

## مقایسه نتایج بیوپسی روده باریک و تست سرولوژیک آنتی ترانس گلوتامیناز بافتی در

### کودکان مبتلا به بیماری سلیاک در شهر اهواز در سال ۹۴

سمیه نیاپاک<sup>۱\*</sup>، عطاالله غدیری<sup>۲</sup>، مهری غفوریان بروجردنیا<sup>۳</sup>، مهران حکیم زاده<sup>۴</sup>

- ۱- کارشناس ارشد ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.
- ۲- استادیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.
- ۳- استاد، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.
- ۴- دانشیار، گروه کودکان، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

یافته / دوره هجدهم / شماره ۲ / تابستان ۹۵ / مسلسل ۶۸

#### چکیده

دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۱۱ پذیرش مقاله: ۹۵/۴/۸

**\* مقدمه:** سلیاک یک بیماری خودایمنی می باشد که به دنبال مصرف غذای حاوی گلوتن به ویژه در افرادی که استعداد ژنتیکی دارند، رخ می دهد. هدف از این مطالعه مقایسه روش های موجود برای تشخیص بیماری سلیاک و ارتباط سنجی میان این روش ها می باشد.

**\* مواد و روش ها:** در این مطالعه، ۵۰ بیمار با شک بالینی سلیاک وارد مطالعه شدند. پس از انجام آزمایش IgA anti-TTG به روش الایزا، بیماران تحت عمل آندوسکوپی قرار گرفته و تقسیم بندی بافت شناسی بر اساس نوع مارش انجام شد و نتایج با تست IgA anti-TTG مقایسه گردید.

**\* یافته ها:** ۵۰ بیمار شامل ۲۳ پسر و ۲۷ دختر با میانگین سنی ۸،۳۶ سال بودند. آزمایشات سرولوژیک در ۴۵ نفر مثبت و در ۵ نفر منفی بود. در بررسی هیستوپاتولوژیک بیماران، طرح غیر طبیعی در تمام موارد مشاهده گردید که اکثرا در گروه مارش III قرار گرفتند. بین نتایج سرولوژیک و یافته های بیوپسی بیماران ارتباط معنی داری به دست آمد ( $p\text{-valu}=0/014$ ). در حالی که میان سن بیماران و نتایج بیوپسی ارتباط معنی داری دیده نشد.

**\* بحث و نتیجه گیری:** بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه بین یافته های هیستوپاتولوژیک و یافته های سرولوژیک رابطه معنی داری مشاهده گردید، رویکرد تشخیصی مطرح شده در این مطالعه می تواند در ارزیابی هر چه بهتر بیماری سلیاک مفید واقع شود. در پایان، برای تشخیص قطعی بیماری سلیاک انجام آزمایشات مولکولی و تعیین هاپلوتاایپ های HLADQ نیز پیشنهاد می گردد.

**\* واژه های کلیدی:** بیماری سلیاک، تست آنتی ترانس گلوتامیناز بافتی، درجه بندی Marsh.

\*آدرس مکاتبه: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی.

پست الکترونیک: sniyapak@yahoo.com

## مقدمه

بیماری سلیاک یا انتروپاتی حساس به گلوتن یک انتروپاتی مرتبط با سیستم ایمنی می باشد. گلوتن موجود در گندم، جو و جو دوسر سبب آسیب به روده کوچک شده و نهایتاً جذب مواد مغذی را با مشکل مواجه می کند (۱). اپیدمیولوژی و شیوع بیماری سلیاک در آمریکای شمالی و اروپا حدود ۰/۴٪ تا ۱٪ گزارش شده است. شیوع سلیاک در خاورمیانه، بین ۳ تا ۲۰٪ گزارش شده است. آنزیم ترانس گلوتامیناز بافتی (TTG) نقش مهمی را در ایجاد پاسخ ایمنی در این بیماری ایفا می کند (۲) و در بافتهای متعدد بدن وجود دارد. این آنزیم اصلی ترین اتوانتی ژن در بیماری سلیاک است (۳) که پروتیین گلوتامین را دامینه می کند. پپتیدهای حاصل از دامیناسیون که دارای شارژ منفی می باشند، تمایل بسیار زیادی به HLA-DQ2 و HLA-DQ8 دارند و نقش کلیدی در پاسخ ایمنی در این بیماری ایفا می کنند. شناسایی پپتیدهای گلوتن باند شده با HLA منجر به فعال شدن لنفوسیت ها و گسترش کلونی سلول های B و تولید آنتی بادی می شود (۴). نشانه های این بیماری شامل نفخ، درد شکم، اسهال مزمن، استفراق، بیوست، رنگ پریدگی، بوی بد مدفوع یا مدفوع چرب و کاهش وزن می باشد (۵). تشخیص بیماری سلیاک از طریق تست های سرولوژیکی IgA anti-TTG و EMA IgA صورت می گیرد (۶). در صورت مثبت بودن تست های سرولوژیکی نمونه برداری از قسمت دوم دوازدهه صورت می گیرد. بیوپسی روده کوچک افراد مبتلا به سلیاک شکل خاصی دارد. در حالت نرمال سطح داخلی روده دارای پرزهایی است که به آن Villi می گویند، که در افراد سلیاکی این حالت از بین رفته و سطح روده، صاف می گردد. تغییرات بافت شناسی جهت تشخیص قطعی سلیاک بر اساس تقسیم بندی مارش انجام می گیرد. در مارش I نمای طبیعی مخاط به همراه افزایش لنفوسیت های داخل اپیتلیال می باشد. در مارش II ارتفاع ویلی ها کوتاه تر شده که همراه با

کریپت های هایپرپلاستیک می باشد. مارش III نیز همراه با کریپت های هایپرپلاستیک و کاهش متوسط تا شدید ویلی ها می باشد. اکثر بیماران سلیاکی در هنگام تشخیص در دسته مارش III قرار می گیرند (۸، ۷، ۴). در صورتی که پاتولوژی منطبق بر سلیاک باشد، تشخیصی قطعی سلیاک داده می شود. در مواردی که نتیجه بافتی مبهم باشد استفاده از HLA-Typing مفید واقع می شود. هدف از این مطالعه بررسی یافته های پاتولوژیک در بیماران سلیاک استان خوزستان بر اساس سیستم مارش با توجه به تست های سرولوژیک آنها و ارتباط سنجی بین یافته های پاتولوژیک با تست های سرولوژیک می باشد.

## مواد و روش ها

در این مطالعه ۵۰ بیمار ساکن استان خوزستان با شک بالینی که به پزشک متخصص گوارش مراجعه نموده بودند وارد مطالعه شدند. کلیه افراد مورد بررسی دارای علائم بالینی مرتبط با بیماری سلیاک بودند. از بیماران رضایت نامه کتبی آگاهانه شرکت در مطالعه اخذ شد و پس از انجام خونگیری و جدا نمودن سرم از خون، تیتراژ آنتی بادی ترانس گلوتامیناز بافتی به روش الایزا با استفاده از کیت (AESKUL) ساخت کشور آلمان، اندازه گیری گردید. بر اساس استاندارد تعیین شده در کیت، تیتراژ کمتر از 15U/ml منفی و بالاتر از آن مثبت در نظر گرفته شد. در پایان تمام بیماران برای انجام عمل آندوسکوپی به متخصص گوارش ارجاع داده شدند. همه بیوپسی ها از نظر Marsh grading توسط پاتولوژیست بررسی و درجات گرفتاری مشخص گردید و ارتباط نتایج سرولوژی بیماران با یافته های پاتولوژی آنها مورد بررسی قرار گرفت. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-22 و آزمون های آماری Chi-Square، آزمون t تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری آزمون ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

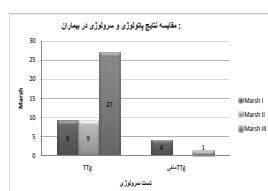
## یافته‌ها

TTG و سن بیمار معنی دار نبود. در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک بیماران، طرح غیر طبیعی در تمام موارد مشاهده گردید و به طور کلی ۱۳ نفر در مارش I (۲۶٪)، ۹ نفر در مارش II (۱۸٪)، ۲۸ نفر در مارش III (۵۶٪) جای گرفتند. طبق جدول ۱ افرادی که بین سنین ۵-۱ سال بودند ۵ نفر (۱۰٪) مارش I، ۳ نفر (۶٪) مارش II و ۲ نفر مارش III (۴٪) را تشکیل می دادند. افرادی که در گروه سنی ۱۰-۶ سال بودند ۷ نفر (۱۴٪) مارش I، ۴ نفر (۸٪) مارش II، ۱۵ نفر مارش III (۳۰٪) را نشان دادند. افرادی که در گروه سنی ۱۱-۱۶ سال قرار داشتند، ۱ نفر (۲٪) مارش I، ۲ نفر (۴٪) مارش II، ۱۱ نفر مارش III (۲۲٪) بودند. تعداد بیماران در گروه سنی ۱۰-۶ با مارش III بیشتر بود.

از ۵۰ بیمار مورد مطالعه ۲۳ نفر (۲۷/۸٪) مذکر و ۲۷ نفر (۲۳/۵۴٪) مونث بودند که میانگین سنی آنان ۸/۳۶ سال بود (۸/۳۶±۰/۴۷). میانگین سنی دختران ۷/۶۲ سال (۷/۶۲±۰/۵۸) و میانگین سنی پسران ۹/۲۲ سال بود (۹/۲۲±۰/۷۳). اختلاف معنی داری بین میانگین سنی دو گروه دختر و پسر وجود نداشت و اختلاف میانگین سنی بین دو گروه برابر ۱،۵۸ بود که در فاصله اطمینان (۳/۴۴۷ و ۲۲۷-) قرار داشت. تست سرولوژیک IgA-TTG در ۴۵ نفر مثبت و در ۵ نفر منفی بود. از میان سرولوژی مثبت‌ها ۲۴ نفر مونث و ۲۱ نفر مذکر بودند. برای بررسی ارتباط بین TTG در دو گروه مذکر و مونث از آزمون من ویتنی استفاده شد و با توجه به مقدار p-value اختلاف آماری معنی داری بین جنسیت با موارد مثبت TTG دیده نشد. ارتباط بین

جدول ۱. توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب گروه‌های سنی و نتایج پاتولوژی

کل	مارش III	مارش II	مارش I	
۱۰ (۲۰٪)	۲ (۴٪)	۳ (۶٪)	۵ (۱۰٪)	۱-۵
۲۶ (۵۲٪)	۱۵ (۳۰٪)	۴ (۸٪)	۷ (۱۴٪)	۶-۱۰
۱۴ (۲۸٪)	۱۱ (۲۲٪)	۲ (۴٪)	۱ (۲٪)	۱۱-۱۶
۵۰ (۱۰۰٪)	۲۸ (۵۶٪)	۹ (۱۸٪)	۱۳ (۲۶٪)	کل



برای بررسی ارتباط بین نوع مارش و سن بیماران از آزمون کای اسکویر استفاده کردیم که با توجه به p-value به دست آمده ارتباط معنی داری بین سن و نوع مارش مشاهده نشد. همچنین بر اساس یافته‌های حاصل از آزمون پیرسون کای اسکویر مشاهده کردیم که با افزایش نوع مارش مقدار TTG نیز افزایش می یابد و با توجه به مقدار p-value بین این دو ارتباط معنی داری وجود داشت (P=۰/۰۱۴). از ۵ نفری که سرولوژی منفی بودند ۴ نفر مارش I و ۱ نفر مارش III داشتند. همچنین از ۴۵ نفر سرولوژی مثبت، ۹ نفر مارش I و ۹ نفر مارش II، ۲۷ نفر مارش III بودند (نمودار ۱).

## بحث و نتیجه‌گیری

بیماری سلپاک که به نام‌های اسپروی سلپاک و انتروپاتی حساس به گلوتن نیز نامیده می شود، یک اختلال خود ایمنی است. تا دهه قبل بیماری سلپاک بیماری نادری در نظر گرفته می شد، امروزه مطالعات مختلف حاکی از شیوع این بیماری در تمام نژادها می باشد (۹). مطالعات معدودی در خصوص شیوع سلپاک در ایران موجود است. در

ارتباط معنی داری میان نوع مارش و نتایج تست سرولوژی بودیم. به طوری که هر چه تیترا آنتی بادی بالاتر باشد، درجه مارش هم بالا و آسیب روده شدیدتر خواهد بود.

تلفیق آزمایشات سرولوژیک و آسیب شناسی روده برای تشخیص قطعی با کاستی هایی همراه است، به عنوان مثال در موارد ساب کلینیکال و خاموش بیماری (با طرح طبیعی از نظر هیستوپاتولوژی) و ناکافی بودن نمونه برداری از قسمت های مختلف روده باریک احتمال تشخیص نادرست وجود دارد. بهینه سازی تاثیر آزمایش ها با استفاده از پیشنهادات راشتاک و موری امکان پذیر می باشد. آنها استفاده از روش HLA Typing را به عنوان یک آزمایش با دقت و حساسیت بالا جهت رد کردن بیماری، زمانی که احتمال زیادی برای وجود بیماری سلیاک می باشد و آزمایشات سرولوژیک را به عنوان یک آزمایش تصدیق کننده با اختصاصیت بالا هنگامی که احتمال کمی برای وجود بیماری هست، پیشنهاد می کنند (۱۵). در پایان لزوم نمونه برداری به میزان کافی و همچنین انجام تست سرولوژی آنتی اندومیزیال برای تشخیص بهتر سلیاک به همکاران توصیه می گردد. امید است در آینده مطالعات جامع تری در مورد مسایل تشخیصی سلیاک به عمل آید.

### تشکر و قدردانی

نتایج این مقاله مربوط به پایان نامه خانم سمیه نیپاک، مصوب در مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز (با کد RDC-9315) می باشد. از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز و مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به سبب حمایت از این طرح سپاسگزاری می گردد. نویسندگان این مطالعه از تمامی بیمارانی که در این مطالعه شرکت نمودند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

یک بررسی در شهر تهران در میان اهداکنندگان سالم خون، شیوع سلیاک ۱ در ۱۶۶ فرد سالم گزارش شده است (۱۰). طبق اکثر مطالعات انجام شده جهت تشخیص این بیماری ابتدا ارزیابی با تست های سرولوژیک انجام می شود و هنگامی که تست سرولوژی مثبت باشد باید جهت تایید، نمونه برداری از روده باریک انجام شود. آنتی بادی ضد گلیادین حساسیت پایینی دارد و نتایج مثبت کاذب این تست شایع است و در حال حاضر این تست برای تشخیص کاربردی ندارد (۱۱). بر اساس مطالعات انجام شده تست سرولوژیک آنتی بادی ضد ترانس گلوتامیناز بافتی حساسیت و اختصاصیت بالایی دارد. توری و همکاران بیان کردند که وجود این آنتی بادی با درجه آتروفی پرزها نیز مرتبط است (۱۲). در بررسی اکبری و همکاران بهترین تست تشخیصی anti-TTG IgA ذکر شده است (۱۱). موبارک و همکاران نشان دادند که در بیمارانی با سطوح بالای TTTG آنتی بادی، برای تشخیص سلیاک نیازی به بیوپسی روده باریک وجود ندارد (۱۳).

بارکر و همکاران با بررسی هایی روی ۴۹ کودک با علائم سلیاک، مشاهده کردند که ۴۸ نفر از ۴۹ بیمار با تست anti-TTG IgA مثبت دارای مارش II بودند (۱۴).

دونالدسون و همکاران با بررسی ۳۸ بیمار با تست TTTG آنتی بادی مثبت مشاهده کردند که تمام بیماران دارای مارش III بودند (۱۵). در این مطالعه نتایج بیوپسی تمام بیماران با سرولوژی مثبت، ابتلا روده را نشان داد و ۲۷ نفر از بیماران دارای نتایج بیوپسی به شکل درجات بالای مارش بودند. دلیل بالا بودن درجات مارش در بیماران مطالعه حاضر ناشی از تشخیص دیر هنگام بیماری و انجام مطالعه در حجم نمونه کم بود. بیشتر بیماران در گروه سنی ۱۰-۶ بودند، با این حال هیچ ارتباطی میان سن بیماران و نوع مارش روده مشاهده نشد. همین نتیجه در مورد ارتباط سن و تست سرولوژی به دست آمد. همچنین ما شاهد

## References

1. Green PHR, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med. Mass Medical Soc*; 2007;357(17):1731-1743.
2. Rostami K, Malekzadeh R, Shahbazkhani B, Akbari MR, Catassi C. Coeliac disease in Middle Eastern countries: a challenge for the evolutionary history of this complex disorder? *Dig liver Dis. Elsevier*; 2004;36(10):694-697.
3. Boscolo S, Baldas V, Gobbi G, Giordano L, Cioni G, Not T, et al. Anti-brain but not celiac disease antibodies in Landau-Kleffner syndrome and related epilepsies. *J Neuroimmunol. Elsevier*; 2005;160(1):228-232.
4. Green PHR. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology. Elsevier*; 2005;128(4):S74-78.
5. Ford AC, Chey WD, Talley NJ, Malhotra A, Spiegel BMR, Moayyedi P. Yield of diagnostic tests for celiac disease in individuals with symptoms suggestive of irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med. American Medical Association*; 2009;169(7):651-658.
6. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol. Nature Publishing Group*; 2013;108(5):656-676.
7. Kapitany A, Toth L, Tumpek J, Sipos E, Woolley N, Partanen J, et al. Diagnostic significance of HLA-DQ typing in patients with previous coeliac disease diagnosis based on histology alone. *Aliment Pharmacol Ther. Wiley Online Library*; 2006;24(9):1395-1402.
8. Dickson BC, Streutker CJ, Chetty R. Coeliac disease: an update for pathologists. *J Clin Pathol. BMJ Publishing Group Ltd and Association of Clinical Pathologists*; 2006;59(10):1008-1016.
9. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med. American Medical Association*; 2003;163(3):286-292.
10. Shahbazkhani B, Malekzadeh R, Sotoudeh M, Moghadam KF, Farhadi M, Ansari R, et al. High prevalence of coeliac disease in apparently healthy Iranian blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol. LWW*; 2003;15(5):475 - hyhen.
11. Akbari MR, Mohammadkhani A, Fakheri H, Zahedi MJ, Shahbazkhani B, Nouraie M, et al. Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *Eur J Gastroenterol Hepatol. LWW*; 2006;18(11):1181-1186.
12. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM. Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease. *J Clin Gastroenterol. LWW*; 2003;36(3):219-221.
13. Mubarak A, Wolters VM, Gmelig-Meyling FHJ, ten Kate FJW, Houwen RHJ. Tissue

- transglutaminase levels above 100 U/mL and celiac disease: a prospective study. *World J Gastroenterol WJG*. Baishideng Publishing Group Co., Ltd.; 2012;18(32):4399.
14. Barker CC, Mitton C, Jevon G, Mock T. Can tissue transglutaminase antibody titers replace small-bowel biopsy to diagnose celiac disease in select pediatric populations? *Pediatrics. Am Acad Pediatrics*; 2005;115(5):1341-1346.
15. Donaldson MR, Firth SD, Wimpee H, Leiferman KM, Zone JJ, Horsley W, et al. Correlation of duodenal histology with tissue transglutaminase and endomysial antibody levels in pediatric celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol. Elsevier*; 2007;5(5):567-573.