

Válasz dr Hunyady Bélának

Köszönöm dr Hunyady Bélának, hogy értekezésem bírálatát elvállalta, valamint nagyon köszönöm elismerő szavait és pozitív értékelését.

A feltett kérdésekre az alábbiakban válaszolok:

- 1. kérdés: A szöveti transzglutamináz alapú gyorsteszt értékelésekor lehetséges-e, és szükséges-e az antitesttiter szemi-kvantitativ értékelése, azaz a klinikai döntéshozatal szempontjából fontos információ-e az antitesttiter-szint?*

A gyorsteszt kifejlesztésének idején elsősorban kvalitatív eredmény kimutatására törekedtünk, azaz a pozitivitás-negativitás felismerése volt a cél, rendelői körülmények között. Mivel a gyorsteszt antigén-antitest komplexeket ismer fel, a jel nem tekinthető annyira lineárisnak, mint egy ELISA vizsgálatban. Ennek ellenére, az eljárás működik ELISA körülmények között is, és az optimalizálás során ELISA módszerrel állítottuk be a kellő hígításokat és reagens koncentrációkat. Ennek során összefüggést észleltünk a savóból mért antitest szint és a teljes vér ELISA eredménye között (Raivio és mtsai, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008;47:562-7.)

Az elkészült kazettás gyorstesztnél a jelentős antitest pozitivitásnál keletkező látható csík erősebb és vastagabb, valamint sokkal hamarabb is jelenik meg, mialatt a kazettában végigvándorol a vér. Alacsony antitest szint esetén viszont a látható vonal kialakulásához több idő kell, mivel a koloid arany festékkel jelölt anti-IgA csak lassan halmozódik fel a vörösvérsejt transzglutaminázt és a hozzá kötődött antitesteket megkötő vonalon. Ennek megfelelően a jel erőssége mérhető denzitometriás leolvasóval és a kialakulás idejével, mely szemi-kvantitativ értékelést valóban lehetővé tesz.

A magas szérum transzglutamináz antitest szintek diagnosztikus jelentőségére és a boholyatrófia vonatkozásában magas pozitív prediktív értékére a gyorsteszt kifejlesztését követő időszakban megjelent tanulmányok, köztük saját tanulmányunk (Dahlbom és mtsai J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010;50:140-6.) mutattak rá. Ennek megfelelően az Európai Gyermekgastroenterológiai, Hepatológiai és Táplálkozási Társaság (ESPGHAN) 2012-ben megjelent új irányelvei is javasolják ennek figyelembe vételét a non-invazív diagnosztikus útvonal választásához. Az antitest szintek mérésének továbbá jelentősége van a diéta kezdeti időszakában a csökkenés kimutatására és a beteg diétás fegyelmeinek értékelésére.

A gyorsteszt elvileg felszerelhető szemi-kvantitativ értékelést lehetővé tevő leolvasóval. Azonban az ESPGHAN irányelvek kidolgozásakor a szakértői bizottság úgy találta, hogy a különféle gyorstesztek otthoni, főként laikusok kezében történő alkalmazása esetén olyan technikai és interpretációs bizonytalanságok lehetnek, hogy mindenképp tanácsolt a pozitív eredmények laboratóriumi verifikálása és csak a laboratóriumi méréssel és endomysium antitest vizsgálattal együttesen megerősített erős pozitivitás esetén jön szóba a biopszia nélküli diagnózis. A saját gyakorlatunkban a gyorsteszt működésével kapcsolatban nem találtunk aggodalomra okot adó problémákat, de magunk is minden pozitív esetben megerősítjük laboratóriumi vizsgálatokkal az eredményt. Ezek pontosabb információt adnak az antitest koncentrációról.

2. *kérdés: Költséghatékony lehet-e a coeliakia teljes populáció szintű szűrése (például gyorstesztel) – illetve ha nem, hogyan határolható be a tünetmentes egyének azon köre, akiknél a szűrővizsgálat elvégzése indokolt?*

A coeliakia, sajátosságait tekintve, alkalmas populáció szintű szűrésre: a betegség jelentős egészségkárosodásokat okozhat, időben végzett felismerés esetén hatásosan kezelhető. A preklinikai állapot felderíthető antitest vizsgálattal, mely technikailag egyszerűvé és a tünetmentes populáció számára elfogadhatóvá tehető a gyorsteszt alkalmazásával. A költséghatékony felmérése szempontjából fontos kérdés, hogy milyen életkorban és hányszor kellene alkalmazni a szűrést, valamint hogy a klinikai diagnózis és a késői felismerés esetén az orvosi ellátás költségei mekkorák. Ezeket a tényezőket eddig kevés tanulmányban vizsgálták, a közölt adatok arra utalnak, hogy a szűrés költséghatékony lehet.

A coeliakia non-Hodgkin lymphomát, más rosszindulatú betegségeket, ataxiával járó demenciát, cardiomyopathiát illetve májátültetést szükségessé tevő májelégtelenséget okozhat, melyek költségvonzata nagy, viszont ezek a szövődmények az újabb tanulmányok alapján ritkábbak, mint azt korábban gondolták (Tio és mtsai. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35:540-51). Jelentős költségvonzattal jár viszont az osteoporosis és annak későbbi gyógyszeres kezelése, valamint a fel nem ismert betegek esetén a tartós és szerteágazó emésztőszervi és nem emésztőszervi problémák, krónikus fáradtság miatti gyakoribb orvosi vizitek és egyéb kivizsgálások száma, mely a diagnózis után egyértelműen csökken (Ukkola A és mtsai. *BMC Gastroenterol.* 2012;12:136). Shamir és munkatársai (Hershcovici T, *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31:901-10.) úgy találták, hogy az Izraelben sokkal drágább laboratóriumi szűréssel és gasztroszkópiás vizsgálatokkal már akkor költséghatékony lenne a fiatal felnőttek (mindkét nemű katonák) szűrése, ha a diagnózis legalább 6 évet késik (feltételezve, hogy a kiszűrtek magas arányban betartják majd a diétát). A gyermekek helyszíni szűréssel ennél sokkal kedvezőbb költség arányok várhatók.

A gyorsteszt hazánkban védőnői kompetenciával is jól alkalmazható volt, nem igényelt külön szűrővizsgálati team-et. Az iskola előtti vagy iskolai szűrés jól megszervezhető, költsége lényegében magát a gyorsteszt költségét jelenti, mely nagy tételek esetén 1000-2000 Ft közötti áron már reálisan beszerezhető. Több helyi önkormányzat támogatásával valósult meg sikeres iskolai populációszűrés az utóbbi években Magyarországon, melyet a lakosság is rendkívül pozitívan fogadott.

Egy újabb, a disszertációban még nem szereplő tanulmányban kimutattuk, hogy a 6 éves korban végzett szűrést követően 6 évvel a szűrt populációban jelentős, boholyatrofiával kísért antitest pozitívitas nem volt. Az észlelt alacsony pozitív esetek száma pedig egytizede (0.2%) volt az ugyanott élő, hasonló korú, de nem szűrt népességben észlelt összes antitest pozitív arányhoz (2.0%) képest, akik között nyilvánvaló klinikai esetek is manifesztálódtak a vizsgált időszak alatt. Ennek alapján a 6 éves kor szakmailag alkalmasnak látszik gyorsteszt alapú populáció szintű szűrés tervezésére, viszont egy esetleges szűrés tényleges bevezetését számos egyéb gazdasági vagy szociális tényező is befolyásolhatja.

A tünetmentes elsőfokú családtagok szűrése viszont klinikailag egyértelműen indokolt, a magas, mintegy 10% előfordulási arány miatt. A jelenlegi minisztériumi ajánlás 1 éves korban javasolja a szűrést, amit viszont korainak tartok, még soha senkit sem szűrtünk ki ebben az életkorban. A PreventCD tanulmány alapján a veszélyeztetett családtagok körét HLA-DQ tipizálással lehet

meghatározni és ezeket 3 és 6 éves korban érdemes szűrni antitest vizsgálatokkal, melyet között szerepelhet gyorsteszt is. Természetesen indokolt az ennél idősebb gyermek és felnőtt családtagok egyszeri szűrése is, az index beteg diagnózisakor. Az emésztőszervi szempontból tünetmentes pajzsmirigybetegek és 1-es típusú diabetes mellitusban szenvedők szűrése is jelenleg már klinikai gyakorlat, amit szintén indokoltnak tartok.

3. *Jelölt interpretációja szerint azok a betegek is coeliakiásnak tekintendők lehetnek, akiknél alacsony vagy határérték a plazma endomysium és szöveti transzglutamináz antitesttiter-szint, és szövettannal nem mutatható ki boholyatrophia. Ugyanakkor a jelölt által hivatkozott közlemény (11.) szerint ilyen egyének háromnegyed részénél 3-6 hónapos gluten expozíció után sem alakult ki boholyatrophia. Milyen adatok támasztják alá, hogy ezeknél a betegeknél is szükséges az élethosszig tartó diéta, nem elégséges-e ezeknek az egyéneknek a követése?*

Ma már egyértelmű, hogy a coeliakia definíciója nem korlátozható a vékonybél strukturális károsodásával jellemezhető (Marsh III stádiumú szövettani eredménnyel bíró) esetekre. A közleményben szereplő betegeknél a vékonybélben bizonyítható volt az antitestek jellegzetes kötődése és ezzel a coeliakiára jellemző immunreakció jelenléte, a klinikai válasz a gluten expozícióra és a megfelelő HLA-DQ háttér. A klinikai gyakorlatban azonban az adatok gyakran hiányosak, a leletek látszólagos ellentmondása néha ebből adódik. A dermatitis herpetiformisban szenvedőknél, ahol a gluten-érzékenység tényét a bőr immunfluoreszcens vizsgálatával egyértelműen igazolni lehet, 10-15%-ban nincs boholyatrophia (O'Mahony és mtsai. Lancet. 1990 Jun 23;335:1487-90, Dahlbom és mtsai J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010;50:140-6.). A kérdésben említett tanulmányban 6 hónap alatt nem észleltünk jelentős romlást, de a fenti eltérésekkel jellemezhető betegeknél hosszabb követéssel 2 év alatt mintegy 20%-ban, 5 év után pedig közel 50%-ban boholyatrophia kialakulását írták le más szerzők (Auricchio és mtsai, ESPGHAN2013 absztrakt). Az ennél hosszabb távú követésekről prospektív adatok még nincsenek, viszont számos klinikai esetismertetés található, hogy boholyatrophia nélkül diabetes mellitus, gluten ataxia, demencia is kialakulhat. Ezért a kezelés kérdésében minden betegre érvényesen állást foglalni ma még nem lehet. Azoknál a betegeknél, ahol az endomysium antitest is pozitív, nagyobb eséllyel manifesztálódhat később szokásos módon a coeliakia (Kurppa K és mtsai. J Pediatr. 2010 Sep;157:373-80), valamint klinikai és immunológiai vizsgálatokkal nincs érdemi különbség azok között, akiknél a coeliakia boholyatrophiaival vagy anélkül derül ki (Kurppa K és mtsai Gastroenterology 2009;136:816-23).

Az ESPGHAN új irányelvei egyéni elbírálást javasolnak és tünetmentesség esetén várakozást, elsősorban azért, mert ilyenkor a klinikus sem mindig biztos a diagnózisban.

A klinikai gyakorlatban azonban nagyszámban találkozunk olyan betegekkkel, akik valójában tünetes coeliakiában szenvednek, de a szövettani lelet mégsem egyértelmű. Ennek oka az eltérések foltos jellege is lehet, valamint rossz orientáció, mintaminőség miatt értékelési nehézségek is adódhatnak, amikor az egymást követő pathológiai véleményezések kevéssé egyeznek. Ez az általunk értékelt antitest pozitív, de vékonybélbiopszia szerint normálisnak minősített vékonybél szövettani lelet miatt vizsgált betegek 22%-ában fordult elő (118. oldal). Ezért klinikai tünetek esetén célszerű a szövettani vizsgálatot többszörös mintavétellel végezni, esetleg megismételni, vagy a kezelést mérlegelni, mivel tanulmányok adatai szerint 50%-ban várható klinikai javulás akkor is, ha boholyatrophia nem volt kimutatható.

A prospektíven antitest vizsgálatokkal követett veszélyeztetett populációkban, családtagokban gyakori az átmeneti transzglutamináz antitest pozitivitás 2-3 éves kor körül, klinikai tünetek nélkül. Ezért, ha az antitestek eltűnnek a vérből és nincs boholyatrófia, általában csak követést javasolnak. Viszont itt is igaz az, hogy sok év után mégis gyakran látjuk klinikai betegség megjelenését és az antitest szintek újbóli megemelkedését, valamint azt is, hogy a család akkor is diétázni kezdi a gyermeket, ha mi nem javasoltunk kezelést. A kérdés megválaszolásában ezért mindenképp figyelembe kell venni a beteg (család) preferenciáját. A későbbiekben remélhető, hogy nagyobb számú és hosszabb követési idő utáni vizsgálati eredmény fog rendelkezésre állni a progresszió tényleges arányának jobb megítélésére.

4. *Jelölt hisztológiai módszerrel szöveti transzglutamináz elleni antitest kötődést talált szeronegatív egyének vékonybél mintáiban, és az emésztőrendszer más területein is, valamint extraintesztinális manifesztációk esetén egyéb szövetekben. Hasznos lehet-e ez utóbbi felismerés szeronegatív egyéneknél a diagnózis felállításában, illetve kiket, és milyen mintákat javasol vizsgálni?*

Igen, a szeronegatív, emésztőszervi tünetekkel jelentkező betegeknek célszerű a vékonybélben lévő antitestek kimutatására vizsgálatot végezni, ha boholyatrófiát vagy Marsh I-II eltérést találunk és fagyasztott minta rendelkezésre áll. A magas aviditású antitestek a szövetekben szervesztrálódhatnak, főként hosszú ideje fennálló betegség esetén, vagy a szeronegativitásnak az is a magyarázata lehet, hogy a beteg - tünetei vagy rossz étvágya miatt - a glutenbevitelt csökkentette. Fontos lehet a negatív lelet is az autoimmun enteropathiák és a refrakter sprue kórismézésében, differenciáldiagnózisában. Ugyancsak fontos klinikai információt jelentett az antitestek kimutatása a vékonybélben gluten-ataxiás betegeknek, akiknek nem volt boholyatrófiája és számos esetben (transzglutamináz vagy endomysium antitest) szeropozitivitása sem.

A más szervekben kimutatható antitesteknek diagnosztikus jelentősége lehet olyan ismeretlen eredetű, krónikus szervi károsodások esetén, melyeket korábban nem tartottak jellemzőknek a coeliakiára. Ezeknél e betegeknek a mintavétel idején esetleg a coeliakiát nem is vizsgálták, nincs félretett savó. A saját anyagunkban megnagyobbodott, de egyébként számos korábbi immunológiai vizsgálattal negatív, sok markerre vizsgált nyirokcsomók, máj és vesebiopsziás minták retrospektív vizsgálatával valamint lymphoma esetén mutattunk ki coeliakiára jellemző antitesteket. Az ilyen leletek segítséget jelentettek a beteg kórlefolásának értékelésében, a coeliakia diagnózisra irányuló további vizsgálatok indikálásában, majd a betegség későbbi bizonyításában. E betegek többsége ugyan szeropozitív volt, de ezt addig nem vizsgálták.

Fontos kiemelni, hogy a jelenlegi módszerekkel a coeliakia antitesteket csak fagyasztott mintában tudjuk kimutatni, így utólag sok esetben nem mondható vélemény. Ezért ha ismeretlen eredetű szervi károsodások miatt történik szövettani vizsgálat, vagy ilyen szervi léziók ismert coeliakiás betegnél alakulnak ki, célszerű egy mintát fagyasztva is félretenni. Erre jó példa volt a két diétát abbahagyott fiatal coeliakiás felnőtt, akiknél súlyos szívizom károsodás alakult ki, és ahol az egyik esetben sikerült az antitestek endomysium kötődését magában a szívizomban is bizonyítani.

5. *Jelölt nem-humán, a betegségre jellemző pathológiai történéseket nem generáló „blokkoló” antitesteket azonosított. Ha, és amennyiben lehetséges ilyen blokkoló antitestekkel az arra genetikailag fogékony, és a betegséget okozó saját antitestekkel már rendelkező egyéneknél az autoantitestek által okozott pathológiai folyamatok kivédése, elképzelhetőnek tartja-e hogy*

ezek enterális úton is hatékonyak lehetnek, vagy azt, hogy nem-fehérje természetű kismolekulájú vegyületek is képesek lehetnek erre?

A blokkoló antitestek a már megtermelt coeliakiás antitestek transzglutaminázhoz való kötődésével interferálhatnak, így valószínűleg kevésbé lennének effektívek a gliadin hatásainak kivédésére magában az emésztőrendszerben és valószínűleg humán körülmények között orális úton adva nem szívódnának fel. Viszont elképzelhető, hogy az antitest kötőhelyet imitáló, blokkoló mimotópok kis, nem fehérje természetű molekulákon is kialakíthatók, melyek orálisan is hatásosak. Kísérleteink eddig in vitro körülmények között folytak és az antitestekkel történő interferencia nem befolyásolná a gliadinra adott T-sejtes választ és maguknak az antitesteknek a termelését. Ezért in vivo körülmények között kellene tovább tanulmányozni, hogy a le nem kötődött coeliakiás antitestek okoznának-e egyéb problémákat illetve vesekárosodást. A blokkoló antitestek terápiás hatásossága vagy tolerálhatósága ezért egyelőre kérdéses.

6. *Jelölt munkájában jelentős felismerésekről számol be a betegségre hajlamosító genetikai tényezők vonatkozásában. Ezek a genetikai tényezők azonban nem feltétlenül specifikusak a coeliakiára, és önmagukban nem feltétlenül elegendőek a diagnózis felállításához. Ugyanakkor a genetikai tényezők vizsgálata meglehetősen költséges. Mely helyzetekben tudja elképzelni, hogy a genetikai tényezők vizsgálata költséghatékonyan járulhat hozzá a klinikai döntéshozatalhoz? Például a HLA DQ mintázat, vagy single nucleotid polymorfizmusok vizsgálata mennyivel nyújthat többet az autoantitest szintű diagnosztikánál vagy szűrésnél? Megéri-e az információ a többletköltséget?*

A HLA-DQ tipizálás és egyéb polymorfizmusok vizsgálata a klinikai gyakorlatban főként akkor lehet előnyös, ha a hagyományos diagnosztikus eszközökkel nem lehet a diagnózist elbírálni, pl. nem pozitívak a transzglutamináz antitestek vagy a beteg nem fogyaszt glutent. Ma azonban egyik genetikai marker vagy azok kombinációja sem ad a coeliakiát bizonyító eredményt, mert ezek a genetikai adottságok a normál népességben is előfordulhatnak. Így diagnosztikus jelentősége a negatív HLA-DQ eredménynek van, bizonytalan értékű klinikai vizsgálati eredmények esetén, a coeliakia kizárására.

Úgy tűnik, hogy a transzglutamináz és endomysium antitest pozitív betegeknél a HLA-DQ tipizálás már jelentős információt nem ad, mivel ezek – extrém ritka kivételektől és tipizálási hibáktól eltekintve – minden esetben HLA-DQ2 vagy DQ8 pozitívak, ezen antitestek termelése DQ restriktiót mutat. Az új ESPGHAN ajánlás javasolja a HLA-DQ tipizálás elvégzését a magas antitest pozitivitás miatt non-invazív módon diagnosztizált tünetes betegeknél, főként azzal a céllal, hogy az eredeti antitest vizsgálatok hitelt érdemlő voltát alátámasszuk és esetleges inkompatibilitást felderítsünk az életre szóló diagnózis kimondása előtt. Az irányelvek megjelenése óta folytatott retrospektív felmérések azonban azt mutatják, hogy ez mégsem látszik indokoltnak és logikailag sem érdemes egy 60% specificitású vizsgálatot alkalmazni a sokkal specifikusabb antitestek ellenőrzésére. A diagnosztikus score kidolgozásakor végzett saját értékelés során hasonló eredmény adódott: a malabszorpcióval jelentkező, endomysium antitest pozitív betegeknél nem volt szükség a HLA-DQ tipizálás által szolgáltatott további pontszámokra.

A HLA-DQ tipizálás és az SNP-k vizsgálatának jelentősége sokkal nagyobb a családtagok, főként az igen fiatal gyermekek és az alacsony transzglutamináz antitest pozitivitással jelentkező endomysium antitestre negatív vagy nem vizsgált személyeknél, ahol a genetikai eredmény

szerepet játszik a követési stratégia kialakításában. Hasonló a helyzet azoknál, akiknél a szerológiai és a szövettani eredmények ellentmondóak (van antitest pozitívítás, de nincs boholyatrófia vagy szeronegativitás mellett boholyatrófia áll fenn). Ezeknél az eseteknél ugyanis nem lehet az antitestek vizsgálatával sem végleges igazoló, sem végleges kizáró lelethez jutni a jelentkezés idején. A negatív HLA-DQ lelet birtokában a követés ideje vagy invazivitása jelentősen redukálható, míg a HLA-DQ2 vagy DQ8 hordozó személyek ismételt vizsgálatokat igényelnek és itt a non-HLA SNP-k meghatározás tovább finomíthatja a prognózis felállítását. A genetikai vizsgálatok költségét illetően a SNP alapú meghatározások költsége ma már az antitest vizsgálatok nagyságrendjében van, kérdés az, hogy hány genetikai marker meghatározására van szükség. A HLA-DQ tipizálás is végezhető SNP vizsgálattal, így a hagyományos tesztelési költség töredékéért elvégezhető. A genetikai vizsgálatok, chip-ek dinamikus fejlődése alapján az várható, hogy a családtagoknál ennek a jövőben feltétlen jelentősége lesz, azonban tovább kell még várni olyan genetikai markerek felfedezésére, melyek közvetlenül magát a coeliakiát képesek jelezni.

A jelenleg rendelkezésre álló markerek – megfelelő technikai háttér esetén – alkalmasak lehetnek azonban a populáció előzetes szűrésére és akkor az antitest vizsgálatokat elegendő a veszélyeztetett személyeknél elvégezni.

Budapest, 2013.05.16



Dr Korponay-Szabó Ilma