

Вохмянина Н.В., Вавилова Т.В.

Принципы лабораторной диагностики целиакии. Критерии и алгоритмы обследования

Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург

Vokhmyanina N.V., Vavilova T.V.

Specific principles of celiac disease diagnostics, clinical laboratory criteria and diagnostical algorithmes

Резюме

Целиакия, как мультифакторное заболевание, характеризуется клиническим полиморфизмом и многочисленностью трудно диагностируемых форм, составляющих до 59% у взрослого контингента больных целиакией и до 40% - в детской возрастной категории. Долгое отсутствие лечения сказывается на тяжести клинических проявлений, приводит к развитию частых аутоиммунных осложнений и онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта. Четко обозначенные принципы диагностики целиакии, с учетом вновь сформулированных и известных клинико-лабораторных критериев, реализованные в алгоритмах обследования, позволяют своевременно выявлять целиакию, что существенно снизит процент не диагностируемых форм и будет способствовать эффективному лечению и мониторингу диетотерапии.

Ключевые слова: целиакия, принципы диагностики, алгоритмы обследования, эффективность диагностики

Summary

Celiac disease is multifactorial disease characterised by clinical polymorphism and a variety of rare diagnosed forms (59% in adults and 40% in infants). Delayed treatment affects severity of clinical manifestations and causes frequent autoimmune complications and gastrointestinal cancer. Specific principles of celiac disease diagnostics, with considering new and existing clinical laboratory criteria, which are implemented in diagnostical algorithmes, allows us to reveal celiac disease in time and to decrease a part of non-diagnosed forms and will contribute effective treatment with monitoring of dietotherapy.

Key words: celiac disease, specific principles of celiac disease diagnostics, diagnostical algorithmes, effective diagnostics

Введение

Целиакия, как одно из самых частых мультифакторных заболеваний (частота встречаемости составляет 1-3% от численности Европейской популяции), характеризуется клиническим полиморфизмом и многочисленностью трудно диагностируемых форм, составляющих до 59% у взрослого контингента больных целиакией и до 40% - в детской возрастной категории [1,2,3,4]. Сложности в клинической диагностике целиакии усугубляются несовершенством лабораторных маркеров, что в целом определяет возможность получения ложноотрицательных результатов (по данным разных авторов, от 6,0% до 22%), особенно, при начальных признаках поражения СОТК [5]. Недостаточная диагностическая эффективность и увеличивающаяся распространенность целиакии привели к необходимости разработки новых рекомендаций. Принятые в 2012 году Европейским обществом педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и нутрициологии. (ESPGHAN), в 2013 году Американской коллегией гастроэнтерологов и Всемирной организацией гастроэнтерологов последние рекомендации по диагностике и лечению целиакии у детей

и взрослых выявили разный диагностический подход и отличающуюся оценку диагностических возможностей лабораторных тестов, что определяет дальнейшее совершенствование протоколов обследования [2,5,6]. В России в 2014 году приняты Национальные рекомендации по диагностике и лечению целиакии взрослых [7]. В 2015 году утверждены Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с целиакией [8]. Тем не менее, задача своевременного выявления целиакии продолжает оставаться актуальной в связи с отсутствием четко обозначенных принципов лабораторной диагностики, диагностической информативности тестов и единого комплексного диагностического подхода с учетом системного анализа накопленных данных, реализованных в алгоритме обследования. В связи с этим по-прежнему продолжает оставаться проблемным и спорным своевременное выявление целиакии, мониторинг диетотерапии и, как следствие, минимизация осложнений.

Цель работы: обосновать принципы и алгоритмы лабораторной диагностики целиакии для своевременного выявления заболевания и оптимизации терапии.

Таблица 1. Диагностическая информативность маркеров целиакии

Антитела	Чувст. (%)	Спец. (%)	ОП		ПЦ (%)	
			ОПП	ОПО	ПЦПР	ПЦОР
IgA-ЕМА	93,1	97,8	43,62	0,07	96,5	96,8
IgA - ТТА	94,8	96,7	28,52	0,05	94,7	95,7
IgG - ТТА	84,2	89,8	7,77	0,17	83,1	90,1
IgA-ТТ-д	95	93,5	14,72	0,063	82,6	98,3
IgA-ДПГА	94,7	91,8	11,61	0,06	80,3	94,7
IgG-ДПГА	94,7	93,8	15,47	0,06	84,2	96,5
IgA-АГА	86,7	89,2	8,02	0,27	83,7	90,3
IgG-АГА	93,3	61,4	4,02	0,73	80,2	88,9
HLA-DQ2,DQ8	100	56	4,1	0	40	99,8

Примечание. АГА – антитела к глиадину, ТТА- антитела к тканевой трансглутаминазе, ДПГА - антитела к дезаминированным пептидам глиадина, ЕМА- антитела к эндомизину, ТТ-д-субэпителиальные депозита к тканевой трансглутаминазе в СОТК, HLA-DQ2,DQ8- продукты HLA-генов (DQA1, DQB1), ПЦПР-предсказательная ценность положительного результата, ПЦОР- предсказательная ценность отрицательного результата, ОПП-отношение правдоподобия положительного результата, ОПО-отношение правдоподобия отрицательного результата.

Материал и методы

Материалом для исследования служили образцы венозной крови, полученной у 1551 пациентов, проходивших обследование и лечение в период с 2004 по 2013 гг.

Основная группа. В эту группу вошли 354 больных целиакией. Из них 92 пациента с впервые выявленной целиакией до начала терапии и 262 пациента с установленным диагнозом «целиакия», находящиеся не менее года на безглютеновой диете. Средний возраст составил 26,7±12,8 лет.

Группа сравнения. Группу сравнения (1197) составили пациенты, у которых диагноз «целиакия» не был подтвержден с учетом установленных критериев. Средний возраст пациентов группы сравнения 30,5±11,6 лет.

Концентрацию антиглиадиновых (АГА), тканевых трансглутаминовых антител (ТТА), антител к дезаминированным пептидам глиадина (ДПГА) определяли твердофазным иммуноферментным методом. Эндомизидные антитела (ЕМА) выявляли методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием криостатных срезов эндомизия пищевода обезьяны в качестве субстрата.

Для ПЦР-анализа использовали образцы цельной венозной крови, в качестве антикоагулянта применялся ЭДТА. Идентификацию аллельных вариантов HLA-генов проводили гель-электрофорезом в проходящем УФ-световом потоке.

Уровень субэпителиальных антител к тканевой трансглутаминазе (ТТ-д) в биоптатах слизистой оболочки тонкой кишки (СОТК) определяли иммуноферментным методом после их предварительной элюции из образцов СОТК (Korponay-Szabo IR, 2004).

Для гистологического исследования биоптатов применяли световую микроскопию с предварительным окрашиванием препаратов гематоксилином и эозином.

Стадии изменений морфологической картины СОТК оценивали по классификации, предложенной N.Marsh (N.Marsh, 1995).

Статистическая обработка данных проводилась методами описательной статистики, сравнения выборок с использованием параметрических и непараметрических критериев (U-критерий Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова), анализа таблиц сопряженности с применением критерия хи-квадрата и поправкой Йетса, точного двустороннего критерия Фишера. Для оценки корреляционных связей использовались коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена. Уровень статистической значимости различий принят равным 0,05. Для обработки данных использовали программы: STATISTICA Ver.6, Excel 2007, AtteStat-10.10.2, StatXact-8, Clopper-Pearson.xls, DAG Stat.xls, Post Test Probabilities.exe, Arlequin, Ver. 3.5.1.2, GenAlEx-6.3, GENEPOP, Ver. 4.0.10, PowerMarker-3.25, Learn Bayes, Ver. 2.0, SANCT, MedCalc, Ver. 11.5.1.0.

Результаты и обсуждение

Проведено комплексное изучение современных лабораторных маркеров и получены операционные характеристики, на основании которых проведена оценка диагностической информативности изученных лабораторных тестов и выполнена процедура их приоритетного выбора, которая привела к исключению из перечня таких неинформативных лабораторных исследований, как IgA-АГА, IgG-АГА и IgG-ТТА (таблица 1).

Дальнейшее ранжирование диагностической ценности лабораторных тестов, проведенное с помощью статистического анализа деревьев решений (decision tree), выявило неэффективность самостоятельного использования отдельных тестов и определило необходимость подбора оптимальных комбинаций лабораторных исследований

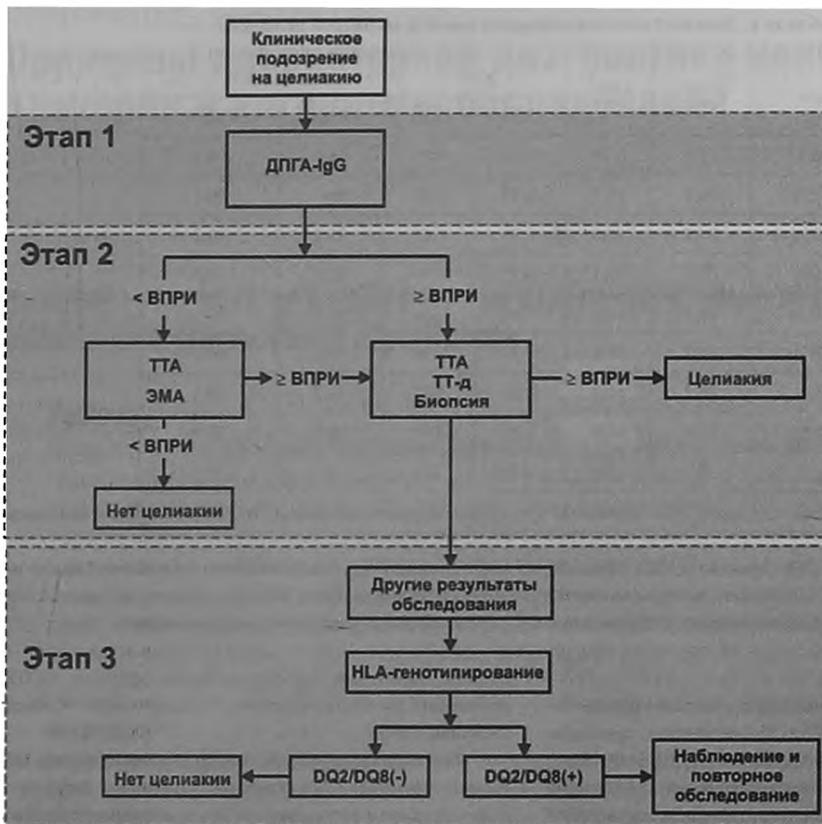


Рисунок 1. Алгоритм обследования пациентов с клиническим подозрением на целиакию
Примечание. ДПГА- антитела к дезаминированным пептидам глиадина; ТТА- антитела к тканевой трансглутаминазе, ЭМА- антитела к эндомизию; ТТ-д субэпителиальные депозиты к тканевой трансглутаминазе; ВПРИ-верхний предел референтного интервала; DQ2/DQ8-HLA-молекулы

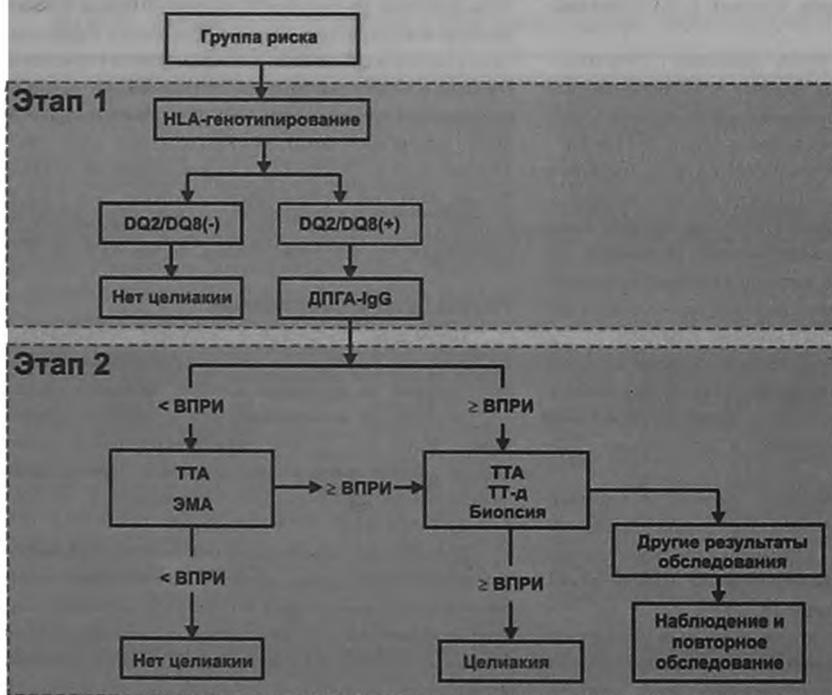


Рисунок 2. Алгоритм обследования лиц, входящих в группы риска
Примечание. ДПГА- антитела к дезаминированным пептидам глиадина; ТТА- антитела к тканевой трансглутаминазе, ЭМА- антитела к эндомизию; ТТ-д субэпителиальные депозиты к тканевой трансглутаминазе; ВПРИ-верхний предел референтного интервала; DQ2/DQ8-HLA-молекулы

с последовательным их выполнением и формированием диагностических этапов. Для этого на основании принципа системной интеграции, предусматривающего использование максимальных операционных характеристик тестов за счет модификации точки отсечения и сокращение «серой зоны» (вероятность сомнительного результата), подразумевающих уменьшение диагностических ошибок, была проведена комбинация лабораторных тестов и выбраны их оптимальные варианты. Так, комбинация тестов ЭМА + IgA-ТТА (прогностическая ценность отрицательного результата - 100%) является оптимальной для исключения целиакии, а комбинация тестов IgA-ТТА + ТТ-д + исследование биопсийного материала СОТК (прогностическая ценность положительного 100%) – для подтверждения заболевания. Для формирования диагностических этапов и последовательного их выполнения применялся принцип этапности, подразумевающий оценку клинической информативности лабораторных тестов для обоснования целесообразности каждого этапа. На основании принципа этапности в алгоритм диагностики включены несколько этапов: на первом этапе - определение ДППА-IgG, как маркера, определяющего меньшее количество ложноположительных результатов и исключение селективного IgA-дефицита, с последующей оценкой ЭМА, ТТА, ТТ-д, исследованием биопсийного материала и молекулярно-диагностическим подтверждением носительства HLA-галлотипов (рисункі).

Последовательное соблюдение этапности подчиняется принципу взаимозависимости, который выстраивает зависимость выполнения каждого этапа от выполнения предыдущего и последующего этапов, без смещения или отсутствия одного из этапов. Такой подход снижает диагностические пропуски и не приводит к усложнению процесса дифференциальной диагностики. Принципы этапности, взаимозависимости и системной интеграции предполагают создание целостности диагностической системы, с подчинением принципу синергизма, по которому эффективность работы единой диагностической системы должна быть выше, чем эффективность отдельных ее составляющих.

Заключение

Таким образом, на основании принципа системной интеграции были определены оптимальные комбинации тестов и сформированы следующие диагностические критерии:

- диагностический критерий исключения целиакии – комбинация тестов ЭМА+IgA-ТТА (прогностическая ценность отрицательного результата - 100%);
- диагностический критерий подтверждения целиакии – комбинация тестов IgA-ТТА+биопсия+ТТ-д (прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов 100%).

Помимо этого, комплексное изучение лабораторных тестов с учетом полученных результатов, дополнило диагностические критерии целиакии:

- диагностический критерий исключения целиакии для пациентов, имеющих генетический риск - HLA-тест

(прогностическая ценность отрицательного результата - 99,8%). Представленные принципы и клинико-диагностические критерии были реализованы в алгоритмы обследования (рисунок 1,2).

Представленные алгоритмы обследования апробированы в СПб ГКУЗ «Диагностический (медико-генетический) центр». Выявлены следующие преимущества диагностических алгоритмов:

- использование 100% предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов при применении оптимальных комбинаций лабораторных тестов предполагает четкую связь обнаруженных отклонений с наличием или отсутствием целиакии;
- сокращение сроков обследования – исключение целиакии уже на начальном этапе по результатам комбинации ЭМА+ТТА и по HLA-генотипированию (без проведения биопсии, запись на проведение и ожидание результатов биопсии занимает в среднем 3-4 недели);
- уменьшение результатов «серой зоны» благодаря использованию максимальных операционных характеристик тестов за счет оптимальной комбинации лабораторных тестов;
- обеспечение выявления селективного IgA-дефицита у больных целиакией без введения в алгоритм обследования дополнительного теста;
- экономичность диагностического алгоритма за счет использования дорогостоящих лабораторных исследований (HLA-генотипирование) только в отдельных случаях: на начальных этапах диагностики – в группах риска, на заключительных этапах – при неоднозначных результатах обследования лиц с подозрением на заболевание; а также за счет уменьшения количества лабораторных тестов при использовании их в оптимально подобранной комбинации.

Высокая установленная диагностическая эффективность алгоритма, которая составила 97,4%, позволила снизить диагностические пропуски и обеспечить своевременное назначение лечения. ■

Вохмянина Н.В. канд.мед.наук; Вавилова Т.В. доктор мед.наук, профессор; Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург; Автор, ответственный за переписку - Вохмянина Наталья Васильевна, 194044, Санкт-Петербург, ул. Тобольская д.5, тел.: (812)2947003, моб.: +7-921-5898356, e-mail: spbnat@yandex.ru

Литература:

1. Koning F. *Celiac Disease: Across the Threshold of Tolerance Pediatric and Adolescent Medicine. Frontiers in Celiac Disease 2008; 12: 82-88.*
2. Bai J.C., Fried M., Corazza G.R. et al. *World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease. J Clin Gastroenterol 2013; 47: 121.*
3. Lionetti E., Catassi C. *New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations and Treatment. Int Rev Immunol 2011; 30(4): 219-231.*
4. Ludvigsson J., Leffler D., Bai J. et al. *The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. Gut 2013; 62(1): 43-52.*
5. Rubio-Tapia A., Hill I.D., Ciarán P. et al. *Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. Am J Gastroenterol 2013; 108: 656-676.*
6. Husby S., Koletzko S., Korponay-Szabol R. et al. *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 136-160.*
7. *Рекомендации по диагностике и лечению целиакии взрослых. 2014: 24.*
8. *Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с целиакией. Министерство Здравоохранения Российской Федерации. Союз педиатров России. 2015: 22.*