*. Oxford: Blackwell Scientific, 1992: 49–80.
60. McFarlane XA, Bhalla AK, Reeves DE, Morgan LM, Robertson DA. Osteoporosis in treated adult coeliac disease. *Gut* 1995; 36: 710–714.
61. Volta U: Dallo screening alla diagnosi. In: Corazza GR (ed.) *Malattia Celiaca, Educazione Permanente in Malattie Digestive*. Roma: Il Pensiero Scientifico Editore, 1996; 5: 29–35.
62. Cacciari E, Salardi S, Volta U, Biasco G, Lazzari R, Corazza GR et al: Can anti gliadin antibody detect symptomless coeliac disease in children with short stature. *Lancet* 1985; 1: 1469–1471.
63. Aine L, Maki M, Collin P, Keyrilainen O: Dental enamel defects in celiac disease. *J Oral Path Med* 1990; 19: 241–245.
64. Ferguson R, Basu MK, Asquith P, Cooke WT: Jejunal mucosal abnormalities in patients with recurrent aphthous ulceration. *BMJ* 1975; 1: 11–13.
65. Giorgetti GM, Tursi A, Brandimarte G, Rubino C, Gasbarrini G: Dysmotility-like dyspeptic symptoms in coeliac patients: role of gluten and *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liv Dis* 2000; 32: 73–74.
66. Sanders DS, Carter MJ, Hurlstone DP, Pearce A, Ward AM, McAlindon ME et al: Association of adult coeliac disease with irritable bowel syndrome: a case-control study in patients fulfilling ROME II criteria referred to secondary care. *Lancet* 2001; 358: 1504–1508.
67. Hallert C, Derefeldt T: Psychiatric disturbances in adult coeliac disease. Clinical observations. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17: 17–19.
68. Gobbi G, Bouquet F, Greco L, Lambertini A, Tassinari CA, Ventura A et al: Coeliac disease, epilepsy, and cerebral calcifications. *Lancet* 1992; 340: 439–443.
69. Hadjivassiliou M, Gibson A, Davies-Jones GA, Lobo AJ, Stephenson TJ, Milford-Ward A: Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *Lancet* 1996; 347: 369–371.

70. Luorostainen L, Pirttilä T, Collin P: Coeliac disease presenting with neurological disorders. *Eur Neurol* 1999; 42: 132–135.
71. Fantelli FJ, Mitsumoto H, Sebek BA: Multiple sclerosis and malabsorption. *Lancet* 1978; 311: 1039–1040.
72. Volta U, de Giorgio R: Gluten sensitivity: an emerging issue behind neurological impairment? *Lancet Neurol* 2010; 9: 233–235.
73. Ferguson R, Holmes GK, Cooke WT: Coeliac disease, fertility and pregnancy. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17: 65–68.
74. Sher KS, Mayberry JF: Female fertility, obstetric and gynecological history in celiac disease: a case control study. *Digestion* 1994; 55: 243–246.
75. Farthing MJ, Edwards CR, Rees LH, Dawson AM: Male gonadal function in celiac disease: 1 sexual dysfunction, infertility and semen quality. *Gut* 1982; 23: 608–614.
76. Farthing MJ, Rees LH, Edwards CR, Dawson AM: Male gonadal function in coeliac disease: 2 sexual dysfunction, infertility and semen quality. *Gut* 1982; 24: 127–135.
77. Volta U, de Franceschi L, Lari F, Molinaro N, Zoli M, Bianchi FB: Coeliac disease hidden by cryptogenic hypertransaminasemia. *Lancet* 1998; 352: 26–29.
78. Corazza GR, Valentini RA, Frisoni M, Volta U, Corrao G, Bianchi FB et al: Gliadin immune reactivity is associated with overt and latent enteropathy in relatives of celiac patients. *Gastroenterology* 1992; 103: 1517–1522.
79. Volta U, Bellentani S, Bianchi FB, Brandi G, de Franceschi L, Miglioli L et al: High prevalence of celiac disease in Italian general population. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1500–1505.
80. Di Sabatino A, Corazza GR: Coeliac disease. *Lancet*. 2009; 373: 140–1493.
81. Arranz E, Bode J, Kingstone K, Ferguson A: Intestinal antibody pattern of coeliac disease: association with c/d T cell receptor expression by intraepithelial lymphocytes, and other indices of potential coeliac disease. *Gut* 1994; 35: 476–482.
82. Leffler DA, Dennis M, Hyett B, et al: Etiologies and predictors of diagnosis in nonresponsive celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 445–450.
83. Al-Toma A, Verbeek WH, Hadithi M, et al: Survival in refractory coeliac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma retrospective evaluation of single-centre experience. *Gut* 2007; 56: 1373–1378.
84. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, et al: Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 88–93.
85. Catassi C, Bearzi I, Holmes GK: Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology* 2005; 128: S79–S86.
86. Reunala T, Collin P: Diseases associated with dermatitis herpetiformis. *Br J Dermatol* 1997; 136: 315–318.
87. Sardy M, Karpatis S, Merkl B, Paulsson M: Epidermal transglutaminase (TGase 3) is the autoantigen of dermatitis herpetiformis. *J Exp Med* 2002; 195(6): 747–757.
88. Cronin CC, Shanahan F: Insulin-dependent diabetes mellitus and coeliac disease. *Lancet* 1997; 349: 1096–1097.

89. Counsell CE, Taha A, Ruddell WS: Coeliac disease and autoimmune thyroid disease. *Gut* 1994; 35: 844–846.
90. Volta U, de Franceschi L, Molinaro N, Cassani F, Muratori L, Lenzi M et al: Frequency and significance of anti-gliadin and anti-endomysial antibodies in autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 2190–2195.
91. Volta U, Rodrigo L, Granito L, Petrolini L, Muratori P, Muratori P et al: Celiac disease in autoimmune cholestatic liver disorders. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2609–2613.
92. Volta U, Bardazzi F, Zauli D, de Franceschi L, Tosti A, Molinaro N et al: Serological screening for coeliac disease in vitiligo and alopecia areata. *Br J Dermatol* 1997; 136:801–802.
93. O’Leary C, Walsh CH, Wieneke P, O’Regan P, Buckley B, O’Halloran DJ et al: Coeliac disease and autoimmune Addison’s disease: a clinical pitfall. *QJM* 2002; 95: 79–82.
94. Henriksson KG, Hallert C, Walan A: Gluten-sensitive polymyositis and enteropathy. *Lancet* 1976; 2: 317.
95. Teppo AM, Maury CP: Antibodies to gliadin, gluten and reticulin glycoprotein in rheumatic diseases: elevated levels in Sjogren’s disease. *Clin Exp Immunol* 1984; 57: 73–78.
96. O’Farrelly C, Marten M, Melcher D, McDougall B, Price R, Goldstein AJ et al: Association between villous atrophy in rheumatoid arthritis and a rheumatoid factor and gliadin-specific IgG. *Lancet* 1988; 2: 819–822.
97. Fornasieri A, Sinco RA, Maldifassi P, Bernasconi P, Vegni M, D’Amico G: IgA antigliadin antibodies in IgA mesangial nephropathy (Berger’s disease). *BMJ* 1987; 295: 78–80.
98. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza G: Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. *Gut* 1998; 42: 362–365.
99. Curione M, Barbato M, de Biase L, Viola F, Lo Russo L, Cardi E: Prevalence of coeliac disease in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1999; 354: 222–223.
100. Zauli D, Grassi A, Granito A, Foderaro S, de Franceschi L, Ballardini G et al: Prevalence of silent coeliac disease in atopsics. *Dig Dis Sci* 2000; 32: 775–779.
101. Kitis G, Holmes GK, Cooper BT, Thompson H, Allan RN: Association of coeliac disease and inflammatory bowel disease. *Gut* 1980; 21: 636–641.
102. Gale L, Wimalaratna H, Brotodiharjo A, Duggan JM: Down’s syndrome is strongly associated with coeliac disease. *Gut* 1997; 40: 492–496.
103. Bonamico M: Celiac disease and Turner syndrome. *J Pediatr Gastroenterol* 1999; 29:107–108.
104. Martucci S, Biagi F, Di Sabatino A, Corazza GR: Coeliac disease. *Dig Liver Dis.* 2002 Sep; 34 Suppl 2:S150-3.
105. Ράπτης Σ: Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου Ι, Εσωτερική Παθολογία, 2034-38. Εκδόσεις Παρισιάνος Copyright 2006.
106. Ide A, Eisenbarth GS: Genetic susceptibility in type 1 diabetes and its associated autoimmune disorders. *Rev Endocr Metab Disord.* 2003;4(3):243–253.

107. Bao F, Yu L, Babu S, Wang T, Hoffenberg EJ, Rewers M, Eisenbarth GS: One third of HLA DQ2 homozygous patients with type 1 diabetes express celiac disease associated transglutaminase autoantibodies. *J Autoimmun.* 1999;13:143–148.
108. Barker JM. et al. Clinical review: type 1 diabetes - associated autoimmunity: natural history, genetic associations and screening. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(0021-972X):1210–1217.
109. Greco D, Pisciotta M, Gambina F, Maggio F: Celiac disease in subjects with type 1 diabetes mellitus: a prevalence study in western Sicily (Italy). *Endocrine* 2012 Jun 16.
110. Farid H. Mahmud MD: Celiac Disease in Type 1 Diabetes Mellitus in a North American Community: Prevalence, Serologic Screening, and Clinical Features *Mayo Clin Proc.* 2005 November; 80(11): 1429–1434.
111. Rensch MJ, Merenich JA, Lieberman M, Long BD, Davis DR, McNally PR: Gluten-sensitive enteropathy in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Intern Med.* 1996 Mar 15;124(6):564-7
112. Goh C, Banerjee K: Prevalence of celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus in a clinic based population. *Postgrad Med J.* 2007; 83:132–136.
113. Karavanaki K, Kakleas K, Paschali E, Kefalas N, Konstantopoulos I, Petrou V, Kanariou M, Karayanni C: Screening for associated autoimmunity in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM) *Horm Res.* 2009;71:201–206.
114. Djuric Z, Stamenkovic H, Stankovic T, Milecevic R, Brankovic L, Ciric V, Katic V: Celiac disease prevalence in children and adolescents with type 1 diabetes from Serbia. *Pediatr Int.* 2010; 52:579–583.
115. Gabriel S, Mihaela I, Angela B, Mariana A, Doru D: Prevalence of IgA antitissue transglutaminase antibodies in children with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Lab Anal.* 2011; 25(3):156–161.
116. Cerutti F, Bruno G, Chiarelli F, Lorini R, Meschi F, Sacchetti C: Diabetes study group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetology. Younger age at onset and sex predict celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes: an Italian multicenter study. *Diabetes Care.* 2004; 27(6):1294–1298.
117. Valerio G, Maiuri L, Troncone R, Buono P, Lombardi F, Palmieri R, Franzese A: Severe clinical onset of diabetes and increased prevalence of other autoimmune diseases in children with coeliac disease diagnosed before diabetes mellitus. *Diabetologia* 2002.
118. Collin P, Kaukinen K, Välimäki M, Salmi J: Endocrinological disorders and celiac disease. *Endocr Rev.* 2002 Aug; 23(4):464-83.
119. Cunningham-Rundles C. Physiology of IgA and IgA deficiency. *J Clin Immunol* 2001;21:303–9.
120. Koistinen J. Selective IgA deficiency in blood donors. *Vox Sang* 1975; 29:192–202.
121. Vorechovsky I, Cullen M, Carrington M, et al: Fine mapping of IGAD1 in IgA deficiency and common variable immunodeficiency: identification and

- characterization of haplotypes shared by affected members of 101 multiplecase families. *J Immunol* 2000; 164:4408–16.
122. Collin P, Mäki M, Keyrilainen O, et al: Selective IgA deficiency and coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1992;27:367–71.
 123. Heneghan MA, Stevens FM, Cryan EM, et al: Celiac sprue and immunodeficiency states: a 25-year review. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25:421–5.
 124. Cataldo F, Lio D, Marino V, et al: IgG (1) antiendomysium and IgG anti tissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. *Gut* 2000;47:366–9.
 125. Catassi C, Fanciulli G, D’Appello AR, et al: Antiendomysium versus antigliadin antibodies in screening the general population for coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35:732–6.
 126. Berti I, Trevisiol C, Tommasini A, et al: Usefulness of screening program for celiac disease in autoimmune thyroiditis. *Dig Dis Sci* 2000; 45:403–406.
 127. Mainardi E, Montanelli A, Dotti M, et al: Thyroid-related autoantibodies and celiac disease: a role for a gluten-free diet? *J Clin Gastroenterol* 2002; 35:245–248.
 128. Weetman AP, McGregor AM: Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocr Rev* 1994; 15:788-830.
 129. Tjon JM, van Bergen J, Koning F: Coeliac Disease: How complicated can it get? *Immunogenetics*. 2010;62:641–645)
 130. Rallabhandi P: Gluten and celiac disease - An Immunological Perspective *Journal of AOAC International* Vol 95 No 2, 2012.
 131. Qiao SW, Bergseng E, Molberg O, Jung G, Fleckenstein B, Sollid LM: Refining the rules of gliadin T cell epitope binding to the disease-associated DQ2 molecule in coeliac disease: Importance of proline spacing and glutamine deamidation. *J Immunol* 2005; 175:254-61.
 132. Fasano A: Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*. 2011; 91:151–175.
 133. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, et al: Gliadin, zonulin and gut permeability: effects on celiac and non-celiac intestinalmucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol*. 2006; 41:408–419.
 134. Schumann M, Richter JF, Wedell I, et al: Mechanisms of epithelial translocation of the alpha (2) - gliadin-33mer in coeliac sprue. *Gut*. 2008; 57:747–754.
 135. Matysiak-Budnik T, Moura IC, Arcos-Fajardo M, et al: Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in CD. *J ExpMed*. 2008;205:143–154.
 136. Molberg O, McAdam SN, Korner R, et al: Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *NatMed*. 1998;4:713–717.
 137. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, et al: Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with CD. *Gastroenterology*. 1998; 115:551–563.

138. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. CD: From pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology* 2009; 137:1912–1933.
139. Di Sabatino A, Corazza GR: Coeliac disease. *Lancet*. 2009;373:1480–1493.
140. Meresse B, Curran SA, Ciszewski C, et al: Reprogramming of CTLs into natural killer-like cells in CD. *J Exp Med*. 2006; 203:1343–1355.
141. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, et al: Coordinated induction by IL15 of a TCR – independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in CD. *Immunity*. 2004; 21:357–366.
142. Jabri B, Sollid LM: Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9:858–870.
143. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, et al: Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet*. 2003; 362:30–37.
144. Londei M, Ciacci C, Ricciardelli I, et al: Gliadin as a stimulator of innate responses in celiac disease. *Mol Immunol*. 2005; 42:913–918.
145. Kakar S, Nehra V, Murray JA et al: 2003 Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosal architecture *Am J Gastroenterol* 98:2027-2033.
146. Veress B, Franzen L, Bodin L, Borsh K: Duodenal intraepithelial lymphocyte count revisited *Scand J Gastroenterol* 2004 39:139-144.
147. Marsh MN: Grains of truth: evolutionary changes in small intestinal mucosa in response to environmental antigen challenge *Review Gut* 1990; 31:111-114.
148. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H: The histopathology of celiac disease time for a standardized report scheme for pathologists *Review European J Gastroenterology hepatology* 1999; 11(10):1185-1194.
149. Corazza Gr – Villanacci V: Coeliac disease *J Clin Pathol* 2005; 58 :573-574.
150. Corazza Gr – Villanacci V: comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007 ;5: 838-843.
151. Verbeek WH, Goerres MS, von Blomberg BM, et al: Flow cytometric determination of aberrant intra-epithelial lymphocytes predicts T-cell lymphoma development more accurately than T-cell clonality analysis in refractory celiac disease. *Clin Immunol* 2008; 126:48–56.
152. Brown I, Mino-Kenudson M, Deshpande V, Lauwers GY: Intraepithelial lymphocytosis I architecturally preserved proximal small intestinal mucosa ; an increasing diagnostic problem with a wide differential diagnosis *Arch Pathol Lab Med* 2006 ;130 : 1020 -1025.
153. Seah PP, Fry L, Hoffbrand AV, Holborow EJ: Tissue autoantibodies in dermatitis herpetiformis and adult celiac disease. *Lancet* 1971; 1:834-6.
154. Unsworth DJ: Serological diagnosis of gluten sensitive enteropathy. *J Clin Pathol* 1996; 49 (9):704-11.
155. Maki M, Collin P: Coeliac disease (seminars) *Lancet* 1997;349:1755-9.
156. Mallas EG, Williamson N, Cooper BT, Cooke WT: IgA class reticulin antibodies in relatives of patients with coeliac disease. *Gut*. 1977 Aug; 18(8): 647-650

157. Lock RJ, Gilmour JE, Unsworth DJ: Anti-tissue transglutaminase, anti-endomysium and anti- R1-reticulin autoantibodies-the antibody trinity of celiac disease. *Clin Exp Immunol* 1999; 116:258-262.
158. Berger R, Schmidt G: Evaluation of six antigliadin antibody assays. *J Immunol Methods* 1996; 191:77-86.
159. Arentz-Ansen H, Mc Adam SN, Molberg O et al: Celiac lesion T cell recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline residues. *Gastroenterology* 2002;123:803-809.
160. Schwartz E, Kahlenberg F, Sack U et al: Serologic assay based on gliadin related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. *Clin Chem* 2004; 50:2370-2375.
161. Sugai E, Vázquez H, Nachman F, et al: Accuracy of testing for antibodies to synthetic deamidated gliadin peptides in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1112–7.
162. Chorzelsky TP, Sulej J, Tchorzewska H et al: IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and celiac disease. *Ann N Y Acad Sci* 1983; 420:325-334.
163. Τσιρογιάννη Α: Ανοσολογική Διερεύνηση οργανοειδικών Αυτοάνοσων νοσημάτων, Σεμινάριο Ανοσολογίας (16^{ος} κύκλος) Απρίλιος 1998, Αθήνα
164. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M et al: Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease *Nat Med* 1997 Jul; 3(7): 797-801.
165. Caputo I, Damato A, Troncone R, Auricchio S, Esposito C: Transglutaminase 2 in celiac disease: Minireview article. *Amino acids*. 2004; 26:381-6.
166. Sblattero D, Florian F, Azzoni E et al: The analysis of the fine specificity of celiac disease antibodies using tissue transglutaminase fragments. *Eur J Biochem* 2002; 269:5175-5181.
167. Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N et al: (The role of antitissue transglutaminase assay for the diagnosis and monitoring of celiac disease: a French-Italian multicentre study. *J Clin Pathol* 2003; 56:389-393.
168. Rostom A, Dube C, Cranney A, et al: The diagnostic accuracy of serological tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128:S38-S46.
169. Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, et al: Self transglutaminase-based rapid celiac disease antibody detection by a lateral flow method. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 147–54.
170. Raivio T, Korponay-Szabo I, Collin P, et al: Performance of a new rapid whole blood celiac test in adults patients with low prevalence of endomysial antibodies. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 1057–63.
171. Hoffbrand AV: Anaemia in adult coeliac disease. *Clin Gastroenterol.* 1974; 3:71–89. Unsworth DJ, Lock FJ, Harvey RF. Iron-deficiency anaemia in premenopausal women. *Lancet.* 1999;353:1100.
172. Bottaro G, Cataldo F, Rotolo N, Spina M, Corazza GR: The clinical pattern of subclinical/silent celiac disease: an analysis on 1026 consecutive cases. *Am J Gastroenterol.* 1999; 94:691–696.
173. Lo W, Sano K, Lebwohl B, Diamond B, Green PH: Changing presentation of adult celiac disease. *Dig Dis Sci.* 2003; 48:395–398.

174. Fine KD. The prevalence of occult gastrointestinal bleeding in celiac sprue. *N Engl J Med.* 1996; 334:1163–1167.
175. Mant MJ, Bain VG, Maguire CG, Murland K, Yacyshyn BR: Prevalence of occult gastrointestinal bleeding in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4:451–454.
176. Gawkrödger DJ, Ferguson A, Barnetson RS: Nutritional status in patients with dermatitis herpetiformis. *Am J Clin Nutr.* 1988;48:355–360.
177. Garrido C, Gaya J, Liompart A, et al : Prevalence of monosymptomatic celiac disease in patients with iron deficiency anemia. *Gastroenterol Hepatol.* 1997; 20:172–174.
178. Carroccio A, Iannitto E, Cavataio F, et al : Sideropenic anemia and celiac disease: one study, two points of view. *Dig Dis Sci.* 1998; 43:673–678.
179. Annibale B, Severi C, Chistolini A, et al: Efficacy of gluten-free diet alone on recovery from iron-deficiency anemia in adult celiac patients. *Am J Gastroenterol* 2001;96:132-7.
180. Howard MR, Turnbull AJ, Morley P, Hollier P, Webb R, Clarke A: A prospective study of the prevalence of undiagnosed coeliac disease in laboratory defined iron and folate deficiency. *J Clin Pathol.* 2002;55:754–757.
181. Dahele A, Ghosh S: Vitamin B12 deficiency in untreated celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2001; 96:745–750.
182. Dickey W: Low serum vitamin B12 is common in coeliac disease and is not due to autoimmune gastritis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002; 14:425–427.
183. Gillberg R, Kastrup W, Mobacken H, Stockbrugger R, Ahren C: Gastric morphology and function in dermatitis herpetiformis and in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 1985; 20:133–140.
184. Dickey W, Hughes DF: Histology of the terminal ileum in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2004; 39:665–667.
185. Ward PC: Modern approaches to the investigation of vitamin B12 deficiency. *Clin Lab Med.* 2002; 22:435–445.
186. Hershko C. Patz J. Ironing out the mechanism of anemia in celiac disease *Haematologica* 2008;93(12):1761-5
187. Weiss G, Goodnough LT: Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005; 352(10):1011-23.
188. Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PH. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology *Am J Hematol.* 2007 Nov; 82(11):996-1000.
189. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cupelli F, Cinque B, Millimaggi D, Clarkson MM, et al: Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1-cytokine production, cytotoxicity and survival in coeliac disease. *Gut* 2006; 55:469-77.
190. Ludwiczek S, Aigner E, Theurl I, Weiss G: Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood* 2003; 101:4148-54.
191. Novacek G, Miehsler W, Wrba F et al: Prevalence and clinical importance of hypertransaminasaemia in coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11(3):283-8.

192. Corazza G, Di Stefano M, Mauriño E, Bai J: Bones in coeliac disease: diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 453–65.
193. American Gastroenterological Association medical position statement: "Celiac Sprue". *Gastroenterology* 120 (6): 1522–5. 2001.
194. Lewis NR, Scott BB: Guidelines for osteoporosis in inflammatory bowel disease and coeliac disease. *BSG* 2007.
195. Dickey W, Ward M, Whittle C et al: Homocysteine and related B-vitamin status in coeliac disease: effects of gluten exclusion and histological recovery. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43 (6) 682–688.
196. West J, Logan RFA, Card TR et al: Risk of vascular disease in adults with diagnosed coeliac disease: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 2004 Jul 1; 20 (1) 73–79.
197. O'Grady JG, Stevens FM, Harding B et al: Hyposplenism and gluten-sensitive enteropathy. Natural history, incidence, and relationship to diet and small bowel morphology. *Gastroenterology* 1984;87(6):1326-31
198. S.Rshtak, J.A.Murray Review article: celiac disease, new approaches to therapy *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35:768-781.
199. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, et al: Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2009; 137:88–93.
200. Al-toma A, Visser OJ, van Roessel HM, et al: Autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory celiac disease with aberrant T cells. *Blood* 2007; 109:2243–2249.
201. Catassi C, Bearzi I, Holmes GK: Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology* 2005; 128:S79–S86.
202. Hopper A, Hadjivassiliou M, Butt S, Sanders D: Adult coeliac disease *BMJ*. 2007 September 15; 335(7619): 558–562.
203. Sanders DS, Hurlstone DP, Stokes RO, Rashid F, Milford-Ward A, Hadjivassiliou M, et al: Changing face of adult coeliac disease: experience of a single university hospital in south Yorkshire. *Postgrad Med J* 2002;78(915):31-3.
204. Haines ML, Anderson RP, Gibson PR: Systematic Review: The evidence base for long term management of celiac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28:1042-1066.
205. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF: American Gastroenterological Association Institute Technical Review on the diagnosis and management of Celiac disease. *Gastroenterology* 2006;131:1981-2002.
206. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, Elisei W, Inchingolo CD, Monardo E, et al: Endoscopic and histological findings in the duodenum of adults with celiac disease before and after changing to a gluten-free diet: a 2 year prospective study. *Endoscopy* 2006; 38:702-707.
207. Ciacci C, Cirillo M, cavallaro R, Mazzacca G: Long term follow up of celiac adults on gluten free diet: prevalence and correlates of intestinal damage. *Digestion* 2002; 66:178-185.
208. Green PHR, Rostami K, Marsh MN: Diagnosis of celiac disease. *Best Practice and research* 2005; 19:389-400.

209. Sugai E, Moreno ML, Hwang HJ, Cabanne A, Crivelli A, Nachman F et al: Celiac disease serology in patients with different pretest probabilities: is biopsy available? *World J Gastroenterol* 2010; 16:3144-3152.
210. Bardella MT, Trovato C, Cesana BM, Pagliari C, Gebbia C, Peracchi M: Serological markers for coeliac disease: is it time to change? *Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. Dig Liver Dis* 2001; 33:426-431.
211. Bode S, Gudmand-Hoyer E: Evaluation of the gliadin antibody test for diagnosing coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29:148-152.
212. Lock RJ, Pitcher MCL, Unsworth DJ: IgA anti-tissue transglutaminase as a diagnostic marker for gluten sensitive enteropathy. *J Clin Pathol* 1999; 52: 274-7.
213. Maki M, Holm K, Lipsanen V, Hallstrom O, Viander M, Collin P, Savilahti E, Koskimies S: Serological markers and HLA genes among healthy first-degree relatives of patients with coeliac disease. *Lancet* 1991; 338:1350-1353.
214. Sategna-Guidetti C, Grosso S, Bruno M, Grosso SB: Comparison of serum anti-gliadin, anti-endomysium, and anti-jejenum antibodies in adult celiac sprue. *J Clin Gastroenterol* 1995; 20:17-21.
215. Vogelsang H, Genser D, Wyatt J, Lochs H, Ferenci P, Granditsch G, Penner E: Screening for celiac disease: a prospective study on the value of noninvasive tests. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:394-398.
216. Carroccio A, Vitale G, Di Prima L, et al: Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: a prospective study. *Clin Chem* 2002; 48: 1546-50.
217. Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L, et al: Identification of a new coeliac disease subgroup: anti-endomysial and anti-transglutaminase antibodies of IgG class in the absence of selective IgA deficiency. *J Intern Med* 2001; 249:181-8.
218. Biagi F, Pezzimenti D, Campanella J, et al: Endomysial and tissue transglutaminase antibodies in coeliac sera: a comparison not influenced by previous serological testing. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 955-8.
219. Dahele AVM, Aldhous MC, Humphreys K, et al: Serum IgA tissue transglutaminase antibodies in coeliac disease and other gastrointestinal diseases. *Q J Med* 2001; 94: 195-205.
220. Sardy M, Odenthal U, Karpati S, Paulsson M, Smyth N: Recombinant human tissue transglutaminase ELISA for the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. *Clin Chem* 1999; 45:2142-9.
221. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, Marzari R, Tommasini A, Bradbury A, et al: Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:1253-7.
222. Leon F, Camarero C, R-Pena R, Eiras P, Sanchez L, Baragano M, et al: Anti-transglutaminase IgA ELISA: clinical potential and drawbacks in celiac disease diagnosis. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36:849-53.
223. Vecchi M, Folli C, Donato MF et al: High rate of positive anti-tissue transglutaminase antibodies in chronic liver disease. Role of liver decompensation and of the antigen source. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38(1), 50-54.

224. Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L et al: Anti tissue transglutaminase antibodies in arthritic patients: a disease-specific finding? *Clin Chem* 2003 Dec; 49(12), 2091-4.
225. Peracchi M, Trovato C, Longhi M et al: Tissue transglutaminase antibodies in patients with end-stage heart failure. *Am J Gastroenterol* 2002; 97(11), 2850–2854.
226. Lewis NR, Scott BB: Systematic review: the use of serology to exclude or diagnosed coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 24:47–54.
227. Tsirogianni A, Trigoni E, Kakkas I, Nikolopoulou M, Krikou L, Mantzaris G, Papasteriades Chr: Specificity, sencitivity and predictive value of specific autoantibodies in coeliac disease. *EFIS 2000, MONDUZZI EDITORE*, p. 127-132; 2001
228. Mantzaris G, Tsirogianni A, Perivolioti E, Archavlis E, Amberiadis P, Koumentakis N, Papasteriadi Chr, Avgerinos A, Triantafyllou G, Economidou I: Sensitivity and specifity of serum IgA class endomysial antibody in the diagnosis of coeliac disease. *Hellenic Journal of Gastroenterology* 1995, 8(4):308-311.
229. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ: Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated coeliac disease: disappointing in clinicalpractice. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:888–894.
230. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM: Prevalence of antitissuetransglutaminase antibodies in different degrees of intestinaldamage in coeliac disease. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36:219–221.
231. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM: Sorbitol H₂-breath test versus anti-endomysium antibodies for the diagnosis of subclinical/ silent coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36:1170–1172.
232. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo IR et al: Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits *Gut* 2006; 55(12):1746–1753.
233. Dickey W, Hughes DF, McMillan SA: Reliance on serum endomysial antibody testing underestimates the true prevalence of coeliac disease by one fifth *Scand J Gastroenterol* 2000 Feb;35(2):181-3.
234. Midhagen G, Aberg AK, Olcén P, Järnerot G, Valdimarsson T, Dahlbom I, Hansson T, Ström M: Antibody levels in adult patients with coeliac disease during gluten-free diet: a rapid initial decrease of clinical importance. *J Intern Med.* 2004 Dec; 256(6):519-24.
235. Boger CP, Thomas PW, Nicholas DS, Surgenor SL, Snook JA: Determinants of endomysial antibody status in untreated coeliac disease *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007 Oct; 19(10):890-5.
236. Cranney A, Rostom A, Sy R, et al: Consequences of testing for coeliac disease. *Gastroenterology.* 2005; 128:S109–S120.
237. Kaukinen K, Mäki M, Partanen J, et al: Celiac disease without villous atrophy. Revision of criteria called for. *Dig Dis Sci* 2001; 46:879–87.

238. Kurppa K, Räsänen T, Collin P et al: Endomysial antibodies predict celiac disease irrespective of the titers or clinical presentation *World J Gastroenterol* 2012 May 28; 18(20): 2511-2516.
239. Hogberg L, Grodzinsky E, Stenhammar L: Better dietary compliance in patients with coeliac disease diagnosed in early childhood. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 751–4.
240. Kaukinen K, Sulkanen S, Mäki M, Collin P: IgA-class transglutaminase antibodies in evaluating the efficacy of gluten-free diet in coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002 Mar; 14(3):311-5.
241. Vahedi K, Mascart F, Mary JY, Laberenne JE, Bouhnik Y, Morin MC, Ocmant A, Velly C, Colombel JF, Matuchansky C: Reliability of antitransglutaminase antibodies as predictors of gluten-free diet compliance in adult celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2003 May; 98(5):1079-87.
242. Leffler DA, Edwards George JB, Dennis M, Cook EF, Schuppan D, Kelly CP: A prospective comparative study of five measures of glutenfree diet adherence in adults with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Nov 1; 26(9):1227-35.
243. Martini S, Mengozzi G, Aimo G, Giorda L, Pagni R, Guidetti CS: Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease diagnosis and follow-up. *Clin Chem.* 2002 Jun; 48(6 Pt 1):960-3.
244. Bürgin-Wolff A, Dahlbom I, Hadziselimovic F, Petersson CJ: Antibodies against human tissue transglutaminase and endomysium in diagnosing and monitoring coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2002 Jun; 37(6):685-91.
245. Fabiani E, Catassi C: The serum IgA class anti-tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis and follow up of coeliac disease. Results of an international multi-centre study. International Working Group on EutTG. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Jun; 13(6):659-65.
246. Sugai E, Nachman F, Vaquez H et al : Dynamics of celiac disease-specific serology after initiation of a gluten-free diet and use in the assessment of compliance with treatment. *Dig Liver Dis* 2010 May; 42(5):352-8
247. Dipper CR, Maitra S, Thomas R, Lamb CA, McLean-Tooke AP, Ward R, Smith D, Spickett G, Mansfield JC: Anti-tissue transglutaminase antibodies in the follow-up of adult coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009 Aug; 30(3):236-44.
248. Nachman F, Sugai E, Vázquez H, González A, Andrenacci P, Niveloni S, Mazure R, Smecuol E, Moreno ML, Hwang HJ, Sánchez MI, Mauriño E, Bai JC: Serological tests for celiac disease as indicators of long-term compliance with the gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Jun; 23(6):473-80.
249. Hogberg L, Falth-Magnusson K, Grodzinsky E, Stenhammar L: Familial prevalence of celiac disease: a twenty-year follow-up study. *Scand J Gastroenterol.* 2003; 38:61-5.
250. Hall NJ, Rubin G, Charnock A: Systematic Review adherence to a gluten free diet in adult patients with celiac disease. *Alim Pharm Ther* 2009; 30:315-330.
251. Dahele A, Kingstone K, Bode J, et al. Anti-endomysial antibody negative celiac disease: does additional serological testing help? *Dig Dis Sci* 2001; 46:214–21.

252. Hopper AD, Cross SS, Hurlstone DP, McAlindon ME, Lobo AJ, Hadjivassiliou M, Sloan ME, Dixon S, Sanders DS: Preendoscopy serological testing for coeliac disease: evaluation of a clinical decision tool. *BMJ* 2007; 334: 729.
253. Villalta D, Crovatto M, Stella S, Tonutti E, Tozzoli R, Bizzaro N: False positive reactions for IgA and IgG anti-tissue transglutaminase antibodies in liver cirrhosis are common and method-dependent. *Clin Chim Acta* 2005; 356: 102-109.
254. Germeris AE, Yiannaki EE, Zachou K, et al: Prevalence and clinical significance of immunoglobulin A antibodies against tissue transglutaminase in patients with diverse chronic liver diseases. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005; 12:941–948.
255. Vitoria JC, Arrieta A, Astigarraga I, Garcia-Masdevall D, Rodriguez-Soriano J: Use of serological markers as a screening test in family members of patients with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 19:304–309.
256. Almeida PL, Gandolfi L, Modelli IC, Martins Rde C, Almeida RC, Pratesi R: Prevalence of celiac disease among first degree relatives of Brazilian celiac patients. *Arq Gastroenterol.* 2008 Jan-Mar; 45(1):69-72.
257. Grover R, Puri AS, Aggarwal N, Sakhuja P: Familial prevalence among first-degree relatives of celiac disease in North India. *Dig Liver Dis.* 2007 Oct; 39(10):903-7.
258. Gudjonsdottir AH, Nilsson S, Ek J, Kristiansson B, Ascher H: The risk of celiac disease in 107 families with at least two affected siblings. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38:338–342.
259. Mustalahti K, Sulkanen S, Holopainen P, Laurila K, Collin P, Partanen J, Maki M: Coeliac disease among healthy members of multiple case coeliac disease families. *Scand J Gastroenterol.* 2002; 37:161-5.
260. Book L, Zane JJ, Neuhausen SL: Prevalence of celiac disease among relatives of sib pairs with celiac disease in U.S. families. *Am J Gastroenterol.* 2003; 98:377-81.
261. Corazza GR, Valentini RA, Andreani ML et al: Subclinical coeliac disease is a frequent cause of iron-deficiency anaemia. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30(2):153-6.
262. Unsworth DJ, Lock FJ, Harvey RF: Iron-deficiency anaemia in premenopausal women. *Lancet* 1999; 353:1100.
263. Kolho KL, Farkkila MA, Savilahti E: Undiagnosed coeliac disease is common in Finnish adults. *Scand J Gastroenterol.* 1998; 33:1280–1283.
264. Hin H, Bird G, Fisher P, Mahy N, Jewell D: Coeliac disease in primary care: case finding study. *BMJ.* 1999; 318:164–167.
265. Hallert C, Grant C, Grehn S, et al: Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:1333-9.
266. Stanzi A, Trinti B. Risk of osteoporosis in endocrine disorders and celiac disease. *Ann Ist Super Sanita.* 2007; 43(4)430-433.
267. Tilg H, Moschen AR, Kaser A et al.: Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts. *Gut.* 2008; 57:684-694.

268. Mulder C, Cardile A, and Dickert J: Celiac Disease Presenting as Severe Osteopenia. Hawaii Medical Journal, November 2011, Vol 70, No11.
269. Silvester JA, Rashid M: Long-term follow-up of individuals with celiac disease: An evaluation of current practice guidelines. Can J Gastroenterol 2007; 21(9):557-564.
270. Volta U, Molinaro N, Fusconi M, et al: IgA antiendomysial antibody test: A stepforward in celiac disease screening. Dig Dis Sci 1991; 36:752–6.