

Ocena częstości występowania celiakii u dzieci z alergią na gluten

Assessment of the incidence of celiac disease in children with gluten allergy

dr n. med. Maria Gołębiowska-Wawrzyniak¹, dr n. med. Grażyna Rowicka²,
dr n. med. Katarzyna Markiewicz¹

1. Zakład Immunologii Klinicznej, Instytut Matki i Dziecka w Warszawie
2. Zakład Żywienia, Instytut Matki i Dziecka w Warszawie

Streszczenie: Za objawy kliniczne obserwowane po spożyciu produktów zawierających gluten odpowiedzialna może być między innymi nadwrażliwość I lub IV typu wg klasyfikacji Gella i Coombsa. Mechanizmy leżące u podłoża tych reakcji są IgE-zależne i IgE-niezależne. Do nadwrażliwości na gluten przebiegającej zgodnie z mechanizmem IgE-niezależnym zaliczana jest także celiakia. Manifestacja kliniczna choroby trzewnej i manifestacja kliniczna alergii na gluten często są zbieżne. Prawidłowe rozpoznanie tych chorób jest szczególnie istotne z uwagi na odmienne długofalowe postępowanie terapeutyczne.

Cel pracy: Ocena częstości występowania celiakii u dzieci z alergią na gluten.

Materiał i metody: Badaniami objęto 50 dzieci z Poradni Immunologicznej oraz Gastroenterologicznej IMiD. Były to dzieci z bólami brzucha, przewlekłą biegunką, nawracającymi zapaleniami dróg oddechowych i uszu oraz zmianami skórными, u których na podstawie testu transformacji blastycznej limfocytów krwi obwodowej (TTBL) oraz obecności w surowicy alergenowo swoistych przeciwciał IgE dla glutenu (f79) rozpoznano alergię na gluten. U wszystkich dzieci oznaczono stężenie immunoglobulin klas: A, G i M, oraz przeciwciał przeciwko transglutaminazie tkankowej (tTGA) w klasie IgG i IgA.

Wyniki: U wszystkich badanych dzieci uczulenie na gluten przebiegało zgodnie z IV typem reakcji nadwrażliwości. U 3 dzieci dodatkowo stwierdzono obecność alergenowo swoistych przeciwciał klasy IgE dla glutenu (f79 – I typ reakcji nadwrażliwości). Przeciwciała przeciwko tTGA zarówno w klasie IgA, jak i IgG wykryto u 2 dzieci, u których stężenie zarówno Ig A, jak i IgG w surowicy mieściło się w zakresie norm dla wieku. U dzieci tych uzyskano histologiczne potwierdzenie celiakii.

Wnioski: 1. Przeważający udział IV typu reakcji nadwrażliwości u dzieci w odpowiedzi na antygen glutenu powinien być wskazaniem do upowszechnienia diagnostyki w tym kierunku. 2. U dzieci z potwierdzoną alergią na gluten wskazane jest wykonywanie badań w kierunku celiakii.

Abstract: The type I or IV of hypersensitivity reactions according to Gell and Coombs classification may be responsible for clinical symptoms observed after ingestion of gluten - containing products. The mechanisms of these reactions are both IgE-dependent or IgE-independent. Celiac disease based on IgE-independent mechanism is classified as gluten hypersensitivity. Clinical manifestation of celiac disease and gluten allergy is often similar. Correct diagnosis of this diseases is particularly important due to the different long-term therapeutic procedures.

Aim: Assessment of the incidence of celiac disease in children with gluten allergy.

Material and methods: The study involved 50 children with abdominal pain, chronic diarrhea, recurrent respiratory and ears inflammation and skin lesions - the patients of Immunological and Gastroenterology Outpatient Clinic of Institute of Mother and Child. The allergy to gluten was confirmed on the basis of positive peripheral blood lymphocytes blast transformation test and detection of allergen-specific IgE antibodies to gluten (f79). In all children plasma concentration of immunoglobulin classes A, G M and IgA or IgG antibodies against tissue transglutaminase (tTGA) were measured.

Results: In children on the study group the type IV of hypersensitivity reaction to gluten was diagnosed. In 3 children specific IgE antibodies to gluten was also confirmed (f79 - I type hypersensitivity). Anti-tissue transglutaminase antibodies both IgA and IgG were detected in 2 children in whom the concentration of IgA and IgG in serum remained within normal range for age. In these children celiac disease was confirmed by jejunal biopsy.

Conclusions: 1. The predominant frequency of type IV of hypersensitivity reactions in children in response to the gluten antigen should be taken into account in diagnosis of food allergy. 2. In children diagnosed with gluten allergy the test for celiac disease should be performed.

Słowa kluczowe: celiakia, alergia na gluten, dzieci

Key words: celiac disease, gluten allergy, children

Od kilkunastu lat obserwowany jest stały wzrost częstości występowania chorób alergicznych. U ponad 30% populacji obserwowane są objawy kliniczne uczuleń i w coraz większym stopniu dotyczy to dzieci. W najmłodszej grupie wiekowej kluczową rolę odgrywają alergeny pokarmowe, a wśród nich białka mleka krowiego i gluten. Za objawy kliniczne obserwowane po spożyciu produktów zawierających gluten może być odpowiedzialna nadwrażliwość, u podłoża której leżą mechanizmy IgE-zależne i IgE-niezależne. Najczęściej są to reakcje I lub IV typu wg klasyfikacji Gella i Coombsa. Do nadwrażliwości na gluten przebiegających zgodnie z mechanizmem IgE-niezależnym zaliczana jest między innymi gluteno-zależna choroba trzewna.

Manifestacja kliniczna alergii na gluten i manifestacja kliniczna celiakii mogą być zbieżne. Prawidłowe rozpoznanie tych chorób jest szczególnie istotne z uwagi na odmienne długofalowe postępowanie terapeutyczne. Przy rozpoznaniu alergii na gluten czas stosowania diety bezglutenowej wynosi zwykle około jednego roku, potem możliwe jest przeprowadzenie próby prowokacyjnej. Rozpoznanie celiakii wiąże się z koniecznością stosowania diety bezglutenowej nawet przez całe życie. Obie choroby stanowią duże wyzwanie diagnostyczne z uwagi na możliwość długotrwałego subklinicznego przebiegu.

Cel pracy

Celem pracy była ocena częstości występowania gluteno-zależnej choroby trzewnej u dzieci z alergią na gluten.

Materiał i metody

Badaniami objęto 50 dzieci skierowanych do Poradni Immunologicznej oraz Gastroenterologicznej IMiD z powodu: bólów brzucha, przewlekłej biegunki, nawracających zapaleń dróg oddechowych i uszu oraz zmian skórnych. Dzieci zostały zakwalifikowane do badań na podstawie kryteriów włączenia i wyłączenia.

Kryteriami włączenia były: wiek 1.–17. r.ż., obecność objawów klinicznych choroby alergicznej, obecność alergenowo swoistych przeciwciał klasy IgE dla glutenu i/lub podwyższony wynik badania transformacji blastycznej limfocytów z antygenem glutenu (mąki), dieta z udziałem produktów zawierających gluten. Kryteria wyłączenia z badań: wiek poniżej 1. r.ż. i powyżej 17. r.ż., negatywne wyniki badań w kierunku uczulenia na gluten, leczenie dietą bezglutenową oraz obecność schorzeń wymagających leczenia immunomodulacyjnego lub immunosupresyjnego. U wszystkich dzieci zakwalifikowanych do badań oznaczono stężenie immunoglobulin klas: A, G i M, oraz przeciwciał przeciwko transglutaminazie tkankowej w klasie IgG i IgA.

W celu oceny uczulenia na białka glutenu, zachodzącego zgodnie z IV typem reakcji nadwrażliwości, przeprowadzono test transformacji blastycznej limfocytów krwi obwodowej (TTBL). Zasada testu polegała na założeniu 3 hodowli limfocytów uzyskanych z krwi obwodowej pacjenta w podłożu RPMI-1640 z gentamycyną, wzbogaconym glutaminą. Były to: hodowla limfocytów stymulowana antygenem sprawczym (gluten) – czas inkubacji 6 dni, hodowla limfocytów stymulowana fitohemaglutyniną (PHA) jako kontrola reaktywności limfocytów – czas inkubacji 3 dni, oraz hodowla limfocytów bez żadnego stymulatora (hodowla kontrolna zwana autotransformacją) – czas inkubacji 6 dni. Hodowle prowadzone były w temp. 37°C, przy wilgotności 100%, w atmosferze CO₂. Po upływie określonego czasu hodowle były kończone i wykonywano z nich preparaty mikroskopowe barwione metodą Pappenheima. Analizę obrazu mikroskopowego wykonano w odniesieniu do hodowli nestymulowanej (autotransformacji) dającej informację o pobudzeniu nieswoistym. Oceniono odsetek powstałych komórek blastycznych przypadających na 1000 limfocytów. Wynik podano jako wartość procentową lub indeks transformacji (IS).

Oznaczanie alergenowo swoistego przeciwciała IgE dla glutenu (f79) wykonywano metodą fluoroen-

zymatyczną (FEIA będącą odmianą techniki ELISA), wykorzystując system ImmunoCAP Phadia-Pharmacia. Metoda polega na wykrywaniu krążących w surowicy przeciwciał klasy IgE, jest to metoda ilościowa fazy stałej. Podstawą techniki jest oznaczanie aktywności enzymu związanego z przeciwciałem (anty-IgE) dodanego do badanej surowicy. Utworzony kompleks IgE z surowicy i anty-IgE + enzym inkubuje się z odpowiednim dla enzymu substratem połączonym z fluorochromem. Powstała fluorescencja jest mierzona w spektrofotometrze z odpowiednim zestawem filtrów, a następnie porównywana z krzywą standardową i przeliczana na jednostki międzynarodowe. Wyniki stężenia swoistego IgE w surowicy podawane są w skali od 1 do 6, której odpowiada zakres od 0,35 kU/l do 100 kU/l. Wartości poniżej 0,35 kU/l oznaczają wynik negatywny.

Stężenie poszczególnych klas immunoglobulin (G, A, M) w surowicy krwi oszacowano, wykorzystując metodę turbidymetryczną polegającą na pomiarze natężenia światła przechodzącego przez powstałe po reakcji immunochemicznej zmętnienie. Surowicę otrzymaną po odwirowaniu krwi odpowiednio rozcieńczano, a na-

stępnie oznaczano jej stężenie w aparacie Turbitimer TT3 firmy Behring. Wynik podawano w jednostkach międzynarodowych/ml (IU/ml) i oceniano go według norm dla wieku.

Do wykrycia w surowicy obecności przeciwciał klasy IgA i IgG dla antygeny transglutaminazy tkankowej (tTGA) używano aparatu ImmunoCAP i tej samej co w przypadku przeciwciał IgE technologii (FEIA). W metodzie tej uzyskana fluorescencja jest wprost proporcjonalna do stężenia IgA lub IgG w próbce surowicy. Stężenie swoistego IgA lub IgG podano w jednostkach EliA/ml. Wartość IgA powyżej 10 EliA U/ml oznacza wynik dodatni, 5–10 EliA U/ml – wynik wątpliwy, poniżej 5 EliA U/ml – wynik negatywny, natomiast dla IgG: powyżej 10 EliA U/ml – wynik dodatni, 7–10 EliA U/ml – wynik wątpliwy, poniżej 7 EliA U/ml – wynik negatywny.

U dzieci, u których w surowicy wykryto przeciwciała przeciwko transglutaminazie tkankowej, przeprowadzono biopsję jelita cienkiego.

Wyniki

Tabela 1. Wyniki testu transformacji blastycznej limfocytów krwi obwodowej (TTBL) z antygenem glutenu i auto-transformacji (auto), stężenie immunoglobulin: Ef79, G, A, M, oraz stężenie przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej – IgG i IgA w surowicy badanych dzieci.

Lp.	Pacjent	TTBL		IgE-I79	IgG	IgA	IgM	Przeciwciała przeciw transglutaminazie	
		gluten (%)	auto (%)					IgG (U/ml)	IgA (U/ml)
1.	D.J./7,5	↑ 30	15	0	N 120	N 65	N 115	nw	nw
2.	B.D./4,5	↑ N 25	15	0	N 130	N 56	N 118	nw	nw
3.	B.A./7,3	↑ 20	12	0	N 73	N 24	N 84	nw	nw
4.	C.P./8,9	↑↑↑ 31	13	0	N 177	N 101	N 108	nw	nw
5.	S.J./6,5	↑↑ 23	10	0	N 70	N 46	N 77	nw	nw
6.	Z.Ł./17,0	N↑ 18	9	0	N 135	N 71	N 78	nw	nw
7.	Z.G./17,0	↑↑ 30	13	2	N 134	N 118	N 56	nw	nw
8.	J.M./14,0	N↑ 24	14	0	N 105	L 28	L 32	nw	nw
9.	S.L./6,0	N↑ 24	12	0	N 86	N 32	N 18	nw	nw
10.	G.S./3,2	N↑ 15	16	0	N 84	N 21	N 136	nw	nw
11.	G.K./8,5	↑ 31	17	0	N 115	N 98	N 148	nw	nw
12.	C.M./6,0	↑↑↑ 14	4	0	N 66	N 34	N 66	nw	nw
13.	B.M./8,0	↑↑↑ 45	9	0	N 128	N 89	N 99	nw	nw
14.	S.K./15,3	↑ 24	14	0	N 131	H 118	N 185	nw	nw
15.	G.K./4,0	↑↑ 34	16	0	N 96	N 21	N 115	nw	nw
16.	P.J./10,0	↑↑ 30	11	0	N 92	N 44	N 88	nw	nw

17.	P.J./9,0	↑ 40	20	0	N 167	N 143	N 65	nw	nw
18.	S.H./5,0	↑ 12	7	0	N 76	N 19	N 55	nw	nw
19.	N.M./5,5	↑ 20	10	0	N 134	N 74	N 158	nw	nw
20.	K.T./17,0	↑↑ 42	19	2	N 139	L 106	H 218	nw	nw
21.	R.M./6,5	↑↑ 27	9	0	N 78	N 95	N 118	nw	nw
22.	M.A./11,5	↑ 18	11	0	N 192	L 140	N 165	nw	nw
23.	W.M./6,8	↑↑ 27	13	0	N 107	N 99	N 105	nw	nw
24.	L.M./5,0	↑ 28	16	0	N 96	N 56	N 65	nw	nw
25.	S.M./3,5	↑↑ 45	16	0	N 79	N 19	L 36	nw	nw
26.	S.P./3,5	↑↑ 31	13	0	N 77	N 19	L 32	nw	nw
27.	W.M./3,8	↑↑ 37	16	0	N 101	N 19	N 55	nw	nw
28.	J.M./7,5	↑ 32	17	0	N 88	N 78	N 107	nw	nw
29.	N.S./4,5	↑ 28	22	0	N 105	N 58	N 84	nw	nw
31.	C.A./2,5	N 19	18	0	N 56	N 19	N 69	nw	nw
32.	S.Ł./11,0	↑↑ 34	17	0	N 117	H 145	N 147	nw	nw
33.	L.J./4,0	↑↑ 31	14	0	N 105	N 53	N 131	nw	nw
34.	K.P./4,2	↑ 34	17	0	N 84	N 19	L 37	nw	nw
35.	P.K./16,0	↑↑ 41	18	0	N 122	N 79	N 68	nw	nw
36.	S.M./5,0	↑ 35	18	0	N 99	N 33	N 102	nw	nw
37.	S.M./12,5	↑↑ 21	8	0	N 140	N 39	N 118	nw	nw
38.	S.J./10,8	↑ 24	12	0	N 119	N 92	L 71	nw	nw
39.	P.M./5,2	↑ 33	18	3	N 97	N 79	N 64	nw	nw
40.	S.M./3,5	↑ 17	9	0	N 86	N 25	N 78	nw	nw
41.	S.E./12,3	↑↑ 41	19	0	N 128	N 100	L 62	nw	nw
42.	P.P./12,0	↑ 23	12	0	N 167	H 124	L 70	nw	nw
43.	K.K./2,1	N↑ 30	18	0	N 76	N 23	N 87	nw	nw
44.	M.M./6,1	↑ 18	11	0	N 103	N 56	N 153	nw	nw
45.	J.P./7,0	↑↑ 20	8	0	N 147	N 104	N 120	nw	nw
46.	J.C./15,1	↑↑↑ 31	10	0	N 141	N 119	N 94	nw	nw
47.	P.A./11,5	↑↑ 41	18	0	N 112	N 51	N 125	nw	nw
48.	B.P./11,0	↑ 16	9	0	N 150	H 163	N 115	↑ 10	↑ 10
49.	A.K./14,1	↑↑ 37	15	0	N 170	N 112	N 190	↑ 10	↑ 10
50.	C.K./1,5	↑ 31	19	0	N 78	N 37	N 114	nw	nw

N – norma; L – wartość obniżona; H – wartość podwyższona; nw – nie wykryto; IS – indeks stymulacji; N↑ – IS=1,6–1,9 (wynik na granicy normy); ↑ – IS=2; ↑↑ – IS=2,1–3; ↑↑↑ – IS >3

Omówienie wyników

W badanej grupie 50 dzieci u wszystkich potwierdzono uczulenie na gluten przebiegające zgodnie z IV typem reakcji nadwrażliwości. Tylko u 3 dzieci dodatkowo potwierdzono obecność alergenowo swo-

istych przeciwciał klasy IgE dla glutenu (f79 – I typ reakcji nadwrażliwości).

Badania Chandry i wsp. z 1993 r. dowodzą, że u ok. 48% pacjentów uczulonych na pokarmy uczulenie przebiega zgodnie z I typem odpowiedzi immuno-

logicznej wg Gella i Coombsa, u 18% u podłoża uczulenia leży typ IV, a u 28% więcej niż jeden typ reakcji z nadwrażliwości [1].

Test transformacji blastycznej limfocytów krwi obwodowej (TTBL) pozwala na określenie in vitro zdolności odpowiedzi limfocytów uczulonych in vivo na wybrany antygen (alergen). Już w roku 1960 P. Nowell zaobserwował, że ludzkie limfocyty stymulowane w hodowli fitohemaglutyniną (PHA) transformują się w formy blastyczne [2, 3]. Test ten w 1964 r. wykorzystali F. Bach i K. Hirschhorn do oceny komórkowych mechanizmów odporności transplantacyjnej (reakcja odrzucania przeszczepów), która przypomina mechanizm reakcji nadwrażliwości późnej [4]. W 1969 r. dla potrzeb diagnostyki alergii IV typu TTBL opracowała A. Kunicka pod kierunkiem H. Siwińskiej-Gołębiowskiej [5]. Decydującą cechą diagnostyczną jest w nim morfologia komórki, podobnie jak w przypadku badań hematologicznych lub badań cytologicznych. Test transformacji blastycznej jest obecnie wykonywany w wyspecjalizowanych laboratoriach do potwierdzenia immunologicznego tła niepożądanych reakcji na pokarm.

Częstość występowania celiakii wynosi od 1:100 do 1:300 w zależności od obserwowanej populacji [6]. Uważa się, że choroba ta dotyczy ok. 1% populacji. Do ujawnienia się zarówno alergii na gluten, jak i celiakii może dojść w każdym wieku [7, 8]. Zdarza się też, że obie choroby współistnieją ze sobą [9].

Głównym autoantygenem w glutenoależnej chorobie trzewnej jest transglutaminaza tkankowa. U osób predysponowanych do choroby, przy uszkodzeniu błony śluzowej jelita cienkiego zwiększa się ilość tego enzymu, który łącząc się z gliadynami glutenu, tworzy kompleks rozpoznawany przez limfocyty T jako obcy. Powoduje to aktywację limfocytów T, które następnie stymulują limfocyty B do syntezy przeciwciał IgA i IgG przeciwko tTGA [10]. Autoprzeciwciała klasy IgA są bardziej swoiste niż klasy IgG, ale u pacjentów, u których występuje niedobór przeciwciał IgA, zaleca się oznaczenie przeciwciał właśnie w tej klasie [11].

W badanej przez nas grupie obniżone stężenie IgA stwierdzono u 3 dzieci. Przeciwciała przeciwko tTGA, zarówno w klasie IgA, jak i IgG, wykryto u 2 dzieci, u których stężenie zarówno IgA, jak i IgG w surowicy mieściło się w zakresie norm dla wieku. U dzieci tych wykryto także obecność przeciwciał przeciwko endomyszum mięśni gładkich w klasie IgA (IgAEMA). Zgodnie z obowiązującymi standardami diagnostyka celiakii opiera się na wykryciu specyficznych dla choroby przeciwciał (głównie przeciw-

endomyszalnych i przeciw transglutaminazie tkankowej) oraz stwierdzeniu charakterystycznych zmian w biopsji błony śluzowej jelita cienkiego. U 2 dzieci, u których wykryto serologiczne markery celiakii, rozpoznanie choroby zostało potwierdzone badaniem histopatologicznym wycinków błony śluzowej dwunastnicy i jelita cienkiego (3. stopień wg skali Marsha). Stwierdzona przez nas częstość występowania celiakii w grupie dzieci z alergią na gluten wynosiła 4% i była wyższa niż w populacji ogólnej.

Wnioski

1. Przeważający udział u dzieci IV typu reakcji nadwrażliwości w odpowiedzi na antygen glutenu powinien być wskazaniem do upowszechnienia diagnostyki w tym kierunku.
2. U dzieci z potwierdzoną alergią na gluten wskazane jest przeprowadzanie badań w kierunku celiakii.

Piśmiennictwo:

1. Chandra R.K., Gill B., Kumari S.: Food allergy and atopic disease; pathogenesis, diagnosis, predictions of high risk and prevention. *Ann. Allergy* 1993, 71: 495-502.
2. Nowell P.C.: Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.* 1960, 20: 462-466.
3. Nowell P.C.: Differentiation of human leukemic leukocytes in tissue culture. *Exp. Cell Res.* 1960, 19: 267-277.
4. Bach F., Hirschhorn K.: Lymphocyte interaction: a potential histocompatibility test in vitro. *Science* 1964, 143: 813-814.
5. Kunicka A.: Transformacja blastyczna limfocytów krwi obwodowej jako test funkcji immunologicznej limfocytów oraz znaczenie tego testu w badaniach klinicznych. *Ped. Pol.* 1969, 7: 897-904.
6. Gomułka K., Demkow U.: Celiakia – etiopatogeneza, klinika i diagnostyka laboratoryjna. *Nowa Pediatria* 2010, 2: 44-49.
7. Walker-Smith J.A., Gualdini S., Schmitz J., Smerling D.H., Visakorpi J.A.: Revised criteria for diagnosis of celiac disease. Report of Working Group of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch. Dis. Child.* 1990, 65: 909-911.
8. Rodrigo L.: Celiac disease. *World J. Gastroenterol.* 2006, 12(41): 6585-659.
9. Torres J.A., Sastre J., de las Heras M., Cuesta J., Lombardero M., Ledesma A.: IgE-mediate cereal allergy and latent celiac disease. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2008, 18(5): 412-4.
10. Czaja-Bursa G., Malecka G.: Przydatność oznaczania przeciwciał przeciwko transglutaminazie tkankowej do rozpozna-

wania zaostżenia choroby trzewnej u dzieci. *Ped. Współcz. Gastroenterol. Hepatol i Żyw. Dziecka* 2003, 5(2): 99-104.

11. Szalecki M., Ziara K., Biernacka-Florczak I. et al.: Występowanie celiakii u dzieci i młodzieży ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu I. *Endokrynologia Pediatria* 2007, 6; 2(19): 23-28.

Adres do korespondencji:

dr n. med. Maria Gołębiowska-Wawrzyniak

Instytut Matki i Dziecka

01-211 Warszawa, ul. Kasprzaka 17 a

tel.: (22) 327-71-58

e-mail: zaklad.immunologii@imid.med.pl