وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

صلاحية الفحوص المصلية لمرض حساسية القمح (السيلياك)عند الأطفال في محافظة ديالى

رسالة مقدمة

الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة - الأحياء المجهرية

من قبل الطالبة

شهد خليل إبراهيم القيسي

بإشراف

أ.م.د عبدالرزاق شفيق حسن
كلية الطب البيطري/جامعة ديالى

أ.م.د ناظم غزال نعمان
كلية الطب/جامعة ديالى

1434هـ

2013م

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمنِ الرَّحِيمِ

(فَتَعَالَى اللَّهُ الْمَلِكُ الْحَقُّ وَلَا تَعْجَلْ بِالْقُرْآنِ مِن قَبْلِ أَن يُقْضَى إِلَيْكَ وَحْيُهُ وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْماً)

صدق الله العظيم

سورة طه: الآية :114

الإهداء

إلى من كلت أناملهم ليقدموا لنا لحظة سعادة. . . إلى من حصدوا الأشواك عن دربي ليمهدوا لي طريق العلم. . .إلى روضة الحب التي تنبت أزكى الأزهار. . .

أمي وأبي

إلى القلب الكبير، إلى الذي منه أستمد عزي وإصراري وبه أزداد إفتخاراً

زوجي

إلى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس البريئة, إلى رياحين حياتي

ابنتي(جنى وريانه)

إلى الذين بذلوا كل جهد وعطاء لكي أصل إلى هذه اللحظة أساتذتي الكرام امتناناً وتقديرا .

— شهد

بسم الله الرحمن الرحيم

اقرار المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا

نشهد بان إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ(**صلاحية الفحوص المصلية لمرض حساسية القمح (السيلياك)عند الأطفال في محافظة ديالى**) التي قدمتها طالبة الماجستير (**شهد خليل إبراهيم القيسي**) كانت بإشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/الأحياء المجهرية.

التوقيع:

المشرف: د.عبدالرزاق شفيق حسن

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

كلية الطب البيطري/جامعة ديالى

/ /2013

التوقيع:

المشرف: د.ناظم غزال نعمان

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

كلية الطب/ جامعة ديالى

/ / 2013

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناء على التوجيهات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة:

التوقيع

ا.م.د.نجم عبدالله جمعة

رئيس لجنة الدراسات العليا / رئيس قسم علوم الحياة

/ / 2013

إقرار الخبير اللغوي

اشهد إن هذه الرسالة الموسومة بـ (**صلاحية الفحوص المصلية لمرض حساسية القمح (السيلياك)عند الأطفال في محافظة ديالى**).المقدمة من قبل طالبة الماجستير (**شهد خليل إبراهيم القيسي**) قسم علوم الحياة /الأحياء المجهرية قد تم مراجعتها من الناحية اللغوية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

التاريخ: / /2012

إقرار الخبير العلمي

اشهد إن هذه الرسالة الموسومة بـ (**صلاحية الفحوص المصلية لمرض حساسية القمح (السيلياك) عند الأطفال في محافظة ديالى**). المقدمة من قبل طالبة الدراسات الماجستير (**شهد خليل إبراهيم القيسي**) قسم علوم الحياة/ الأحياء المجهرية قد تم مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الأسم:

المرتبة العلمية:

التاريخ: / /2012

اقرار لجنة المناقشة

نشهد أننا أعضاء لجنة المناقشة أطلعنا على الرسالة الموسومة **بـ(صلاحية الفحوص المصلية لمرض حساسية القمح (السيلياك) عند الأطفال في محافظة ديالى)**، وقد ناقشنا الطالبة **(شهد خليل ابراهيم القيسي)** في محتوياتها، وفي ماله علاقة بها، ونعتقد أنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة – أحياء مجهرية بتقدير ( ).

التوقيع: التوقيع: التوقيع:

الأسم:أ.د.ماجد محمد محمود الأسم:أ.م.د.مهدي شمخي جبر الأسم:أ.د.عباس عبود فرحان

عضواً عضواً رئيساً

/ /2013 م / /2013 م / /2013 م

التوقيع: التوقيع:

الأسم:أ.م.د.عبدالرزاق شفيق حسن الأسم:أ.م.د.ناظم غزال نعمان

عضواً ومشرفاً عضواً ومشرفاً

التاريخ: / /2013 م التاريخ: / /2013 م

صدقت من قبل مجلس كلية التربية– للعلوم الصرفة–جامعة ديالى.

التوقيع:

أ.د.عباس عبود فرحان

عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: / /2013 م

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين الذي يسر لي أمري والذي أنار لي عقلي و دربي أحمده حمداً كثيراً سعة عرشه وعدد خلقه، والصلاة والسلام على سيد الخلق أجمعين محمد الهادي الأمين وعلى آله وصحبه أجمعين ومن تبعهم بإحسان إلى يوم الدين.

أتقدم بخالص شكري وتقديري إلى مشرفي الأستاذ المساعد الدكتور **عبدالرزاق شفيق حسن** عميد كلية الطب البيطري/ جامعة ديالى على متابعته المستمرة وملاحظته القيمة، وتشجيعه المستمر كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ المساعد الدكتور الفاضل **ناظم غزال نعمان** .

أتقدم بالشكر والتقدير إلى عمادة الكلية وأخص بالشكر الأستاذ الدكتور **عباس عبود فرحان** عميد كلية التربية للعلوم الصرفة وقسم علوم الحياة والأساتذة ومنتسبي قسم الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة.

يسعدني أن أتقدم بالشكر الجزيل إلى الدكتور **معن بكر قدوري** مدير مستشفى البتول التعليمي للنسائية والأطفال، وأطباء الأطفال جميعاً، ومنتسبي المختبرات في المستشفى المذكور الذين أحاطوني بالاهتمام والمساعدة في جمع النماذج المرضية. وكما يسعدني أن أقدم خالص شكري إلى السيد فراس عطا والست منال عبداللطيف في شعبة الفيروسات/ مختبر الصحة العام الذين قدما يد العون والمساعدة لي.

ويدعوني الامتنان والاعتراف بالجميل أن أقدم خالص شكري وتقديري إلى عائلتي الكريمة وكل من أعانني بنصيحة أو ملاحظة لانجاز هذا العمل العلمي والشكر أولا وأخيراً لله سبحانه وتعالى.

وفق الله الجميع

— الباحثة

خلاصة البحث

يعد مرض حساسية القمح (السيلياك) اعتلالاً معوياً ويكون مقتصراً أكثر على الاطفال اذ تقدر نسب الأصابة العالمية حوالي (0.5-1%)، أجريت هذه الدراسة المقطعية في محافظة ديالى للفترة من (4 أيلول 2011 – 12 نيسان 2012) في مستشفى البتول التعليمي للنسائية والأطفال. تهدف الدراسة الى تحديد مدى صلاحية ودقة الفحوص المصلية لتشخيص مرض حساسية القمح (السيلياك) بين الأطفال من عمر(1شهر-14سنة) ممن يتوقع أصابتهم سريرياً بمرض حساسية القمح في محافظة ديالى و لتحديد العلاقة بين مرض حساسية القمح (السيلياك) والعلامات السريرية وكذلك نتائج الفحوص الكيموحيوية والفحوص الدموية.

شملت الدراسة مجموعتين من الأطفال وهما مجموعة المرضى اذ تضمنت 156 طفلا مشكوك بإصابتهم سريريا بمرض حساسية القمح و مجموعة السيطرة اذ تضمنت 24 طفلا أصحاء ظاهريا. أعدت استمارة خاصة لجمع المعلومات المطلوبة من المرضى في الدراسة من خلال مقابلة مع ذويهم . جمعت عينات الدم من المجموعتين وأجريت فحوص الدم والفحوصات الكيموحيوية (فحص تحديد تركيز الكالسيوم وفحص تحديد تركيز الزلال) وفحص التحري عن بروتين (سي) التفاعلي في مختبرات مستشفى البتول التعليمي للنسائية والاطفال، وأجري فحص التحري عن الضدات النوعية IgA للكلايدين وفحص التحري عن الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز بتقنية الأليزا في مختبر الصحة العامة في بعقوبة.

أظهرت النتائج ان تركيز الضدات النوعية IgA للكلايدين في مجموعة مرضى السيلياك المؤكد كانت أعلى بشكل معنوي($P<0.001$) عما هو لدى مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد وكذلك تركيز الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز كان أعلى بشكل معنوي ($P<0.001$) عماهو عليه لدى مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد. في حين لم يكن هنالك

فارق معنوي في تركيز الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز والكلايدين في مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد مقارنة بمجموعة السيطرة. أظهرت النتائج أيضا أن تركيز الكالسيوم في أمصال مجموعة مرضى السيلياك المؤكد اقل بشكل معنوي (P<0.001) عما هو عليه لدى مجموعة السيطرة وبالمثل كان تركيز الكالسيوم في أمصال مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد اقل بشكل معنوي (p=0.001)، أيضا لم تظهر النتائج وجود فارق معنوي احصائيا (P=0.49) لتركيز خضاب الدم بين مجاميع الدراسة. أظهرت النتائج ان تركيز بروتين (سي) التفاعلي أعلى بشكل معنوي احصائي (P=0.017) لدى مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد مقارنة عما هو لدى مجموعة السيطرة وبالمثل فقد كان تركيز بروتين (سي) التفاعلي لدى مجموعة مرضى السيلياك المؤكد أعلى بشكل معنوي احصائي (P=0.034) مقارنة بما هو عليه لدى مجموعة السيطرة في حين لم يكن هنالك فارق احصائي معنوي (P=0.53) بين مجموعة مرضى السيلياك المؤكد ومجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد.

أظهرت الدراسة فيما يخص الاعراض المرضية وعلاقتها بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم تلك الاعراض بان ألم البطن وجد في 17.1 % من مرضى السيلياك في حين سجلت هذه العلامة المرضية لدى82.9 % بين مرضى السيلياك غير المؤكد ولم تكن العلاقة معنوية احصائياً (P=0.46)، لكن عامل الخطورة يبين ان وجود هذه العلامة المرضية يزيد من احتمالية تشخيص المرض 2.8 مرة أكثر من عدم وجودها. أظهرت الدراسة بان أكثر الاعراض المرضية تأثيراً على تشخيص المرض هو وجود النوع الاول من داء السكري وبالرغم من ذلك كانت العلاقة غير معنوية احصائياً (P=0.10)، وكذلك فإن وجود انتفاخ البطن وقصر القامة يزيد من احتمالية تشخيص المرض لكن تبقى العلاقات غير معنوية في الحالتين (P=0.6) و(P0.87) على التوالي. اظهرت الدراسة بان اجتماع ثلاث الى اربع

من العلامات المرضية الموجبة فإن ذلك سيجعل العلاقة بين وجود تلك العلامات وتشخيص المرض معنوية (P=0.005) .

اظهرت النتائج بان أعلى نسبة للإصابة بالمرض 13% كانت بين الفئة العمرية (1-5) سنة مقارنة بالفئات العمرية الاخرى ولم تكن العلاقة معنوية احصائياً (P=0.35). اما فيما يخص الجنس فقد أظهرت النتائج بأن المرض كان أعلى لدى الذكور 12.7% مقارنة بالإناث 7.5% ولم تكن العلاقة معنوية احصائياً (P=0.28). اظهرت النتائج بان المرض كان اكثر انتشارا لدى المرضى الذين يقطنون المناطق الحضرية مقارنة بأولئك الذين يقطنون المناطق الريفية ولم تكن العلاقة معنوية احصائياً(P=0.11). ان وجود المرض في العوائل ذات التاريخ الايجابي اعلى مما هو عليه في العوائل التي لا تمتلك تاريخاً عائلياً (16.7% مقابل 8.7%) على التوالي.

أظهرت الدراسة العلاقة بين وجود الضدات النوعية IgA للكلايدين واحتمالية تشخيص المرض فقد وجد ان الضدات النوعية كانت ايجابية لدى 57.7% من مرضى السيلياك المؤكد وكانت ايجابية لدى 42.3 % من مرضى السيلياك غير المؤكد وبفارق معنوي احصائي (P<0.001)، أما الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز فقد كانت ايجابية لدى 65.2 % مقابل 34.8 % من مرضى السيلياك غير المؤكد وبفارق معنوي احصائي (P<0.001).

تستنتج الدراسة بأن اختبار التحري عن الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز والكلايدين هي طريقة تشخيصية وأن وجود ضدات الكلايدين والترانسكلوتاميناز في مصل الشخص هي دليل قوي على وجود مرض السيلياك أذ بلغت حساسية الاختبار لكليهما 100%. وقد أظهرت الدراسة بأن وجود أحدى الأضداد النوعية IgA للكلايدين أو الأضداد النوعية IgA للترانسكلوتاميناز في مصل الشخص المشكوك بإصابته ليس كافياً للتشخيص النهائي للمرض.

أظهرت الدراسة بأن الفحوصات الكيموحيوية و فحص الدم وفحص بروتين (سي) التفاعلي هي فحوصات تساعد في تشخيص المرض وان هناك علاقة بين هذه الفحوصات ومرض السيلياك لكنها ليست كافية للتشخيص النهائي للمرض .

قائمة المختصرات

AGA	Antigliadin antibody
APC	Antigen presenting cells
CD	Cluster of differentiation
DGP	Deamidated gliadin peptide
ELISA	Enzyme-linked Immuno sorbent assay
EMA	Endomysial antibody
GFD	Gluten-free diet
HLA	Human leucocyte antigen
IBS	Irritable bowel syndrome
IEL	Intra-epithelial lymphocyte
IF	Interferon
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
MHC	Major histocomptiblity complex
NK	Natural killer cell
NS	Non significant
OD	Optical density
OR	Odds ratio
T-cell	T-lymphocyte
TMB	Tetra Methyl Benzide
TNF	Tumor necrosis factor
TTG	Anti-tissue transglutaminase antibody
Vp	Virus protein

قائمة المصطلحات

Celiac disease	حساسية القمح(السيلياك)
Osteopenia	هشاشة العظام
Biopsy	الخزعة النسيجية
Typical celiac disease	السيلياك النموذجي
Silent celiac disease	مرض السيلياك الصامت
Potential celiac disease	مرض السيلياك الكامن
Gliadin	كلايدين
Glutenin	كلوتينين

قائمة الجداول

التسلسل	الموضوع	الصفحة
(1-2)	الأعراض والمظاهر المرتبطة بمرض السيلياك.	16
(1-3)	الاجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة أثناء فترة الدراسة	24
(2-3)	العدد المختبرية ومناشئها المستخدمة في االدراسة.	25
(1-4)	المدى والمتوسط الحسابي لأعمار مجاميع الدراسة.	35
(2-4)	تركيز الضدات النوعية IgA للكلادين في مجاميع الدراسة.	36
(3-4)	تركيز الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في مجاميع الدراسة.	37
(4-4)	تركيز الكالسيوم في مجاميع الدراسة.	38
(5-4)	تركيز الالبومين في مجاميع الدراسة.	39
(6-4)	تركيز الهيموغلوبين في مجاميع الدراسة.	40
(7-4)	تركيز بروتين (سي) المنشط في مجاميع الدراسة.	41
(8-4)	علاقة الاعراض المرضية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية.	44
(9-4)	علاقة العوامل الديموغرافية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية.	48
(10-4)	اهمية العلامات المرضية والعوامل الديموغرافية في تشخيص المرض.	51
(11-4)	علاقة المعلمات المناعية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية.	53
(12-4)	ايجابية الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في مجاميع الدراسة.	54
(13-4)	ايجابية الضدات النوعية IgA للكلايدين في مجاميع الدراسة.	55
(14-4)	صلاحية الاختبارات المناعية في تشخيص مرض السيلياك.	57
(15-4)	اهمية المعلمات المناعية والاختبارات الكيموحيوية في تشخيص المرض.	58

(4-16)	قيم خاصية تشغيل المتلقي للاختبارات المناعية في تشخيص مرض السيلياك.	60
(4-17)	قيم خاصية تشغيل المتلقي للاختبارات الكيموحيوية للاستدلال على مرض السيلياك.	62

قائمة الأشكال

التسلسل	الموضوع	الصفحة
(1-2)	مخطط مبسط يوضح الأستجابة المناعية التكيفية للكلوتين في مرض السيلياك منذ بدء هضم الكلوتين الى الضرر الحاصل بالامعاء.	6
(2-2)	يوضح الجبل الجليدي لمرض السيلياك.	12
(1-4)	يبين خاصية تشغيل المتلقي للأختبارات المناعية.	60
(2-4)	يبين خاصية تشغيل المتلقي للأختبارات الكيموحيوية .	61

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	الآية القرآنية	ii
	الاهداء	iii
	اقرار المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا	iv
	اقرار الخبير اللغوي	v
	اقرار الخبير العلمي	vi
	اقرار لجنة المناقشة	vii
	الشكر والتقدير	viii
	الخلاصة	iX
	قائمة المختصرات	xiii
	قائمة المصطلحات	xiv
	قائمة الجداول	xv
	قائمة الاشكال	xvii
الفصل الاول: المقدمة والهدف من الدراسة		
1.1	المقدمة Introduction	1
2.1	الهدف من الدراسة: Aim Of study	2
الفصل الثاني استعراض المراجعLiterature review		
1.2	تعريف المرض	3

.2.2	نبذة تاريخية	3
.3.2	الوبائية:Epidemiology	4
.4.2	الإمراضية: pathogenesis	6
.5.2	العوامل البيئية: Enviromental factors	10
.6.2	الأعراض والعلامات السريرية:	12
.1.6.2	مرض السيلياك النموذجي أو المثالي : Typical celiac disease	12
.2.6.2	مرض السيلياك غير النموذجي: Atypical celiac disease	12
.3.6.2	مرض السيلياك الصامت: Silent celiac disease	15
.4.6.2	مرض السيلياك الكامن: Potential celiac disease	16
.7.2	الكلوتين محفز لمرض السيلياك: Gluten as aTrigger of celiac disease	17
.8.2	منع حدوث المرض : Prevention	18
.9.2	التشخيص المختبري للمرض: Diagnostic criteria for celiac disease	19
.1.9.2	الفحوصات المصلية :Serological tests	20
.1	ضدات الأندوميسال (EMA): Endomysial antibodies	20
.2	ضدات الكلايدين :Anti_gliadin antibodies (AGA)	21

.3	ضدات الترانسكلوتاميز Anti-Transglutaminase Abs:(TG)	21
.4	نزع الامين من ببتيدات الكلايدين (DGP) :	22
.2.9.2	الفحص الوراثي : HLA-typing	22
.3.9.2	فحوصات أخرى	22
.10.2	مرض السيلياك والامراض المناعة الذاتية المرتبطة معه: celiac disease associated with other autoimmune diseases	23
الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل:Materials and Methods		
.1.3	المواد Materials	24
.1.1.3	الاجهزة والمستلزمات المختبرية	24
.2.1.3	العدد المختبرية التشخيصية	25
.2.3	تصميم الدراسة: Study design	25
.1.2.3	مجاميع الدراسة: Study groups	25
.2.2.3	جمع النماذج	26
.3.3	طرائق العمل : Methods	27
.1.3.3	فحص تحديد تركيز الزلال في المصل	27
.1.1.3.3	مبدأ الاختبار: Test Principle	27
.2.1.3.3	طريقة العمل: Test procedure	27
.3.1.3.3	أستخلاص النتائج: Test interpretation	27

.2.3.3	فحص تحديد تركيز الكالسيوم في المصل	28
.1.2.3.3	مبدأ الاختبار: Test Principle	28
.2.2.3.3	طريقة العمل: Test Procedure	28
.3.2.3.3	استخلاص النتائج: Test interpretation	28
.3.3.3	فحص بروتين(سي) التفاعلي: C-Reactive protein	29
.1.3.3.3	مبدأ الاختبار: Test Principle	29
.2.3.3.3	طريقة العمل: Test Procedure	29
.1.2.3.3.3	الطريقة النوعية : Qualitative method	29
.2.2.3.3.3	الطريقة شبه الكمية: Semi-quantative method	29
.3.2.2.3.3.3	أستخلاص النتائج: Test interpretation	30
.4.3.3	طريقة حساب تركيز الهيموكلوبين في الدم : Hemoglobin concentration	30
.1.4.3.3	طريقة العمل: Test Procedure	30
.5.3.3	أختبار الكشف عن الضدات النوعية للكلايدين: Anti-gliadin IgA	30
.1.5.3.3	مبدأ الاختبار: Test Principle	31
.2.5.3.3	طريقة العمل: Test Procedure	31
.3.5.3.3	أستخلاص النتائج: Test interpretation	32

.6.3.3	أختبار التحري عن الضدات النوعية للترانسكلوتاميناز Anti-transglutaminase IgA Ab	32
.1.6.3.3	مبدأ الاختبار: Principle of the test	32
.2.6.3.3	طريقة العمل:Test Procedure	33
.3.2.6.3.3	أستخلاص النتائج: : Test interpretation	34
.7.3.3	التحليل الاحصائي للنتائج:Statistical Analysis	34
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة:Results and Disscusion		
1.4	مجاميع الدراسة	35
.2.4	الضدات النوعية IgA للكلايدين	36
.3.4	الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز	37
.4.4	تركيز الكالسيوم في المصل	38
.5.4	تركيز الالبومين في المصل	39
.6.4	تركيز الهيموغلوبين في الدم (خضاب الدم)	40
.7.4	تركيز بروتين (سي) المنشط	41
.8.4	الاعراض المرضية	42
.9.4	العوامل الديموغرافية	47
.10.4	اهمية العلامات المرضية والعوامل الديموغرافية	50
.11.4	المعلمات المناعية	51
.12.4	صلاحية المعلمات المناعية	56
.12.4	اهمية المعلمات المناعية والكيموحيوية	57

.13.4	خاصية التشغيل المتلقي: Receiver (ROC) Operating Characteristic	58
.1.13.4	خاصية التشغيل المتلقي للاختبارات المناعية	59
.2.13.4	خاصية التشغيل المتلقي للاختبارات الكيموحيوية	60
الاستنتاجات والتوصيات		
1 .5	الاستنتاجات	63
2 .5	التوصيات	64
	المصادر	65

الفصل الاول

المقدمة

الفصل الثاني

استعراض المراجع

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

الاستنتاجات والتوصيات

المصادر

1.المقدمة Introduction

1.1. المقدمة:

يعد مرض حساسية القمح(السيلياك) اعتلالاً معوياً يصيب الامعاء الدقيقة، وهو ناتج عن الاستجابة المناعية لهضم الكلوتين لاسيما في الاشخاص الذين لديهم قابلية وراثية للإصابة به والتي ترتبط بمستضد الخلية اللمفاوية (HLA)، اذ تؤدي الاستجابة المناعية الى حدوث ضرر على مستوى الزغابات مما يؤدي الى تسطحها وأرتشاحها بالخلايا الالتهابية وينتج عنه عدم أمتصاص المغذيات فيؤدي الى أعراض سوء التغذية نتيجة نقص المواد المغذية ويمكن أن تبدأ أعراض المرض في أي سن لكنها عادة ما تظهر في مرحلة الطفولة وبعد أدخال القمح في الطعام، ومن الاعراض التي يمكن ملاحظتها هي الاسهال، ونقص في الوزن، وبطء في النمو، وألم بطني، وفقر الدم نتيجة نقص أمتصاص الحديد وحامض الفوليك وفيتامين B12، وهشاشة العظام نتيجة لنقص فيتامين د والكالسيوم، وتأخر البلوغ عند المراهق وكذلك العقم وقد لا تلاحظ أي من هذه الاعراض فيكون المرض بشكل كامن ولذلك فإن العديد من الحالات غير مكتشفة، ويرتبط المرض بالعديد من أمراض المناعة الذاتية مثل السكري من النوع الاول . يعد المرض ذا أنتشار عالمي اذ يقدر أنتشاره بحوالي (0.5−1%) (Tommasini *et al.*,2004;Tack *et al.*,2010) .

تعد الفحوصات المصلية من الفحوصات المناسبة للكشف عن مرض السيلياك في الاشخاص الاصحاء والاشخاص المشكوك بإصابتهم سريريا بالمرض إذ ان الكشف عن الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز والضدات النوعية IgA للكلايدين بطريقة الاليزا هي طريقة سهلة وسريعة وغير مكلفة للكشف عن المرض. وعلى الرغم من وجود فحوصات أخرى للكشف عن المرض مثل فحص الخزعة النسيجية (biopsy) الا أنها تحتاج الى وقت وجهد وأحيانا تخطىء إذا ما أخذت بصورة غير صحيحة.

2.1. الهدف من الدراسة: Aim Of study

ان الهدف من الدراسة الحالية هو:

1. تحديد مدى صلاحية ودقة الفحوص المصلية لتشخيص مرض السيلياك بين الأطفال من عمر(1شهر–14سنة) الذي يتوقع سريرياً أنهم مصابون بمرض السيلياك في محافظة ديالى .

2. لاكتشاف العلاقة وتحديدها بين المرض والعلامات السريرية ونتائج الفحوص الكيموحيوية والفحوص الدموية.

2. استعراض المراجع
Literature review

1.2.تعريف المرض:

يعد مرض حساسية القمح (السيلياك) اعتلالاً معوياً ذاتي المناعة وسببه تناول الحبوب المحتوية على الكلوتين وخاصة في الافراد الذين لديهم ميلاً وراثياً للإصابة به، وان المرض ناتج عن التفاعل بين العوامل البيئية والعوامل الوراثية، اذ ان العوامل البيئية المسؤولة عن الضرر المعوي هي الكلايدين والكلوتينين التي هي اجزاء كلوتين الحنطة والتي لها قابلية الذوبان في الكحول وكذلك البروتينات المماثلة في حبوب أخرى (Fasano and Catassi,2001). ان القابلية الوراثية للإصابة بالمرض تكون مرتبطة بمستضد الخلية اللمفاوية (HLA) جينات الصنف الثاني(HLA–Class II) اذ ان أغلب المرضى يكون لديهم مستضد الخلية اللمفاوية (HLA–DQ2) موجباً والبعض الاخر يكون لديهم (HLA–DQ8) موجباً (Wolters and Wijmenga,2008). تقدر هذه الجينات في (40%) من المرضى ممن لديهم سهولة التأثر الوراثي بالمرض أما نسبة(60%) المتبقية فتكون مشتركة بين اعداد من الجينات ماعدا جينات الخلية اللمفاوية (Romanos *et al.,*2009) . تؤدي الاستجابة المناعية الى حدوث ضرر معوي وكنتيجة لذلك يحدث سوء امتصاص المغذيات اذ يؤدي الى مشاكل متعلقة بسوء التغذية مثل فقر الدم، ونقص الفيتامينات، وهشاشة العظام، وأضطرابات عصبية وان اتباع الحمية الخالية من الكلوتين تؤدي الى شفاء الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة، وتحسين الامتصاص الغذائي اذ أن الحمية كافية لمعالجة أغلبية كبيرة من المرضى وكذلك التحسن السريري الواضح خلال بضعة أسابيع (Wahab *etal.,*2002).

2.2. نبذة تاريخية:

كان الوصف الاول للمرض بوصفه حالة سريرية موجود فعلاً في القرن الاول بعد الميلاد من قبل Aretaeus (Richard and Kelly,2002). ابتكرت كلمة (Sprue) في القرن الثامن عشر وهي مشتقة من الكلمة الهولندية (Spruw) التي تعني المرض القلاعي لذا فإن هذه التسمية جاءت بسبب الانتشار العالي لقرحة الفم

القلاعية في هؤلاء المرضى. في عام 1888 وصف صموئيل كي العديد من العلامات السريرية للمرض في مرضى من كل الاعمار (Detelf,2000) وعلى أية حال لم تعرف العلاقة بين الحبوب ومرض السيلياك حتى منتصف القرن العشرين والتي وصفها طبيب الاطفال الهولندي (ديك) اذ أصبح متأكدا بأن استهلاك الخبز وطحين الحنطة هو المسؤول المباشر عن تدهور حالة المرضى. وفي أثناء الحرب العالمية الثانية وفي هولندا كانت الحبوب التي تستعمل لصنع الخبز نادرة جدا وفي أثناء هذا الوقت فإن الاطفال المصابين بمرض السيلياك تحسنوا اذ كانت هذه الملاحظة عرضية والتي أدت الى أيجاد السبب المؤدي الى تفاقم المرض. أظهر العمل المتواصل للعالم ديك وزملائه أن الجزء غير الذائب في الماء (الكلوتين) هو الجزء المسبب لسوء الامتصاص في المرضى وفي عام 1954 أعطى (paulley) الوصف الدقيق للضرر المعوي في المرضى بمرض السيلياك وفي أواخر الخمسينيات طوّر روبن وآخرون الات الخزعة النسيجية (biopsy) اذ اثبتوا ان مرض السيلياك في الاطفال و(Idopathic sprue) في البالغين هي أمراض متماثلة بالعلامات السريرية والمرضية نفسها (Trier,1998). وان هناك تقدماً كبيراً في السنوات الخمس عشرة الماضية من حيث فهمنا للآليات الوراثية والمناعية والجزيئية الاساسية التي تؤدي الى نشوء المرض وفي عام 1993 أثبت (Ludin) واخرون أن منتجات جين (DQ) تقدم ببتيدات الكلايدين المشتقة من الكلوتين الى الخلايا التائية في الطبقة الطلائية المعوية للمرضى، ولقد ركزت الابحاث الاخيرة للمستضد التلقائي للمرض على أنزيم الترانسكلوتاميناز وأدى الى فحوصات مصلية تشخيصية أكثر دقة وهذا يعني ضدات الترانسكلوتاميناز وضدات الاندوميسيام (Anderson *et al.*,2000) .

3.2. الوبائية:Epidemiology

تتراوح نسبة الأصابة بمرض السيلياك حوالي (1%) وهذه النسبة مقتصرة أكثر على الاطفال لكن في الوقت الحالي اظهرت الدراسات أن المرض يمكن أن يصيب أو يؤثر في البالغين أيضا(Vilppula *et al.*, 2009). ان نسبة حدوث المرض بين النساء والرجال كنسبة (1:2) أي ان نسبة حدوثه في الاناث اعلى منه

في الذكور(Cilitira *et al.*, 2001). إستنادا الى دراسات فحص السكان في أوروبا والولايات المتحدة الامريكية بينت النتائج أن نسبة إنتشار المرض كانت أكثر من(1%)(Fasano *et al.,*2003, West *et al.,*2003, Korponay-Szabo *et al.*,2007, Mustalahti *et al.*,2010) وقد أظهر(Lohi) وزملاؤه أن الأنتشار الكلي للمرض بين البالغين في فنلندا أزداد من(99:1) بين عام(1978-1980) الى(52:1) في عام(2000-2001) (Lohi *et al.,*2007) ومؤخرا ذكر(Myleus) وزملاؤه أن هناك أنتشارا عاليا للمرض بين الأطفال بعمر (12) سنة في السويد حوالي(1000:29) (3%) (Myleus *et al.*,2009) .

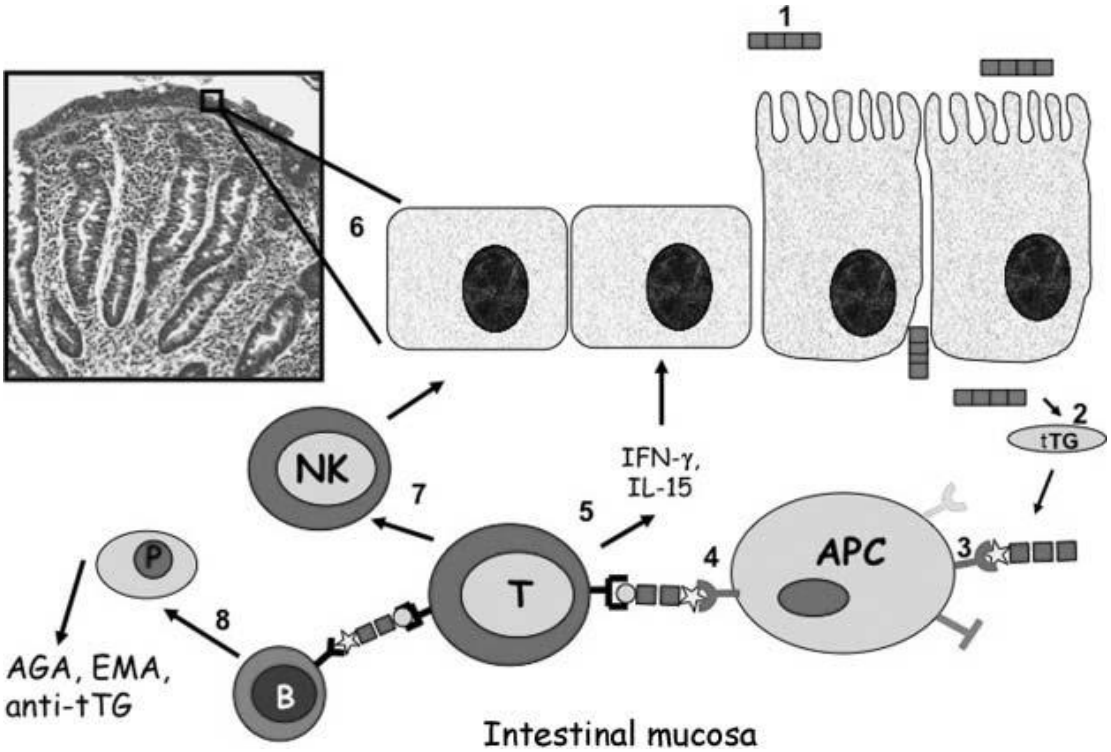
ان المرض ليس متكرر الحدوث في البلدان المتقدمة فقط حيث اظهرت الدراسات الوبائية التي أجريت في البلدان النامية أن نسب الأنتشار تتخطى الأرقام الموجودة في أوروبا لاسيما في شمال أفريقيا حيث النسب هي (0.53%) في مصر (Abu_Zekry *etal.,*2008) ، (0.79%) في ليبيا (Alarida *et al.,*2011)، (0.6 %) في تونس(Ben Hariz *et al.,*2007). أما في الشرق الأوسط (0.88%) في ايران و(0.6%) في تركيا (Imanzadeh *et al.*,2005) (Ertekin *et al.*,2005) أما في الهند(0.7%) (Sood *et al.*,2006) وهذا الإنتشار الواسع ليس مفاجئاً على الأطلاق مبيناً العوامل السببية التي أدت الى هذا الإنتشار منها النوع الجيني (HLA DQ-2,HLA DQ-8) واستهلاك الحبوب المحتوية على الكلوتين (Catassi and Cobellis,2007).

إن دقة التخمينات للإنتشار الحقيقي للمرض تتحسن فعلياً بازدياد الثقة بالفحوصات المصلية أي بضدات الكلايدين (Anti gliadin IgA) اولاً ثم ضدات الاندوميزم وضدات الترانسكلوتاميز (antihuman tissue transglutaminase IgA (hTTG)) وهناك نسب مسجلة للانتشار المصلي بالأشخاص البالغين في المملكة المتحدة (87:1) (West *et al.*,2003) والولايات المتحدة الامريكية (105:1) (Fasano *et al.*,2003) ويتواجد المرض أيضاً في شمال أفريقيا، الهند، الشرق الاوسط وكذلك في الصين واليابان (Wu *et al.*,2010). في فلندا وجد ان نسبة انتشار المرض تكون مضاعفة حوالي (2%) وهذه الزيادة تتوافق مع

حدوث امراض مناعة ذاتية أخرى مثل السكري من النوع الاول (Lohi *et al.*,2007). أما في دول القوقاز مثل روسيا والاسلاف الفلندية قلت نسبة انتشار المرض الى (0.2%) مع ان الدولتين تمتلكان مستويات الاستهلاك من القمح نفسها وكذلك مستضدات الخلية اللمفاوية (HLA) اذ أن هذه الحقائق ترجع الى عوامل بيئية مثل قلة الامراض التي تسبب عدم انتظام المناعة والتي تساهم في حدوث المرض(Kondrashova *et al.*,2008) .

4.2. الأمراضية: pathogenesis

إن تطور مرض السيلياك يحدد بكلا العوامل الوراثية والبيئية، ففي السنوات الأخيرة أكتشف الكثير حول سمات مرض السيلياك المناعية والوراثية.



شكل (2-1): مخطط مبسط يوضح الأستجابة المناعية التكيفية للكلوتين في مرض السيلياك منذ بدء هضم الكلوتين الى الضرر الحاصل بالامعاء (Lionetti and Catassi,2011).

تصل ببتيدات الكلوتين الى الطبقة الطلائية أما عن طريق ازدياد نفاذية الطبقة الطلائية (للمفصل الوثيق) أو epithelial transcytosis، إن الطبقة الطلائية المعوية تحت الظروف الفسيولوجية تكون غير نفاذة للجزيئات الكبيرة مثل

الكلايدين، أما عند الأصابة بمرض السيلياك فإن تنظيم الزونيولين (zonulin) والببتيدات المعوية التي هي ضمن الملتقى الضيق تظهر لتكون المسؤولة في الأقل عن زيادة خاصية النفاذية والتي هي صفة مميزة لمرض السيلياك (Fasano, 2011). فقد وجد انه بعد تحفيز الخلايا المعوية الطبيعية بالكلايدين لفأر فسوف يتحرر الزونيولين (Zonulin) الذي يحدث بلمرة بروتينات الكاينيز من خيوط بروتين الأكتين الخلوية والذي يكون مرتبطاً مباشرة بمعقد بروتينات (TJ) وبذلك ينظم نفاذية الطبقة الطلائية، علاوة على ذلك الوجود الدائم للوسائط الالتهابية مثل عامل تنخر الورم، والانترفيرون كاما (IFN) وعندما لاحظوا الزيادة في النفاذية عبر الطبقات الطلائية والطبقات المبطنة فقد أقترح أن بداية الخرق للحاجز المعوي يسببه (zonulin) والذي يمكن أن يستمر في البقاء بوساطة العمليات الالتهابية بعد وصول الكلايدين الى الغشاء المخاطي الثانوي (Clement *et al.*,2003). ان الدراسات الحديثة ركزت على التأثيرات المبكرة للكلايدين في الغشاء المخاطي الطلائي المعوي والتراكيب التي تبين كفاءة الطبقة المخاطية للملتقى الضيق (TJ) وأظهرت هذه الدراسات أن الكلايدين ينشط (zonulin) ويؤدى الى التقليل المباشر من وظيفة الحاجز المعوي ومرور الكلايدين الى الطبقة الطلائية الثانوية (Drago *et al.*,2006). ومن ناحية أخرى فإن هناك دراسات أخرى أقترحت أن ببتيدات الكلوتين يمكن أن تنقل عبر الطبقة الطلائية المعوية عن طريق transcytosis أو عن طريق الكلوبيولينات المناعية A (IgA) التي تتوسط retrotranscytosis (Matysiak-Budnik *et al.*, 2008 ; Schumann *et al.*,2008).

بعد ذلك تحدث عملية النزمنة (أي نزع الامينات) من ببتيدات الكلوتين بوساطة (tissue transglutaminase) اذ يخلق تحفيزاً مناعياً فعالا لموقع الاستضدادية في الجزيئة وهذا بدوره يؤدي الى الربط الى (HLA-DQ2 or HLA-DQ8) على خلايا تقديم المستضد (APC) وتنشيط (CD4) الخلايا التائية، والتي يفرز بصورة رئيسة (Th1 cytokines) مثل الانترفيرون كاما والتي يحفز تحرير وتنشيط الـmetalloprotreases بوساطة لييفة عضلية (myofibroblasts). وأخيراً يؤدي الى تغير البنية المخاطية للأمعاء وضمور

الزغابات، وكذلك زيادة سمية الخلايا التائية وCD4 من الخلايا اللمفية داخل طلائية أو الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) للخلايا التائية وهذا يؤدي الى موت الخلايا المعوية. وخلال انتاج سايتوكينات (Th2) فإن (CD4) والخلايا التائية المنشطين تؤدي أيضا الى تنشيط اتساع الخلايا اللمفاوية الفتية والتي تتميز الى خلايا بلازمية تنتج الاجسام المضادة للكلوتين و الترانسكلوتاميناز والتي تساهم في الحاق الضرر وتلف الامعاء.

ينتج المرض أجسام مضادة من الصنف IgA,IgG نوعية ضد الكلوتين وأجسام مضادة نوعية ضد الترانسكلوتاميناز Transglutaminase 2A (أنزيم يحور من البروتين الكلوتيني الكلايدين).

يعتقد ان هذه الأضداد تتكون عندما تُدخل خلية B اللمفية (endocytose) الترانسكلوتاميناز مع الكلايدين مقدمةً بعد ذلك ببتيدات الكلايدين الى خلية T المساعدة التي تساعد بدورها في حثها على أنتاج الأضداد ولم يعرف ان كانت هذه الاضداد تساهم في نشوء المرض الا أنها تعد مؤشرات تشخيصية حساسة (sensitive diagnostic marker) .

ان آلية المرض الرئيسة التي تؤدي الى مرض السيلياك أستندت الى الاستجابة المناعية التكيفية والى الببتيدات المشتقة من الكلوتين والتي تحدث في الطبقة الطلائية من الغشاء المخاطي للامعاء، وقد ثبت ان ببتيدات الكلوتين تقدم اما بوساطة (HLA–DQ2) او(HLA–DQ8) والتي تحث استجابة الخلايا التائية و (CD4) بالمريض. يشفر كلا (HLA–DQ2, HLA–DQ8) ولمواقع ثنائية متباينة (heterodimers) على خلايا تقديم المستضد (APC) التي تربط البتيدات مع الاحماض الامينية سالبة الشحنة عند المرتكز او بقايا القاعدة، على أية حال فإن ببتيدات الكلوتين خالية فعلا من الشحنات السالبة وهكذا تربط ببتيدات الكلوتين الطبيعية او الفطرية بشكل ضعيف الى (HLA–DQ2) أو (HLA–DQ8) (Tjon *et al.*,2010). اصبح من الواضح امكانية انزيم الترانسكلوتاميناز (TG2) من تحوير ببتيدات الكلوتين لملائمة رباط الالفة العالية الى (HLA–DQ2) و (HLA–

(DQ8 ويستطيع TG2 من تحويل الكلوتامين العديم الشحنة الى حامض الكلوتاميك ذي الشحنة السالبة وتدعى هذه العملية بإزالة الامينات(Molberg *et al.*,1998).

وقد أثبتت الدراسات الحديثة بوساطة تسلسل (QXP) (Q=glutamine X=any aminoacid, P=proline, أن بقايا الكلوتامين هي الاساس المفضل للترانسكلوتاميز (tTG) الذي يتوسط عملية نزع أو ازالة الامينات (النزمنة) (Vader *et al.*,2002). وهذا يمثل أداة مهمة لتأكيد سمية ببتيدات الكلايدين وبطريقة مماثلة قد يثبت هذا التحليل الاستفادة من المسح المتنوع للحنطة لتميز الحبوب غير السامة. ان الكلوتين المنشط يؤدي الى أنتاج (CD4) والخلايا التائية لمستويات عالية من السايتوكينات وهكذا تحث الخلايا التائية المساعدة من النوع الاول (Th1) وهو نمط مسيطر عليه بوساطة (IFN-γ) (Nilsen *et al.*,1998). وتزيد سايتوكينات الخلايا التائية المساعدة (Th1) التأثيرات الالتهابية وتشمل الارومة الليفية أو خلايا الطبقة الطلائية أحادية النواة التي تفرز (matrix metalloproteinase)، والتي تكون مسؤولة عن إعادة ترتيب وتشكيل الانسجة والتي تؤدي الى ضمور الزغابات وفرط التنسج والتي هي احد المظاهر المميزة لمرض السيلياك. ويبدو ان السايتوكينات الاخرى مثل الانترلوكين (IL-18) والانترفيرون كاما (IFN- γ) و (IL-12) تلعب دوراً في استقطاب والمحافظة على استجابة الخلايا التائية Th1 (Schuppan *et al.*,2009). فضلاً عن ذلك فإنه خلال أنتاج سايتوكينات الخلايا التائية المساعدة فإن الخلايا التائية وCD4 المنشط يحفز على تنشيط وتحفيز الخلايا اللمفاوية للخلايا البائية (B cell) والتي تتميز الى خلايا بلازمية وتنتج الاجسام المضادة للكلايدين والاجسام المضادة للترانسكلوتاميز، وبالتفاعل مع الغشاء الخارج خلوي tTG فإن الاجسام المضادة للترانسكلوتاميز المترسبة في منطقة الغشاء القاعدي قد تحث على تغيرات في هيكل الخلية البروتيني بإعادة توزيع الاكتين والضرر اللاحق بالخلايا الطلائية (Di Sabatino and Corazza,2009). في حالة مرض السيلياك الفعال تزداد اعداد (CD8) ومستقبلات الخلايا التائية (الفا وبيتا وكاما وسكما) والخلايا اللمفاوية داخل طلائية (IELs) بدرجة كبيرة ومن غير الواضح فيما اذا كان هذا استجابة

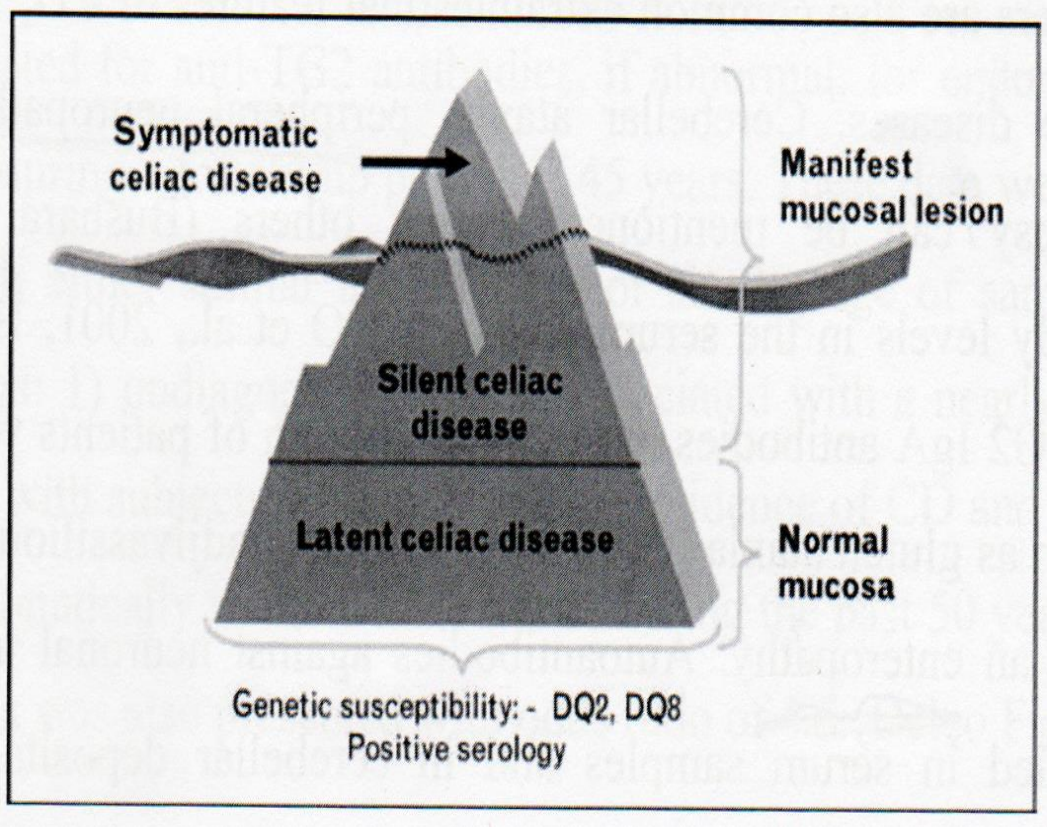
للتغيرات في الطبقة الطلائية أو نتيجة البيئة الالتهابية التي تخلق بوساطة استجابة الخلايا التائية و(CD4) بالطبقة الطلائية (Tjon *et al.*,2010). تكتسب (IELs) تنشيط الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) في الطبقة الطلائية (Meresse *et al.*,2006) والقابلية لتحليل الخلايا الطلائية وفي الوقت نفسه تنظم الخلايا الطلائية المعوية تعبير الligand لهذه المستقبلات (MICs) (Meresse *et al.*,2004) و(HLA-E) (Meresse *et al.*,2006). وفضلا عن ذلك فإن الكلوتين يستيطع ان يثير الاستجابة المناعية الفطرية. وعند التحفيز ببيتيدات الكلايدين (p31-49) وبيتيدات أخرى فإن الخلايا الطلائية والخلايا الشجيرية والخلايا البلعمية تفرز (IL-15) والتي بوساطتها قد تحفز السمية الخلوية للخلايا اللمفاوية وهذا يحفز زيادة موت خلايا الطبقة الطلائية وزيادة النفاذية (Maiuri *et al.*,2003;Londei *et al.*,2005; Jabri and Sollid,2009). ومن غير الواضح حالياً كيف يمكن للكلوتين ان يمتلك مثل هذا المدى الواسع من التأثيرات الحيوية في الخلايا المنيعة الفطرية وكيف يمكن ان يربط الى المستقبلات غير المرتبطة لذلك يتطلب دراسة للتعرف على الميكانيكة الجزيئية التي يعمل بها. وعلى أية حال اذا اكد الدور المحتمل للكلوتين بوصفه منشطاً لنظام المناعة الفطري الذي قد يوضح كيف تحث استجابة الخلايا التائية و(CD4) الخاص للكلوتين وكيف يصبح (IELs) مسموحا له بقتل الخلايا الطلائية المعوية.

5.2. العوامل البيئية: Environmental factors

تؤثر العوامل البيئية بلاشك في ظهور المرض سريرياً وقد تؤثر في خصائص المرض وهناك بعض الدراسات التي تفترض بأن السيطرة على بعض العوامل البيئية قد تؤثر في نشوء المرض وتطوره وأثبتت العديد من هذه الدراسات في حوالي نهاية القرن السابق أن الرضاعة الطبيعية تقلل من مدى حدوث مرض السيلياك (Markku ,1992). وقد أثبت Norris وزملاؤه ان إعطاء كميات قليلة من الكلوتين الى الرضع من عمر(4-6) اشهر وهم لازالوا يرضعون الرضاعة الطبيعية يقلل من مدى حدوث مرض السيلياك في المجاميع المعرضة للخطورة التي ينشأ ويتطور لديها مرض السيلياك والتي يكون لديهم (HLA- DQ2 and/or DQ8)

موجبا (Akobeng *et al.*,2006 Norris *et al.*,2005). وكذلك فإن بعض الادوية التي تساهم في زيادة التأثر بالكلوتين في الاشخاص الذين من السهل أن يتأثروا بالكلوتين، وقد أستنتج أن تناول دورة كاملة من الانترفيرون الفا (interferon alfa) يمكن أن ينشط مرض السيلياك في الاشخاص الذين لديهم قابلية للأصابة بمرض السيلياك (Cammarota *et al.*,2000). وكذلك فإن عوامل الخمج قد يكون لها دور ايضا على الاقل في وقت ظهور المرض أو حتى على مدى حدوث او تأثير المرض، وقد أثبت (Kkagnoff) وزملاؤه التسلسل المتشابه بين ببتيدات الكلايدين السام و(Adenovirus) من النوع المعوي (Kagnoff *et al.*,1984). وقد ميزت بكتريا على هيأة عصيات في الطبقة الطلائية للأمعاء الدقيقة بالأطفال المصابين بمرض السيلياك وعلى الرغم من أن هذا الأستعمار يمكن أن يكون متوافق بطريق الصدفة (Forsberg *et al.*,2004). وقد أظهرت نتائج الدراسات أن التكرار العالي لأصابات الفيروس العجلي (rotavirus) يمكن أن يزيد من خطر مرض السيلياك في الاطفال الذين لديهم قابلية وراثية للاصابة بالمرض اذ تسبب أصابات (rotavirus) تغيرا في نفاذية وتوازن السايتوكينات في الغشاء المخاطي المعوي وتزيد من أختراق ببتيدات الكلوتين (Stene *et al.*,2006). وقد يوضح التشابه بين بعض بروتينات الفيروس العجلي (vp_7) و (tissue transglutaminase) كيفية أصابات (rotavirus) لها دور كبير في نشوء المرض وتطوره (Zanoni *et al.*,2006). وثبت ايضا ان عوامل الضراوة في (*Candida albicans*) وهو (hyphal wall protein 1) تتشارك التسلسل المتشابه للأحماض الامينية مع الكلايدين (Nieuwenhuizen *et al.*,2003) .

6.2.الأعراض والعلامات السريرية:



شكل (2-2) : الجبل الجليدي لمرض السيلياك (Fasano,2006).

1.6.2.مرض السيلياك النموذجي: Typical celiac disease

يتميز هذا الشكل من المرض بضمور الزغابات وأعراض واضحة من سوء الامتصاص المعوي اذ يتواجد هذا الشكل من المرض بين عمر(6-24) شهرا مع ضعف النمو، والبراز غير الطبيعي، وأنتفاخ البطن، وضمور العضلات، وقلة الشهية، والمزاج الحاد. اما في الدول النامية فإن الإسهال المزمن، وأنتفاخ البطن، أعاقة النمو(التقزم) وفقر الدم، فهي من الأعراض المتكررة (Fasano and Catassi,2001).

2.6.2.مرض السيلياك غير النموذجي: Atypical celiac disease

يمكن ملاحظة مرض السيلياك غير النموذجي في الاطفال والكبار والبالغين ومن مميزاته عدم وجود سوء الامتصاص المعوي الواضح. أما العلامات المعوية قد تكون غير موجودة أو تتضمن أعراض أخرى غير أعتيادية مثل الالم البطني المتكرر، والغثيان، والقيء، والانتفاخ، ونقص في مينا الاسنان والتهاب الفم القلاعي

(Wierink *et al.*,2007; Bucci *et al.*,2006). ومن الأعراض الشائعة في الأطفال هي الزيادة في مستويات الأمينوترانسفيرز في االمصل (Rubio-Tapia and Murray,2007). يمكن ان يكون المريض مصاباً بفقر الدم وهي من المميزات الظاهرة للمرض وتتفاوت نسب أنتشار هذه العلامة المرضية كثيرا وفقا للتقارير المختلفة، اذ يتواجد في (12-69%) من المرضى المصابين حديثاً (Halfdanarson *et al.*,2007). يكون أنتشار فقر الدم (النقص الحديدي) أعلى في البالغين من الأطفال، اذ يمتص الحديد في الجزء السفلي من الأمعاء الدقيقة وهذا الامتصاص يعتمد على عوامل عدة منها السطح المخاطي السليم و ان نقص الحديد قد لا يستجيب للعلاج الفموي للحديد ويمكن أن يكون من المظاهر المميزة للمرض لاسيما في الأطفال (Halfdanarson *et al.*,2007) وجد أن بين (2-6%) من مرضى فقر الدم النقص الحديدي يكونون مصابين بمرض السيلياك (Hershko and Patz,2008). ان معالجة فقر الدم النقص الحديدي المترافق مع مرض السيلياك تكون بداية مع الحمية الغذائية الخالية من الكلوتين والتزود بالمكملات من الحديد حتى يعود المخزون من الحديد الى وضعه الطبيعي، وكذلك فإن فقر الدم الملاحظ بمرضى السيلياك ينتج أيضا من سوء امتصاص فيتامين B12 (نسبة صغيرة منها ممتصة بشكل سلبي على طول الأمعاء الدقيقة) وكذلك حامض الفوليك في الجزء الصائم من الأمعاء (Halfdanarson *et al.*,2007) .

من جهة أخرى أثبتت أحدى الدراسات ان (2-8%) من الأطفال قصيري القامة الذين لا يعانون من أية أعراض معوية مصابون بمرض السيلياك وبالرغم من ذلك فأن قصر القامة يمكن أن يكون من المظاهر الرئيسية في الأطفال السليمين، وان هناك سببا عضويا مشتركا لتباطىء السرعة أكثر شيوعا من نقص هرمون النمو(GH) (van Rijn *et al.*,2004). ان إمراضية مرض السيلياك المرتبطة مع قصر القامة لاتزال غير واضحة، ان نقص الخارصين وهو المغذي الأساس الذي يضعف من أنتاج (IGF-1) (insulin – like growth factore -1) سوية مع نقائص أخرى وجدت بمرضى السيلياك يكون ضارا لأيض ونمو العظم (Fasano and Counts, 2010). ان ضعف تحرير أو نتاج الغدة النخامية من هرمون

النمو قد يكون مرتبطا بسوء التغذية أو وجود ضدات ضد النخامية بالنظام العصبي المركزي، أو الى أيض الأمين الأحادي غير الاعتيادي في الدماغ (Fasano and Count,2010; Delvecchio *et al.,*2010). العلاج بالحمية الغذائية الخالية من الكلوتين غالبا مايؤدي الى تكامل النمو خلال (2–3) سنوات وإذا لم يحصل نمو بعد اثني عشر شهرا من الحمية الغذائية الخالية من الكلوتين فيجب توقع النقص المرتبط أو العابر لهرمون النمو (Gadewar and Fasano,2005). ان مرض السيلياك يقود الى أنخفاض كثافة المعادن الموجودة في العظام وبالتالي يؤدي الى مسامية (نخر)العظام، اذ وجد بأن (86) مريضاً مشخص حديثاً باستخدام الخزعة (biopsy) يؤكد بأنهم مصابون بمرض السيلياك، (40%) منهم يعانون من osteopenia (نقص الخلايا المكونة للعظم) و(26%) osteoporosis هشاشة العظام (Mora ,2008). ان نسبة أنتشار المرض بين الافراد الذين لديهم مسامية العظام هي (3.4%)، اذ كان يعتقد ان التغيرات العظمية مشتقة من النقص الثانوي للكالسيوم وفيتامين (D) الى سوء الامتصاص المعوي، أما حديثاً فقد وجدت أسباب أخرى تفسر نقص أيض العظم و تتضمن التفاعل بين السايتوكين (بروتينات تنشيط الخلايا المناعية) وعوامل شاملة إذ تؤثر في تكوين العظم واعادة الامتصاص (Stenson *et al.,*2005). وان الحمية الغذائية الخالية من الكلوتين مدى الحياة هي الاجراء الفعال لإعادة أيض العظم الى حالته الطبيعية، ففي حالة الاطفال فأن الحمية الغذائية الخالية من الكلوتين (GFD) تساعد على تحسن مقنع في الكتلة العظمية، وعلى نقيض حالات الاطفال فإن البالغين المصابين بمسامية (تنخر) العظام مع مرض السيلياك فإنه لا يواجه تحسنا تلقائياً وليس هناك بينات حاسمة على كفاءة العلاج القياسي لمسامية (تنخر) العظام بخفض خطر كسر العظام وهذا الدليل يؤكد على أهمية التشخيص في أوقات مبكرة بوصفه تدخلاً وقائياً لتجنب مضاعفات وتعقيدات المرض (Fasano and Catassi,2005).

وثقت احدى الدراسات وجود علاقة بين الطيف الواسع للحالات العصبية المترافقة مع مرض السيلياك في البالغين بنسبة (26%) (Bushara,2005). وقد أصبحت هذه الدراسات محور جدل وخلاف بسبب معايير الاختيار المختلفة

وخصائص المريض وصفاته وتشير نتائج الفحوص الحديثة الى أن المريض المصاب بمرض السيلياك يمتلك خطر تطور بعض التعقيدات العصبية أثناء فترة الطفولة مثل الصداع، والتهاب العصب المحيطي، وان الانتشار العام للتعقيدات العصبية في الأطفال مقارنة مع البالغين يكون واطئاً اذ ليس هناك دليل على وجود علاقة سببية بين المرض والصرع والتوحد والترنح المخيخي في الاطفال (Lionetti *et al.,*2010).

أما في حالة النساء المصابات بمرض السيلياك فيعانين من تكرار الاجهاض التلقائي و بلوغ سن اليأس المبكر وانقطاع الطمث، أما في المرضى الذكور فربما يعانون من مشاكل في الخصوبة، و ان الآلية الفعلية أو الحقيقية لهذه التغيرات لازالت غير واضحة و لكن هناك عوامل مساهمة في هذه الآلية مثل سوء التغذية، نقص الحديد وحامض الفوليك والخارصين (Di Sabatino and Corazza,2009).

3.6.2.مرض السيلياك الصامت: Silent celiac disease

ميز مرض السيلياك الصامت (الذي يبدو أنه بدون أعراض واضحة) منذ إدخال الفحوصات المصلية على نحو متزايد بسبب الفحص العرضي، وهذه الحالة في أغلب الأحيان تكون لدى الاشخاص الذين لديهم تأريخ عائلي للمرض، وكذلك المرضى المصابون بأمراض المناعة الذاتية مثل السكري من النوع الأول أو اضطرابات وراثية مثل(متلازمة داون وويليام و تيرنر) وعلى أية حال، فأن المرض يظهر بدرجة منخفضة في العديد من هؤلاء الأفراد، وهناك مميزات شائعة ومشتركة هي:

(أ) اضطرابات سلوكية مثل حدة الطبع والأداء المدرسي الضعيف.

(ب) ضعف اللياقة البدنية والتعب المزمن.

(ج) نقص الحديد مع أو بدون فقر الدم .

(د) قلة الكثافة المعدنية في العظم .

ويبدأ التحسن في الحالة النفسية والبدنية المتأثرة من مرض السيلياك الصامت بعد بدء المعالجة بالحمية الغذائية الخالية من الكلوتين (Fasano and Catassi,2001).

4.6.2.مرض السيلياك الكامن: Potential celiac disease

يكون مرض السيلياك الكامن أو المحتمل مميزاً بغشاء مخاطي معوي طبيعي أو تغيرات نسيجية غير ملحوظة مثل العدد المتزايد من (IEL) (الخلايا اللمفاوية ما بين الطلائية)، ان مثل هؤلاء المرضى تكون الفحوصات المصلية لهم وهي الأجسام المضادة للترانسكلوتاميز و أو الأجسام المضادة للأندومايسيم موجبة وكذلك الخزعة المأخوذة من المعي الدقيق (biopsy) اذ ان هؤلاء المرضى أما أنْ يكونون أصحاء أو يعانون من أعراض معوية والتي قد تستجيب للحمية الغذائية الخالية من الكلوتين (GFD) وبمرور الوقت قد ينشأ عندهم تسطح الغشاء المخاطي للأمعاء (Di Sabatino and Corazza,2009). يوضح جدول(2-1) الأعراض والمظاهر المرتبطة بمرض السيلياك.

جدول(2-1): الأعراض والمظاهر المرتبطة بمرض السيلياك.

الأعراض النموذجية	الأعراض الخارج معوية	الأعراض العصبية	الاضطرابات الوراثية
1.فشل أو ضعف النمو*	1.التهاب الجلد*	1.الترنح+	1.متلازمة تيرنر+
2.الإسهال *	2.نقص في مينا الأسنان*	2.الصرع+	2.متلازمة ويليام +
3.انتفاخ أوتوسع البطن*	3.فقر الدم *	3.أمراض الشقيقة+	3. متلازمة داون +
4.التقيؤ*	4.التهاب الفم القلاعي*	4.الكآبة+	
5.ألم البطن*	5.الم/التهاب المفاصل+	5.التعب والإعياء+	
6.الامساك*	6.أختبارات وظائف الكبد الغير طبيعية*	6 .القلق الشديد+	
	7.قصر القامة/ تأخر البلوغ*	7.الاعتلال العصبي الخارجي+	
	8.تخلخل العظام/ مسامية العظام*		
	9.العقم +		
	10.الإجهاض المتكرر+		

(*)الارتباط أو العلاقة القوية بمرض السيلياك.

(+) تعني أرتباطه أو علاقته أقل بمرض السيلياك (Hill *et al.*,2005;Briani *et al.*,2008).

7.2.الكلوتين محفز لمرض السيلياك: Gluten as aTrigger of celiac disease

الكلوتين هو عبارة عن كتلة مطاطية تتألف من بروتينات مخزونة والتي تبقى بعد النشأ المنقوع أو المغسول من عجينة طحين الحنطة، هذه البروتينات لها قابليات ذوبان مختلفة في محلول (الكحول- ماء) وهذه البروتينات يمكن ان تنفصل إلى جزئين (الكلايدين Gliadins والكلوتنين Glutenins)، وبروتينات الكلوتين تمتلك تركيباً كيميائياً معقدا وهي مسؤولة عن خصائص الخبز ولقابلية امتصاص الحنطة للماء، والتماسك، واللزوجة، ومطاطية العجينة (Wieser,2007). ومن تحليل الكلايدين ميز أكثر من مائة مكوُّن والتي صنفت الى اربعة أنواع رئيسة (ω5, ω1,2, α/β, γ-gliadins) ولقد ثبت الخاصية الممنعة والسمية للعديد من مواقع الاستضدادية في جزيئة الكلايدين (Kagnoff,2007). وهناك أختلاف بأن يكون الببتيد ممنعاً أو أن يكون ساماً وأن الانظمة التي اساسها الخلية اللمفية تستخدم لتقييم الخصائص التحفيزية المناعية ولحد الان كل الببتيدات التي تحفز مناعيا خارج الجسم لها قابلية سمية عندما فحصت داخل الجسم وعلى أية حال فإن التجارب التي تجري داخل أو خارج الجسم فإنها تحتاج لأثبات السمية وقد تم التعرف على الببتيدات السامة للأشخاص وللأمعاء الدقيقة للمرضى المصابين (Sturgess *et al.*,1994). وهكذا فإن عدم القابلية التحفيزية للببتيدات خارج الجسم فإن ذلك لايستثنى هذه الببتيدات من كونها تسبب تأثيرات سمية للمريض. ويمكن تقسيم الكلوتنين (Glutenin) الى مجموعات ذات وزن جزيئي عالٍ و وزن جزيئي واطىء وقد لوحظت القابلية للتمنيع والسمية في المجموعات ذات الوزن الجزيئي العالي (Molberg *et al.*,2003; Dewar *et al.*,2006). والبروتينات المخزونة (البرولامين) مع الاحماض الامينية المماثلة تكوُّن أجزاء الكلايدين بالحنطة وقد ميز هذا في الشعير (hordein) والجاودار (scalines)، وتلاحظ العلاقة الوثيقة بين علم التصنيف والخصائص السمية لحبوب القمح والتي تؤثر في الاشخاص المصابين

بمرض السيلياك (Wieser,1995). وعلى الرغم من ان العديد من مواقع الاستضدادية للكلوتين تحفز مناعيا لكن بعضها اكثر نشاطا من الآخر والببتيدات السائدة مناعياً المكوِّنة من(33) حامضا أمينيا و الذي ميز من الالفا كلايدين –α) (gliadin له خصائص وظيفية تنسب الى العديد من بقايا البرولين والكلوتامين، والبرولين يعطي الببتيدات مقاومة لأنزيمات تحلل البروتين المعوية (proteolysis) في الاشخاص المصابين وغير المصابين بالمرض ويسبب حلزونا ذا التفاف يساري والذي يقوي الارتباط مع جزيئات (HLA–DQ2,HLA–DQ8) على خلايا تقديم المستضد (APC) وان بقايا الكلوتامين هي من المواد المفضلة لنزع الامين الذي يتوسطه الترانسكلوتاميناز (tissue–transglutaminase mediated deamination) والتي تمنح التعزيز للمستمنعات (Shan *et al.,*2002;Moos *et al.,*2008).

8.2. منع حدوث المرض : Prevention

مع تقدم فهم إمراضية مرض السيلياك بدأت التأكيدات الاكثر على منع تطور المرض بدلاً من معالجته ومن خلال الدراسات لممارسات الرضاعة الطبيعية وتأثيرها في المرض فقد استنتج الباحثون انه اثناء فترة الرضاعة الطبيعية وبداية ادخال الحبوب (الكلوتين) في النظام الغذائي للطفل يقلل من المخاطر المستقبلية لتطور المرض (Akobeng and Heller,2007; Troncone and Auricchio,2007). ولكن هذا لم يلاقِ القبول من قبل الجميع وعلى أية حال افترض بعض الباحثين ان الرضاعة الطبيعية قد تؤخر المرض لكن لا تمنع من نشوئه وتطوره. يعتقد ان تدخل بكتريا (probiotic) يكون مهماً لتطوير التحمل لبروتينات الغذاء والمحافظة على الحاجز الطلائي المعوي للأطفال ومن المؤمل ايضا ان علاج (probiotic) قد يساعد على تعزيز التحمل ومنع المرض عند الأطفال الذين يمتلكون خطر الاصابة بالمرض(Norris *et al.,*2005). وجد بأن ادخال الكلوتين وكمية الكلوتين في الحمية الغذائية هو موضوع هام في منع المرض وان ادخال الكلوتين مبكرا (قبل ثلاثة شهور) ومتأخرا (بعد سبعة شهور) يكون مرتبطا بالخطر المتزايد للمرض، وثقت دراسة أجريت على أطفال أقل من عمر

سنتين في السويد أن زيادة كمية الكلوتين في الغذاء تزيد من في تأثير ومدى حدوث المرض بأربعة أضعاف في الأطفال الذين لديهم استعداد وراثي للإصابة بالمرض(Ivarsson,2005).وجد بأن تقليل احتمالية الإصابات مثل (rotaviruse) فأنها تقلل نفاذية الحاجز الطلائي وبالتالي تحد من تفاقم المرض (Pavone *et al.*,2007) .

9.2.التشخيص المختبري للمرض: Diagnostic of celiac disease

في عام 1969 وضعت المعايير التشخيصية للمرض من قبل الجمعية الاوربية لأطباء الجهاز الهضمي للأطفال، اذ يتطلب تشخيص المرض ثلاث عينات من خزعة الامعاء الدقيقة الاولى لملاحظة تسطح الغشاء المخاطي المعوي والثانية أثناء الحمية الغذائية الخالية من الكلوتين اذ يمكن ملاحظة التحسن الحاصل في الزغابات أما العينة الثالثة فإنها تؤخذ بعد سنتين من الحمية الغذائية لملاحظة التغيرات النسيجية (Meeuwisse,1970). اذ يجب التأكيد على الاضرار غير الضمورية للغشاء المخاطي للمعي الدقيق والذي ميّز بزيادة الاعداد المعزولة من الخلايا اللمفاوية ما بين الطلائية (IELs) مع أو بدون فرط التنسج اذ وجد أن مرض السيلياك فقط في (10%) من هذه الحالات والتي يمكن أن تكون مسؤولة عن العدد المتزايد من الخلايا اللمفاوية ما بين الطلائية بالغشاء المخاطي والتي تتضمن: الحساسية لغذاء معين، والاصابات المعوية وتضم أصابة *(Helicobacter pylori)*، والتهاب القولون التقرحي، و أضطرابات المناعة الذاتية وعليه يجب تجنب تشخيص المرض بالاعتماد على العدد المتزايد من (IELs) فقط (Kakar *et al.*,2003). ان القيمة التنبؤية للفحوص النسيجية تكون أكبر بكثير عند وجود ضمور الزغابات سواء كان (خفيفا أم متوسطا أو كليا) وهناك أضطرابات أخرى يمكن أن تسبب ضمور الزغابات غير المعتمد على الكلوتين مثل (نقص المناعة المتغير الشائع، والاعتلال المعوي ذاتي المناعة، والالتهاب المعوي) (Oberhuber *et al.*,1999). ومع ذلك يبقى الفحوص النسيجية عنصراً مهماً في تشخيص المرض لكن النتائج المرضية يجب أن تقيم ضمن سياق المكونات الاخرى بضمنها

العلامات السريرية والفحوص المصلية والنمط الفردي لمستضد الخلية اللمفاوية (HLA) (Villanacci *et al.,*2010).

1.9.2.الفحوصات المصلية :Serological tests

تستخدم هذه الفحوصات لتقدير أعداد المرضى المشكوك في أصابتهم بالمرض وكذلك في الفحص المسحي للمرضى ممن يمتلكون الاعراض النموذجية للمرض (Fasano and Catassi,2001). أن الفحوصات المصلية تعمل على ثلاثة أجسام مضادة شائعة هي :-

1.ضدات الترانسكلوتاميز (tTG) (anti-tissue transglutaminase)

2.ضدات الأندوميسال (EMA) (endomysial antibodies)

3.ضدات الكلايدين(AGA) (antigliadin antibodies)

ولإن أكثر الفحوص المصلية المستخدمة تعتمد على الكشف عن ضدات (IgA) فقد لا تكون مناسبة في المرضى الذين يعانون من نقص الكلوبيولين المناعي (IgA) وهذا الارتباط يكون ذا أهمية بين المرضى اذ أن (8%) ممن لديهم نقص (IgA) يكونون مصابين بمرض السيلياك (Meini *et al.,*1996) وحوالي (2%) من المرضى بمرض السيلياك يعانون من نقص (IgA)، لذلك تستخدم أحيانا فحوصات للكشف عن ضدات (IgG) و لكن يبقى (IgA) من أكثر الفحوصات حساسية لهذه الضدات(**Cataldo *et al.,*1998**).

1. ضدات الأندوميسال (EMA):Endomysial antibodies

ان حساسية هذا الفحص هو أقل بقليل من (tTG) لكنه ذو دقة وخصوصية عالية لمرض السيلياك اذ تصل دقته الى (100%) (Green and Celier,2007). يقاس(EMA) بوساطة التألق المناعي (immunofluorescent assay) لكن هذا الفحص يحتاج الى وقت وكذلك يكون ذا تكلفة أعلى من تقنية الأليزا وكذلك فهو يعطي نتائج غير دقيقة أكثر من (tTG).وتشير بعض الدراسات إلى أن التخافيف أو التراكيز المتعلقة في(tTG ,EMA) ترتبط مع درجة الضرر الحاصل في الامعاء جاعلا هذه الفحوصات أقل حساسية بين المرضى ذوي الضرر المتوسط (Tursi *et al* .,2003).

2. ضدات الكلايدين :(AGA) Anti-gliadin antibodies

إن الكلايدين هو أحد مكونات الكلوتين القابل للذوبان في الكحول وهو البروتين الرئيس المخزون في الحنطة و المكون السام لمرضى السيلياك وهو المسبب للتفاعلات المناعية في القناة الهضمية. وان الفحوصات الاولى للمرض طورت في اوائل الثمانينات وكذلك قياس ضدات الكلايدين (AGA) صنف (IgG,IgA) وقبل توفر هذه الفحوصات كان تشخيص المرض يتم على أساس الأعراض السريرية وخزعة الاثني عشري. عند مقارنة الضدات صنف (IgA) مع ضدات صنف (IgG) نجد أن ضدات (IgA) لها حساسية عالية ولكن دقته في الفحوصات أعلى ولهذا فإن فحوص ضدات للكلايدين صنف (IgA) تكون ذات دقة عالية (Rostom *et al.*,2006; Hill,2005). وعلى الرغم من ان ضدات الكلايدين (IgA,IgG) هي من الفحوصات التي لها حساسية عالية لكن دقتها اقل من الفحوصات التي اساسها ضدات الاندوميسيال (EMA) وضدات الترانسكلوتاميز (TTG) (Rostami *et al.*,1999) اذ ان حساسية ودقة الفحوص لكلا (IgA,IgG) (AGA) ما بين 80% و90% مع دقة أوطأ وهذه النسب تلاحظ في الكبار مقارنة مع الاطفال (Rostom *et al.*,2005). يستخدم هذا الفحص للأطفال بعمر أقل من ثمانية عشر شهرا اذ قد تعطي الفحوصات (tTG,EMA) نتائج سلبية خاطئة، وهناك طرائق عديدة تستخدم لتحليل (AGA) ولكن الطريقة الحديثة و الاكثر أستخداماً هي بوساطة تقنية الاليزا (Green and Cellier,2007) .

3. ضدات الترانسكلوتاميز (TG):Anti-tissue transglutaminase Abs

عرفت ضدات الترانسكلوتاميز بوصفها مستضداً ذاتياً للمرض في عام 1997، وهذا الاكتشاف ساعد في تطوير استخدام تقنية الاليزا وتجنب الصعوبات المترافقة باستخدام تقنية التألق المناعي (Immunoflorescence) في الكشف عن الضدات الذاتية للمرضى(Dieterich *et al.*,1997). كان الاستخدام الاول لطريقة الاليزا لأختبار الترانسكلوتاميز هو بأستخدام نسيج كبد خنزير غينيا كمستضد (tissue transglutaminase) (Sulkanen *et al.*,1998). وهناك ميل كبير في استخدام فحص الترانسكلوتاميز (IgA) كفحص للمرضى حيث أن هذه الضدات

لها حساسية للمرض أكثر من (97%) ولذلك تلاحظ النتائج الموجبة الكاذبة لهذا الفحص في حالة الامراض المعوية الاخرى مثل التهاب الامعاء (IBD) والتحسس الغذائي وفي حالة الاصابة بطفيلي الجيارديا والاصابات المعوية الاخرى (Stern,2000) .

4. نزع الامين من ببتيدات الكلايدين (DGP) :

يعتمد هذا الفحص على تحويل ببتيدات الكلوتين الى ببتيدات منزوعة الأمين بوساطة الترانسكلوتاميناز المعوي (tTG) وهذه الببتيدات ترتبط بألفة عالية مع مستضد الخلية اللمفاوية (DQ2) أو(DQ8) على خلايا تقديم المستضد (APC) ويؤدي هذا الارتباط الى تحفيز أستجابة الخلايا التائية (T-cell) بالغشاء المخاطي المعوي للمريض (Schuppan *et al.,*2009). وبالاعتماد على الدراسات السكانية اذ أظهرت هذه الدراسات أن لأختبار(anti-DGP IgA) حساسية وخصوصية مقاربة لاختبار(anti-tTG IgA) (Lewis and Scott,2010)، ولوحظت في الدراسات الحديثة ان أداء (anti-tTG IgA) أفضل وكذلك كلفته أقل من أختبار (anti-DGP IgA) (Volta *et al.,*2010).

2.9.2.الفحص الوراثي : HLA-typing

يستخدم هذا الفحص في الحالات المشكوك بها عندما تتعارض نتائج الفحوصات المصلية مع نتائج فحوص الانسجة وكذلك يستخدم في حالة الاقارب من الدرجة الاولى للمرضى بمرض السيلياك اذ ان المرض يكون بعيد الاحتمال عندما يكون المريض ذا (HLA-DQ2,HLA-DQ8) سالب (Karell *et al.,*2003). وكذلك أنخفاض القيمة التنبؤية التي يمتلكها(DQ2 or DQ8) الموجب، بينما يحمل(30%) من الاشخاص الاصحاء هذين الاليلين (Hsby *et al.,*2011) .

3.9.2. فحوصات أخرى:

هناك العديد من الفحوص المختبرية التي تشير الى المرض عندما تكون نتائجها غير طبيعية مثل نقص الحديد، والفوليت، والكالسيوم، وكذلك الفيتامينات الذائبة في الدهون (A,D,E,K) وكذلك يلاحظ نقص فيتامين (B12) في (40%) من الحالات المشخصة بمرض السيلياك (Dahele and Ghosh,2001) .

10.2.مرض السيلياك وأمراض المناعة الذاتية المرتبطة معه: celiac disease associated with other autoimmune diseases

يزداد انتشار مرض السيلياك في الحالات ذات الخطر مثل امراض المناعة الذاتية، نقص الكلوبيولين المناعي (IgA) وبعض المتلازمات الوراثية مثل (متلازمة داون، ويليام، تيرنر) وقد بلغ معدل أنتشار المرض بين الاطفال المصابين بالسكري من النوع الاول (4.5%) (Holmes,2002). وازداد أنتشار المرض حوالي ستة الى سبعة أضعاف في المصابين بأمراض الغدة الدرقية (Larizza *et al.,*2001). أما المصابون بمتلازمة أدسون فقد بلغ أنتشار المرض (3–8%) (Myhre *et al.,*2003; Biagi *et al.,*2006). وقد لاحظ (Venture) وزملاؤه أن مدة التعرض للكلوتين تكون مرتبطة بأنتشار الامراض المناعة الذاتية في مرضى السيلياك (Ventura *et al.,*1999)، وان انتشار أضطرابات المناعة الذاتية (5.1%) اذا ما عمل تشخيص لمرض السيلياك قبل عمر السنتين لكن اذا ماعمل التشخيص بعد عمر العشر سنوات فإن انتشار المرض (23.6%)، وعلى أية حال فإن الدراسات الاخرى لم تؤكد على مدة التعرض للكلوتين على الرغم من أن التشخيص في الاشخاص الاكبر عمراً يزيد من كمية أمراض المناعة الذاتية المرتبطة بالمرض (Sategna Guidetti *et al.,*2001,Viljamaa *et al.,*2005).

3. المواد وطرائق العمل:

Materials and Methods

1.3.المواد Materials

1.1.3.الاجهزة والمستلزمات المختبرية : يبين الجدول(1:3)الأجهزة والمستلزمات المختبرية التي استخدمت في أثناء فترة الدراسة.

جدول(1:3):الاجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة في أثناء فترة الدراسة.

الاجهزة والمستلزمات المختبرية	الشركة المصنعة ومنشأها
1.منظومة اليزا ELISA	أميركيا Biotek
2.Microcentrifug	المانيا Hettich
3. جهاز الطرد المركزي centrifuge	المانيا Rotina
4. حاضنة Incubator	المانياMemmert
5. جهاز المطياف Spectrophotometer	انكلترا Cecil-7200
6.جهاز الدوار الميكانيكي Mechanical rotator	المانيا Hettich
7.Freezer (5-°م)	عشتار(العراق)
8.ساعة توقيت	المانياTermaks
9.ماصات أوتماتيكيةMicropipette	المانيا Slamed
10.ثلاجة	تركياArcelik
11.اسطوانة زجاجية مدرجة Cylinder	المانيا HBG
12.أنابيب ابندروف Eppendroff tubes	المانيا Eppendroff

2.1.3.العدد المختبرية التشخيصية :

أستخدمت في الدراسة العدد المختبرية التشخيصية المبينة أنواعها ومناشئها في الجدول (3-2) .

جدول(3-2):العدد المختبرية ومناشئها المستخدمة في االدراسة.

العدد التشخيصية	الشركة المصنعة ومنشأها
1.Anti-gliadin Ab IgA(ELISA) عدة للكشف عن الضدات النوعية (IgA) للكلايدين في المصل بتقنية الأليزا.	المانيا AESKULISA
2. Anti-Transglutaminase Ab IgA(ELISA) عدة للكشف عن الضدات النوعية(IgA) للترانسكلوتاميز في المصل بتقنية الأليزا.	المانيا AESKULISA
3.CRP -LATEX عدة الكشف عن بروتين (سي) التفاعلي في المصل بطريقة التلازن الكمي والنوعي.	أسبانياSPINREACT
4.Albumin kits عدة قياس تركيز الزلال في المصل بطريقة المقياس اللوني.	أسبانياSPINREACT
5.Calicum kits عدة قياس تركيز الكالسيوم في المصل بطريقة المقياس اللوني.	أسبانياSPINREACT
6. محلول الملح الفسيولوجي 0.9 Nacl	Jeddah,Saudi Arabia

2.3.تصميم الدراسة: Study design

1.2.3.مجاميع الدراسة: Study groups

اجريت هذه الدراسة في محافظة ديالى للفترة من (4أيلول 2011-12 نيسان 2012) في مستشفى البتول التعليمي للنسائية والاطفال وكانت دراسة مقطعية شملت المرضى الراقدين في ردهات الاطفال ومرضى العيادة الخارجية للأطفال في المستشفى المذكور. اذ تم اعداد استمارة خاصة لغرض جمع المعلومات التي تخص

المريض من خلال اجراء مقابلة مع ذويهم وكانت بخصوص (العمر، والجنس، والسكن، والتاريخ العائلي للمرض) وقسمت مجاميع الدراسة الى:

1.مجموعة المرضى : patients group

تضمنت هذه المجموعة 156 طفلاً مشكوك بإصابتهم سريريا بالمرض وتراوحت أعمارهم من (1شهر–14سنة).

2. مجموعة السيطرة: control group

تضمنت هذه المجموعة 24 طفلاً أصحاء ظاهريا تراوحت أعمارهم (1شهر–14سنة).

2.2.3.جمع النماذج :

جمعت نماذج الدم من مجاميع الدراسة وذلك بتعقيم مكان سحب الدم بالكحول الأثيلي (70%) بعدها تم سحب 5 مللتر من الدم الوريدي بأستخدام محاقن طبية نبيذة. وضعت عينة الدم في أنابيب مختبرية خالية من مانع التخثر مرقمة سلفا. ملئت انبوبتان شعريتان تحوي على الهيبارين مباشرة لغرض قياس تركيز خضاب الدم. تركت الانابيب المختبرية الحاوية على عينات الدم في درجة حرارة الغرفة لمدة (15–20) دقيقة لحين تجلط الدم. نبذت الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة (5000) دورة/ دقيقة ولمدة 5 دقائق. فصل مصل الدم بأستخدام الماصات الاتوماتيكية وقسمت عينة المصل الى ثلاثة أقسام في أنابيب مختبرية صغيرة(Eppendorff tubes) مرقمة سلفا، خصصت العينة الاولى لاجراء الفحوص المناعية، والثانية لاجراء الفحوص الكيموحيوية، والثالثة لاجراء فحص التحري عن بروتين (سي) التفاعلي و حفظت جميع النماذج في (5–) درجة مئوية لحين الاستعمال. اجريت الفحوص المناعية بتقنية الاليزا في وحدة الفيروسات في مختبر الصحة العامة في بعقوبة من قبل الباحث ومساعدة الاشخاص المدربين في المختبر المذكور وحسب طريقة العمل المعدة من قبل الشركة المصنعة، بينما أجريت الفحوص الكيموحيوية وفحص التحري عن بروتين (سي) التفاعلي في مختبر مستشفى البتول التعليمي للنسائية والاطفال.

3.3.طرائق العمل : Methods

1.3.3.فحص تحديد تركيز الزلال في المصل:

1.1.3.3. مبدأ الاختبار: Test Principle

عند أضافة بروم كريسول الاخضر الى المصل المراد فحصه في (pH) حامضي قليل يحدث تغيراً للمؤشر واضحاً للعيان من الاخضر المصفر الى الازرق المخضر. ان كثافة اللون المتشكل تتناسب مع تركيز الزلال في العينة.

2.1.3.3.طريقة العمل: Test procedure

أجريت هذه الطريقة حسب ماورد في (Young,2001).

1. أخذت ثلاث أنابيب اختبار وضعت في الانبوبة الاولى 1 مللتر من بروم كريسول الاخضر وعدت هذه أنبوبة (Blank).
2. أضيفت الى الانبوبة الثانية وهي أنبوبة المحلول القياسي 1 مللتر من بروم كريسول الاخضر و5 مايكروليتر من المحلول القياسي.
3. أضيفت الى الانبوبة الثالثة وهي أنبوبة العينة 1 مللتر من بروم كريسول الاخضر و5 مايكروليتر من المصل المراد فحصه.
4. مزجت التراكيز جيدا في أنابيب الاختبار وحضنت لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة (15-25)°م.
5. قرأت الامتصاصية للعينة وللمحلول القياسي والبلانك في جهاز المطياف الضوئي على طول موجي (630) نانوميتر.

3.1.3.3. أستخلاص النتائج: Test interpretation

حسبت قيمة الزلال من المعادلة الآتية:-

امتصاصية العينة ÷امتصاصية المحلول القياسي ×5 (تركيز العينة) = g\dL تركيز الزلال في العينة.

عامل التحويل: g\dL× 144.9 =µmol/ L.

2.3.3. فحص تحديد تركيز الكالسيوم في المصل:

1.2.3.3. مبدأ الاختبار: Test Principle

عند إضافة مركب (o–كريسول فتالين) الى المصل المراد فحصه في وسط قلوي يتكون مركب لوني بين الكالسيوم و(o–كريسول فتالين) وحسب المعادلة الآتية:–

$$Ca^{+2} + 0\text{–Cresolphtalein} \xrightarrow{OH} \text{Colored complex.}$$

وان كثافة اللون المتشكلة تتناسب مع تركيز الكالسيوم في المصل.

2.2.3.3. طريقة العمل: Test Procedure

أجريت هذه الطريقة حسب ماورد في (Burtis *et al.*,1999).

1.أخذت ثلاثة أنابيب أختبار، أضيفت الى الانبوبة الاولى وهي أنبوبة البلانك 1 مللتر من الدارىء (ايثانول أمين) و1 مللتر من مولد اللون (o–كريسول فتالين، 8 –هايدروكسي كوينولين).

2. أضيفت الى الانبوبة الثانية وعدت أنبوبة المحلول المعياري 1 مللتر من الدارىء (أيثانول أمين) و1 مللتر من مولد اللون و20 مايكروليتر من المحلول المعياري.

3. أضيفت الى الانبوبة الثالثة 1 مللتر من الدارىء و1 مللتر من مولد اللون و20 مايكروليتر من المصل المراد فحصه.

4. مزجت المحاليل جيدا وحضنت لمدة 5 دقائق في درجة حرارة (37)°م.

5. قرأت الامتصاصية للعينة والمحلول المعياري والبلانك في جهاز المطياف على طول موجي 570 نانوميتر.

3.2.3.3.استخلاص النتائج: Test interpretation

امتصاصية العينة / امتصاصية المحلول المعياري ×10 (تركيز المحلول المعياري) = تركيز الكالسيوم بالعينة(mg/dL).

عامل التحويل:mg/dL ×0.25= تركيز الكالسيوم بوحدة (mmol/L) .

3.3.3.فحص بروتين(سي) التفاعلي C-Reactive protein:

1.3.3.3. مبدأ الاختبار: Test Principle

هو اختبار التلازن (التراص) على الشريحة الزجاجية تستخدم للكشف النوعي وشبه الكمي لبروتين (سي) التفاعلي الموجود في مصل الانسان. تحوي مادة الكشف على جزيئات اللاتكس المغطاة بالضدات النوعية (IgG) الخاصة ببروتين (سي) التفاعلي للانسان والمحضرة في الماعز. عند اندماج المستضد مع الضدات يتكون تلازن واضح للعيان.

2.3.3.3. طريقة العمل: Test Procedure

أجريت طرائق العمل هذه حسب ماورد في (Lars-Olof *et al.,*1997).

1.2.3.3.3.الطريقة النوعية : Qualitative method

1. أخذت 50 مايكروليتر من كل من المصل و محلول السيطرة الموجب ومحلول السيطرة السالب ووضعت على الدوائر المنفصلة على شريحة الاختبار.
2. أضيف قطرة من كاشف (CRP) الى المصل ومحلول السيطرة الموجب ومحلول السيطرة السالب.
3. مزجت قطرة الكاشف مع المصل بشكل جيد بحيث غطت كامل القطعة المحددة لها.
4. وضعت الشريحة على جهاز الدوار الميكانيكي على درجة(80-100) دورة بالدقيقة لمدة دقيقتين وقرأت النتيجة بعدها مباشرة اذ ان وجود التلازن يدل على ايجابية الفحص، وبالعكس عدم تكون التلزن يدل على سلبية الفحص.

2.2.3.3.3.الطريقة شبه الكمية: Semi-quantative method

1. تم عمل7 تخافيف للعينة، إذ أخذت أنبوبة أختبار نبيذة ووضع فيها 0.9 مللتر من المحلول الفسيولوجي (Normal saline) واضيف اليها0.1 مللتر من المصل وعدّ هذا التخفيف الاول (10:1).
2. أخذ 0.1 مللتر من العينة المخففة وأضيفت الى أنبوبة أختبار ثانية حاوية على 0.9 مللتر من المحلول الفسيولوجي وعدّ هذا التخفيف الثاني للعينة (20:1)

وهكذا الى أن وصلنا الى التخفيف الاخير (640:1) إذ همل 50 مايكروليتر المأخوذ من الانبوبة الاخيرة .

3. أجري فحص (CRP) لكل تخفيف وأتبعت طريقة العمل النوعية نفسها.

3.3.3.2.2.3. أستخلاص النتائج: Test interpretation

تم حساب تركيز CRP في العينة حسب المعادلة المذكورة في طريقة العمل:

. mg/L= CRP Titer × 6

وجود التلازن (التراص) يدل على أن تركيز (CRP) مساوٍ أو أكبر من (6 mg/L).

(Titer) معيار التراص في هذه الطريقة يدل على أعلى تخفيف يظهر نتيجة موجبة.

4.3.3.طريقة حساب تركيز الهيموكلوبين في الدم : Hemoglobin concentration

تم حساب تركيز الهيموكلوبين في الدم من خلال مقياس مكداس الدم (Packed Cell Volume) (PCV) حسب الطريقة الواردة في (Provan and Krentz, 2002).

1.4.3.3.طريقة العمل: Test Procedure

1.وضعت الانابيب الشعرية الحاوية على الهيبارين والتي جمعت كما ورد في الفقرة (2.2.3) في جهاز (microcentrifug) لمدة 5 دقائق.

2. تم قراءة (PCV) إذ وضعت الانبوبة الشعرية على المسطرة المتدرجة بحيث يكون الحد الفاصل بين المصل وكريات الدم على أحدى تدرجات المسطرة .

3. تم حساب تركيز الهيموكلوبين بحسب المعادلة الآتية:

HB= PCV−2 ÷3

5.3.3. أختبار الكشف عن الضدات النوعيةIgA للكلايدين: Anti−gliadin IgA

أستخدمت عدة الاليزا الخاصة بالتحري عن الضدات النوعية للكلايدين حسب تعليمات الشركة المنتجة (Caspary and Holtmeier, 1999).

1.5.3.3.مبدأ الاختبار: Test Principle

يعتمد مبدأ الاختبار على ارتباط الضدات النوعية IgA للكلايدين ان وجدت في المصل مع المستضد المثبت على السطح الداخلي الصلب لحفر طبق الاليزا اذ أن العينات المخففة بنسبة(101:1) تحضن في الطبق المكسو بالمستضد الخاص وترتبط الضدات مع المستضدات مكونة معقدا مناعيا. بعد ذلك تحضن ضدات الكلوبيولينات المناعية (anti–huma immunoglobulins) المقترنة بانزيم horseradish peroxidase(Conjugate) وترتبط مع المعقد المناعي (antigen– antibody complex) المتكون للعينة في حفرة الطبق. بعد اضافة المادة الاساس (Tetra Methyl Benzinide TMB/H_2O_2 Hydrogen Peroxide) الى الحفر يظهر لون أزرق وبعدها يتغير الى اللون الاصفر بأضافة محلول التوقف (1مولاري حامض الهيدروكلوريك). قرأت الكثافة اللونية (optical density(OD) للحفر بوساطة قارىء الاليزا ELISA Reader وعلى طول موجي 450 نانوميتر.ان شدة الكثافة اللونية تتناسب طردياً مع تركيز الاجسام المضادة الموجودة في المصل.

2.5.3.3. طريقة العمل: Test Procedure

1. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول المعياري (calibrators) أو (cut–off calibrator) والسيطرة السالب و الموجب الى الحفر التسع الاولى في طبق الاليزا.
2. أضيف 100 مايكروليتر من المصل المخفف الى كل حفرة في طبق الاليزا ماعدا التسع حفر الأولى.
3. غطي الطبق بوساطة الغطاء اللاصق وحضن لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة (20–32)°م.
4. بعد أنتهاء فترة الحضن غسل الطبق 3 مرات بأستعمال 300 مايكروليتر من محلول الغسل المخفف(50:1) (Washing buffer) المجهز مع العدة.
5. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول المقترن (Conjugate) الى كل حفر الطبق.

6.غطي الطبق بالغطاء اللاصق وحضن لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة (20–32)°م.
7. أزيل الغطاء اللاصق وغسل الطبق 3 مرات باستعمال 300 مايكروليتر من محلول الغسل (washing buffer) (50:1) كما في الفقرة رابعا.
8. أضيف 100 مايكروليتر من محلول الركيزة (المادة الاساسTMB) الى كل حفر الطبق.
9. غطي الطبق و حضن لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة (20–32)°م وفي مكان مظلم.
10.أوقف التفاعل بأضافة 100 مايكروليتر من محلول الايقاف (حامض الهيدروكلوريك) الى كل حفر الطبق.
11. حضن الطبق في الحاضنة لمدة 5 دقائق وبدرجة حرارة (20–32)°م.
12. قرأت االكثافة اللونية بوساطة جهاز القراءة للإليزا وعلى طول موجي450 نانوميتر.

3.5.3.3. أستخلاص النتائج: Test interpretation

عُدت الامصال موجبة إذا كانت مساوية أو أكبر من القراءة اللونية لقيمة الحد الفاصل (cut off) وعُدت الامصال سالبة إذا كانت أقل من القراءة اللونية لقيمة الحد الفاصل (cut off) .

6.3.3. أختبار التحري عن الضدات النوعيةIgA للترانسكلوتاميناز: Anti-tissu transglutaminase IgA Ab

استخدمت عدة الاليزا الخاصة بالتحري عن ضدات الترانسكلوتاميناز حسب تعليمات الشركة المنتجة(Shan *et al.,*2002).

1.6.3.3. مبدأ الاختبار: Principle of the test

يعتمد مبدأ الاختبار على ارتباط الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز ان وجدت في المصل مع المستضد المثبت على السطح الداخلي الصلب لحفر طبق الاليزا اذ أن العينات المخففة بنسبة(101:1) تحضن في الطبق المكسو بالمستضد الخاص وترتبط الضدات إن وجدت في العينة مع المستضد مكونة معقدا مناعيا. بعد ذلك تحضن ضدات الكلوبيولينات المناعية (anti-human

(immunoglobulins المقترنة بانزيم horseradish peroxidase (Conjugate) وترتبط مع المعقد المناعي (antigen– antibody complex) المتكون للعينة في حفرة الطبق. بعد اضافة المادة الاساس (Tetra Methyl BenzinideTMB/Hydrogen Peroxide H_2O_2) الى الحفر يظهر لون أزرق وبعدها يتحول الى اللون الاصفر بأضافة محلول التوقف(1مولاري حامض الهيدروكلوريك) وقرأت الكثافة اللونية (optical density) بوساطة قارىء الاليزا. ان شدة اللون المتشكلة من مولد اللون (chromogen) تتناسب مع كمية ارتباط المقترن (Conjucate) بالمعقد المناعي (antigen–antibody complex) وهذا يتناسب مع تركيز الضدات النوعية IgA في المصل.

2.6.3.3. طريقة العمل:Test Procedure

1. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول المعياري (calibrators) أو (cut–off calibrator) والسيطرة السالب والموجب الى الحفرة التسعة الاولى الموجودة في طبق الاليزا.
2. أضيف 100 مايكروليتر من المصل المخفف الى كل حفرة في طبق الاليزا ماعدا التسع حفر الاولى.
3. غطي الطبق بوساطة الغطاء اللاصق وحضن لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة (20–32)°م.
4. بعد أنتهاء فترة الحضن غسل الطبق 3 مرات بأستعمال 300 مايكروليتر من محلول الغسل المخفف (50:1) المجهز مع العدة.
5. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول المقترن (Conjugate) الى كل حفر الطبق.
6. غطي الطبق بالغطاء اللاصق وحضن لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة (20–32)°م.
7. أزيل الغطاء اللاصق وغسل الطبق 3 مرات باستعمال 300 مايكروليتر من محلول الغسل (washing buffer) (50:1).
8. أضيف 100 مايكروليتر من محلول الركيزة (المادة الاساسTMB) الى كل حفر الطبق.

9. غطي الطبق وحضن لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة (20–32)°م وفي مكان مظلم.
10. أوقف التفاعل بأضافة 100 مايكروليتر من محلول الايقاف (stop solution) الى كل حفر الطبق.
11. حضن الطبق لمدة 5 دقائق في الحاضنة وبدرجة حرارة (20–32)°م.
12. قرأت الكثافة اللونية(OD) بوساطة جهاز القراءة للاليزا وعلى طول موجي 450 نانوميتر.

3.2.6.3.3. أستخلاص النتائج: : Test interpretation

عدت الامصال موجبة إذا كانت مساوية أو أكبر من القراءة اللونية لقيمة الحد الفاصل (cut off) وعدت الامصال سالبة إذا كانت أقل من القراءة اللونية لقيمة الحد الفاصل (cut off).

7.3.3.التحليل الاحصائي للنتائج:Statistical Analysis

أجري التحليل الاحصائي للبيانات بادخال البيانات الى قاعدة بيانات حاسوبية إذ استخدمت نسخة برامج حاسوبية (SPSS) النسخة (20) (Statical Package for Social Sciences) بالاشتراك مع مايكروسوفت أكسل (2010) وقد عمل التوزيع التكراري للمتغيرات المختارة أولا لقياس قوة الترافق بين المتغيرين المطلقين وقيمت الأهمية الإحصائية لمثل هذه الحالة باستخدام اختبار مربع كاي–Chi) square) إذ أفترض مستوى المعنوية الاحصائية عند$P<0.05$ (Sorlie,1995) .

4. النتائج والمناقشة

Results and Disscusion

النتائج الواردة في هذا الفصل هي حصيلة التحليل الاحصائي للبيانات المتجمعة خلال مدة الدراسة.

1.4 مجاميع الدراسة:

بينت النتائج ان مجاميع الدراسة شملت مجموعة مرضى السيلياك المؤكد (الذين اعطوا نتائج ايجابية للضدات النوعية anti-gliadin IgA للكلادين والترانسكلوتامنيز anti- tissue transglutaminase) وتكونت من 15 طفلاً، ومجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد (الذين لم يعطوا نتائج ايجابية للضدات النوعية IgA للكلادين والترانسكلوتامنيز برغم وجود العلامات السريرية للسيلياك) وتكونت من 141 طفلا، ومجموعة السيطرة (الاطفال الاصحاء)، وتكونت من 24 طفلاً. الجدول (4-1) يبين المدى والمتوسط الحسابي لاعمار المجاميع الثلاث، إذ كان الوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لمجموعة السيطرة و مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد و مجموعة مرضى السيلياك المؤكد، 1.6± 1.99، 3.2±3.81، 4 ± 3.78 سنة على التوالي، و لم تظهر النتائج وجود فارق احصائي معنوي بينهم .

الجدول (4-1): المدى والمتوسط الحسابي لاعمار مجاميع الدراسة.

Age (ys)	Healthy control (n= 24)	Symptomatic Not celiac (n= 141)	Celiac disease (n= 15)	P value
Range	(0.1-7)	(0.1-14)	(0.1-12)	0.08 [NS]
Mean	1.6	3.2	4.0	
SD	1.99	3.81	3.78	
SE	0.41	0.32	0.98	

[NS]: non significant

2.4. الضدات النوعية IgA للكلايدين:

تبين النتائج في الجدول (4-2) ان الوسيط الحسابي median لتركيز الضدات النوعية IgA للكلادين في مجموعة السيطرة و مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد و مجموعة السيلياك المؤكد هي 2.03، 2.10، 32.0 على التوالي. إذ كان تركيز الضدات النوعية للكلايدين في مجموعة السيلياك المؤكد اعلى بشكل معنوي ($p < 0.001$) عما هو عليه لدى مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد، وبالمثل كان تركيز الضدات النوعية IgA للكلادين في مجموعة مرضى السيلياك المؤكد اعلى بشكل معنوي ($p < 0.001$) عما هو عليه لدى مجموعة السيطرة، في حين لم يكن هنالك فارق معنوي في تركيز الضدات النوعية IgA للكلادين في مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد مقارنة بمجموعة السيطرة ($p= 0.87$).

الجدول (4-2): تركيز الضدات النوعية IgA للكلادين في مجاميع الدراسة.

Anti-gliadin Conc.	**Healthy control (n= 24)**	**Symptomatic Not celiac (n= 141)**	**Celiac disease (n= 15)**	**P value**
Range	(0.095-5)	(0.07- 88)	(12-300)	< 0.001
Median	2.03	2.10	32.0	
Interquartile range	(1.6-2.65)	(1-3)	(15-52)	
Mean rank	20.1	15.0	32.0	

مجموعة السيلياك غير المؤكد X مجموعة السيطرة (P = 0.87)

مجموعة السيلياك المؤكد X مجموعة السيطرة (P < 0.001)

مجموعة السيلياك المؤكد X مجموعة السيلياك غير المؤكد ($p < 0.001$)

3.4.الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز:

تبين النتائج في الجدول (4-3) ان الوسيط الحسابي median لتركيز الضدات النوعية IgA لانزيم الترانسكلوتامنيز في مجموعة السيطرة ومجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد ومجموعة السيلياك المؤكد هو 2.50، 2.80، 150على التوالي. إذ كان تركيز الضدات النوعية IgA لانزيم الترانسكلوتامنيز في مجموعة السيلياك المؤكد اعلى بشكل معنوي ($p<0.001$) عما هو عليه لدى مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد، وبالمثل كان تركيز الضدات النوعية IgA لانزيم الترانسكلوتامنيز في مجموعة السيلياك المؤكد اعلى بشكل معنوي ($p<0.001$) عما هو عليه لدى مجموعة السيطرة، في حين لم يكن هنالك فارق معنوي في تركيز الضدات النوعية IgA لانزيم الترانسكلوتامنيز في مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد مقارنة بمجموعة السيطرة ($p= 0.24$).

الجدول (4-3): تركيز الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في مجاميع الدراسة.

Anti-tissue transglutaminase	Healthy control (n= 24)	Symptomatic Not celiac (n= 141)	Celiac disease (n= 15)	P value
Range	(1-21)	(0.1 -304)	(20-302)	< 0.001
Median	2.50	2.80	150.0	
Interquartile range	(2.25-3.4)	(2.3-4.8)	(26-300)	
Mean rank	72.5	85.2	169	

مجموعة السيلياك غير المؤكد X مجموعة السيطرة (P = 0.24)

مجموعة السيلياك المؤكد X مجموعة السيطرة (P < 0.001)

مجموعة السيلياك المؤكد X مجموعة السيلياك غير المؤكد(p < 0.001)

4.4.تركيز الكالسيوم في المصل:

تظهر النتائج في الجدول (4-4) ان الوسط الحسابي mean لتركيز الكالسيوم في امصال مجموعة السيطرة، مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد، مجموعة مرضى السيلياك المؤكد كانت 2.1، 2، 1.9 مليمول/لتر على التوالي. إذ كان تركيز الكالسيوم في امصال مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد اقل بشكل معنوي (P= 0.001) عما هو عليه لدى مجموعة السيطرة. وبالمثل كان تركيز الكالسيوم في امصال مجموعة السيلياك المؤكد اقل بشكل معنوي (P<0.001) عما هو عليه لدى مجموعة السيطرة. في حين لم يكن هنالك فارق معنوي احصائيا بين مجموعة مرضى السيلياك المؤكد ومجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد (P= 0.05)

الجدول (4-4): تركيز الكالسيوم في مجاميع الدراسة.

Serum calcium concentration (mmol/l)	Healthy control (n= 24)	Symptomatic Not celiac (n= 141)	Celiac disease (n= 15)	P value
Range	(1.9-2.5)	(1.29-2.4)	(1.75-2.1)	< 0.001
Mean	2.1	2.0	1.9	
SD	0.16	0.18	0.10	
SE	0.03	0.01	0.03	

مجموعة السيلياك غير المؤكد X مجموعة السيطرة (P = 0.001)

مجموعة السيلياك المؤكد X مجموعة السيطرة (P < 0.001)

مجموعة السيلياك المؤكدX مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد (P= 0.05).

تتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة التي أشارت الى ان تركيز الكالسيوم في امصال مجموعة المرضى بالسيلياك المؤكد أقل من مجموعة مرضى السيلياك الغير مؤكد ومجموعة السيطرة وكانت قيمة الوسيط الحسابي (1.9)

مليمول/ لتر ولم يكن هناك فارق معنوي احصائي بين مجاميع الدراسة (Saadah,2011).

وتتفق الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة إذ وجد ان انخفاض تركيز الكالسيوم هو من اعراض سوء التغذية التي يعاني منها المريض بالسيلياك (Freeman ,2008). تتفق الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة إذ وجد ان مستوى الكالسيوم أقل في مجموعة المرضى المشخصين بالسيلياك المؤكد وكذلك هناك أرتباط بين مستوى الكالسيوم وكثافة المعدن في العظام(BMD) (Kalayci *et al.*,2001).

5.4.تركيز الالبومين في المصل:

تبين النتائج في الجدول (4-5) ان الوسط الحسابي لتركيز الالبومين ± الانحراف المعياري في امصال مجموعة السيطرة، ومجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد، مجموعة مرضى السيلياك المؤكد كانت 39.9 ±2.89، 39.4 ±3.85، 37.5 ±3.25 ملغرام/ 100 ملليتر على التوالي. لم يظهر الإختبار الاحصائي وجود اي فارق معنوي احصائيا (P= 0.12) بين مجاميع الدراسة.

الجدول (4-5): تركيز الالبومين في مجاميع الدراسة.

Serum albumin concentration (mg/dl)	**Healthy control (n= 24)**	**Symptomatic Not celiac (n= 141)**	**Celiac disease (n= 15)**	**P value**
Range	(31.8-47)	(25-49)	(28.6-43.5)	0.12[NS]
Mean	39.9	39.4	37.5	
SD	2.89	3.85	3.25	
SE	0.59	0.32	0.84	

NS: Non-significant.

تتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة إذ وجد في دراسة لمرضى السيلياك المؤكد ان مستوى الالبومين أقل من (35غرام / لتر) في (28) (35%) من المرضى ودون وجود فارق معنوي احصائي بين مجاميع الدراسة (Saadah,2011) .

تتفق الداراسة الحالية مع الدراسات السابقة التي أشارت الى ان تركيز الالبومين في أمصال مجموعة المرضى بالسيلياك المؤكد أقل من تركيز الالبومين في أمصال مجموعة السيطرة ولم يكن هناك فارق معنوي أحصائي (AL-Mashhadani *et al.*,2009).

6.4.تركيز الهيموغلوبين في الدم (خضاب الدم):

لم تظهر النتائج في الجدول (4-6) وجود فارق معنوي احصائيا(P= 0.49) لتركيز خضاب الدم بين مجاميع الدراسة، إذ كان الوسط الحسابي لتركيز هيموغلوبين الدم في مجموعة السيطرة، ومجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد، ومجموعة مرضى السيلياك المؤكد 10.9± 0.85 ، 10.9 ± 1.13، 10.5 ± 1.56 غرام/ 100 ملليتر.

الجدول (4-6): تركيز الهيموغلوبين في مجاميع الدراسة.

Serum Hb concentration (gm/dl)	**Healthy control (n= 24)**	**Symptomatic Not celiac (n= 141)**	**Celiac disease (n= 15)**	**P value**
Range	(9-12.6)	(7.3-14.5)	**(6.2- 12.8)**	**0.49[NS]**
Mean	10.9	10.9	10.5	
SD	0.85	1.13	1.56	
SE	0.17	0.09	0.40	

NS: Non-significant

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فارق معنوي أحصائي لتركيز الهيموغلوبين في الدم بين مجاميع الدراسة ولا توجد نتائج دراسة مطابقة للدراسة الحالية لكن يمكن ان ينتج فقر الدم في مرضى السيلياك من نقص أمتصاص فيتامين B12 (نسبة صغيرة منها يمتص على طول الامعاء الدقيقة) وحامض الفوليك (يمتص بالصائم) (Halfdanarson *et al.*,2007).

7.4.تركيز بروتين (سي)التفاعلي:

يبين الجدول (4-7) تركيز بروتين (سي) التفاعلي في مجاميع الدراسة، إذ كان الوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لتركيز بروتين (سي) التفاعلي لدى مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد (106.5±190.7) اعلى بشكل معنوي احصائيا (P= 0.017) مقارنة بما هو عليه لدى مجموعة السيطرة (10±33.8). وبالمثل كان تركيز بروتين (سي) التفاعلي لدى مجموعة مرضى السيلياك المؤكد (137.3±221.5) اعلى بشكل معنوي احصائيا (P= 0.034) مقارنة بما هو عليه لدى مجموعة السيطرة. في حين لم يكن هنالك فارق احصائي معنوي (P= 0.53) في تركيز بروتين (سي) التفاعلي بين مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد ومجموعة السيلياك المؤكد.

الجدول (4-7): تركيز بروتين (سي) التفاعلي في مجاميع الدراسة.

Serum CRP concentration	**Healthy control (n= 24)**	**Symptomatic Not celiac (n= 141)**	**Celiac disease (n= 15)**	**P value**
Range	(0-160)	(0-640)	(0-640)	0.038
Mean	10.0	106.5	137.3	
SD	33.88	190.71	221.54	
SE	6.92	16.06	57.20	

تتفق الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة إذ وجد ان بروتين (سي) التفاعلي يكون سالبا في المرضى المشكوك بأصابتهم سريريا بالمرض (Dogan *et al.*,2010) إذ من الممكن ان تتشابه أعراض المرض مع أصابات أخرى مثل إلتهاب الامعاء أو أمراض أخرى.

8.4. الاعراض المرضية:

يبين الجدول (4-8) والملحق الخاص به علاقة الاعراض المرضية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم تلك الاعراض المرضية. فألم البطن وجد في 82.9 % بين المرضى المصابين بالسيلياك غير المؤكد في حين سجلت هذه العلامة المرضية لدى 17.1% من مرضى السيلياك المؤكد، فالبرغم من عدم وجود علاقة معنوية احصائيا (P=0.067) فإن عامل الخطورة (Odd ratio) يبين ان وجود هذه العلامة المرضية يزيد من احتمالية تشخيص مرض السيلياك 2.8 مرة اكثر من عدم وجودها. على العكس من ذلك فإن وجود الامساك يقلل من احتمالية تشخيص مرض السيلياك لان مقلوب عامل الخطورة (Inverse odd ratio) هو 2.2 مرة اكثر من عدم وجوده، علما بان العلاقة غير معنوية احصائيا (P= 0.46) ايضا.

اظهرت الدراسة أن اكثر الاعراض المرضية تأثيراً في تشخيص مرض السيلياك هو وجود النوع الاول من داء السكري (النوع الولادي)، إذ وجد أنه يزيد من احتمالية تشخيص مرض السيلياك لان عامل الخطورة بلغ 4.2 مرة اكثر من عدم وجوده، وعلى الرغم من ذلك فإن العلاقة تبقى غير معنوية احصائيا (P =0.10). وبالطريقة نفسها فإن وجود انتفاخ البطن يزيد من احتمالية التشخيص 1.4مرة، وكذلك قصر القامة فانه يزيد من احتمالية التشخيص 1.2مرة ولكن العلاقات تبقى غير معنوية في الحالتين (P= 0.6) و (P= 0.87) على التوالي.

يتبين من النتائج ان وجود اية علامة مرضية واحدة موجبة لا يشكل فرقا معنويا في تشخيص مرض السيلياك، ولكن في حالة وجود اثنين من الاعراض المرضية الموجبة مجتمعة فانهما يزيدان من احتمالية تشخيص مرض السيلياك بشكل معنوي (P = 0.017) لان عامل الخطورة في مثل هذه الحالات سيرتفع الى

12.6 مرة اكثر مقارنة بعدم وجودهما، اما في حالة اجتماع ثلاث الى اربع من العلامة المرضية الموجبة فإن ذلك سيجعل العلاقة بين وجود تلك العلامات المرضية واحتمالية تشخيص مرض السيلياك معنوية احصائيا (P=0.005) وان عامل الخطورة سيرتفع في مثل هذه الحالات الى 24.3 مرة اكثر مقارنة بعدم وجودها.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن ألم البطن وجد في 17.1% من مرضى السيلياك إذ تتقارب هذ النسبة مع ماوجد في دراسة أجريت في الاردن حيث وجد أن من بين الاعراض التي يعاني منها المريض هو الألم البطني المتكرر إذ وجدت هذه العلامة في خمسة مرضى من مجموع (34) طفلا وبنسبة (14%) (Rawashdeh *et al.,*1996) .

أظهرت الدراسة الحالية أن وجود الامساك يقلل من أحتمالية تشخيص مرض السيلياك وهذا لايتوافق مع ماأشارت اليه دراسات أخرى إذ بينت هذه الدراسات أن المريض بالسيلياك الكامن قد يعاني من الامساك (Giorgetti *et al.,*2000). كذلك لاتتوافق الدراسة مع دراسة أخرى أشارت فيها الى أن مريض السيلياك قد يعاني من أعراض نموذجية من بينها الامساك (David Branski,2012) .

كذلك أظهرت الدراسة الحالية أن أكثر الاعراض المرضية تأثيراً في تشخيص المرض هو وجود السكري من النوع الاول وهذا يتوافق مع الدراسات السابقة إذ أظهرت هذه الدراسات أن هذه العلامة المرضية مرتبطة بقوة مع مرض السيلياك (Cronin and Shanahan,1997).

وتتوافق الدراسة الحالية مع دراسة أخرى إذ بينت هذه الدراسة أن السكري من النوع الاول (المعتمد على الانسولين) واحد من أكثر الاعراض المرتبطة بالأطفال المصابين بالسيلياك وبنسبة (9%) (AL-Kafagi,2004) .

وتتقارب نتائج الدراسة مع ماوجد في المملكة العربية السعودية إذ أظهرت نتائج البحوث أرتفاعا في مستويات gliadin IgA في 10 (8.1%) من مجموع (123) طفلا مريضا بالسكري (Al-shwal,2003) .

تتفق هذه الدراسة مع دراسة أخرى أجريت في محافظة ديالى إذ بينت هذه الدراسة أن هنالك نسبة أصابات عالية لمرض السيلياك بين الاطفال واليافعين المصابين بقصر القامة مع أعراض أو بدون أعراض هضمية ولقد أجري الفحص السريري و المختبري الروتيني لاستبعاد الاسباب الاخرى المسببة لقصر القامة ولم يكن هناك فارق معنوي أحصائيا (AL-husseiney and AL-Teemimi,2008).

9.4. العوامل الديموغرافية:

يبين الجدول (4–9) علاقة العوامل الديموغرافية الداخلة في الدراسة مع التشخيص النهائي لمرض السيلياك لدى مجموعة المرضى المشتبه أصابتهم بالمرض. إذ اظهرت النتائج أن اعلى نسبة 13 % للإصابة بمرض السيلياك كانت بين الفئة العمرية (1–5) سنة مقارنة بالفئات العمرية الاخرى، وكان عامل الخطورة odd ratio في هذه الفئة العمرية هو 2 مرة اكثر مقارنة بالقياس ومع ذلك لم تكن العلاقة معنوية احصائيا (P= 0.35). اما عامل الجنس فقد اظهرت النتائج بان مرض السيلياك كان اعلى لدى الذكور 12.7% مقارنة بالإناث 7.5%. وكان عامل الخطورة في الذكور 1.8 مرة اعلى مما هو عليه في الاناث، وبالرغم من ذلك فإن العلاقة لم تكن معنوية احصائيا (P= 0.28). اظهرت النتائج ايضا أن مرض السيلياك كان اكثر انتشارا لدى المرضى الذين يقطنون المناطق الحضرية مقارنة بأولئك الذين يقطنون المناطق الريفية (12.4% مقابل 3.9%) على التوالي. وبلغ عامل الخطورة 3.5 مرة اكثر عند الذين يقطنون المناطق الحضرية مقارنة بالذين يقطنون المناطق الريفية، وبالرغم من ذلك لم تكن العلاقة معنوية احصائيا (P= 0.11). ان وجود مرض السيلياك في العوائل ذات التاريخ الايجابي كان اعلى مما هو عليه في العوائل التي لاتمتلك تاريخا عائليا (16.7% مقابل 8.7%) على التوالي. وكان عامل الخطورة لدى العوائل ذات التاريخ المرضي الموجب 2.1 مرة اكثر مما هو عليه لدى العوائل التي لاتمتلك تاريخاً عائلياً موجبا، وبالمثل لم تكن العلاقة ذات مغزى احصائي (P= 0.29).

أظهرت نتائج الدراسة أن أعلى نسبة للمرض كانت بين الفئة العمرية (1–5) سنوات وتتفق هذه النتائج مع ما وجد في دراسة أخرى أظهرت فيها أن المرض يمكن أن يشخص في أية مرحلة عمرية لكن أفضل فترة للتشخيص هي فترة الطفولة المبكرة وان الانتشار العالمي للمرض في الاطفال يتراوح (0.31%_0.9%) (Dube,2005; Hoffenberg,2003). أما من حيث عامل الجنس فإن نتائج الدراسة الحالية لاتتوافق مع دراسة أخرى أظهرت فيها النتائج أرتفاع نسبة المصابات من الاناث بمرض السيلياك (AL–Khafagi,2004)، وقد يعود السبب الى أعداد المصابين المأخوذة بالدراسة وكذلك العوامل الوراثية أو التاريخ العائلي بالنسبة للمصابين و لاتتفق الدراسة مع دراسة أخرى أظهرت فيها أن أنتشار المرض أعلى في الاناث منه في الذكور وبنسبة 1:2 (Ciclitira,2001). وتتفق الدراسة مع دراسة أخرى أظهرت نتائجها بأن للسكن دوراً في أنتشار المرض إذ يتفاوت أنتشار المرض بين أفراد البلد الواحد على سبيل المثال بإختلاف الانتشار في أجزاء مختلفة من الهند (Sood *et al.,*2006; Bhattachary *et al.,*2009) قد يعود هذا الإختلاف الى الإختلاف في العادات الغذائية وكذلك الى الارتباط أو التوافق بين العوامل الوراثية وتلك المناطق، أما نسب أنتشار المرض في بلدان الشرق الاوسط مثل سوريا، وتركيا، وإيران تكون مشابهة لتلك النسب في البلدان الغربية (Malekzadeh *et al.,*2005).

تتفق الدراسة الحالية مع دراسات أخرى أثبت فيها أن مرض السيلياك يكون أعلى في العوائل التي لها قابلية وراثية للأصابة بالمرض (حوالي 10% من أقارب الدرجة الاولى للمريض متأثرين للأصابة بالمرض) ويرجع هذا الى الارتباط القوي بمستضد الخلية اللمفاوية (HLA)، و تتقارب نتائج الدراسة مع ماوجد في دراسة أخرى إذ بينت تلك الدراسة أن حوالي 14.1% من أقارب الدرجة الاولى لمريض السيلياك يمتلكون مرض السيلياك الصامت وبالاعتماد على وجود ضدات (EMA) وكذلك وجود أليل (DQ2) (AL–Khafagi,2004) وكذلك تتقارب هذه النتائج مع ما وجد في دراسة أخرى التي ظهر فيها أن نسبة الحدوث هي (18%) و(16%) على التوالي(Marsh,1992; Kati *et al.,*1992).

لاتتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماوجد في دراسة أخرى إذ أظهرت نتائج هذه الدراسة أن الأسهال هو العلامة الرئيسة لدى الأطفال (44%) بينما أحتل ألم البطن المرتبة الثانية (14%) والقوام القصير (12%)، وانتفاخ البطن (9%)، والامساك (9%) وترجع هذه النتائج الى أسباب عديدة منها التاريخ العائلي للمرض، والأستهلاك العالي للحنطة من قبل السكان وكذلك مدة الرضاعة الطبيعة وكذلك وقت أدخال الحبوب المحتوية على الكلوتين للأطفال (Rawashdeh *et al.,*1996).

10.4.اهمية العلامات المرضية والعوامل الديموغرافية:

يبين الجدول (4–10) العلامات المرضية وبعض العوامل الديموغرافية مرتبة بحسب اهميتها في تشخيص مرض السيلياك. فقد احتلت العلامات المرضية، الم البطن ووجود داء السكري من النوع الاول المرتبتين الاولى والثانية من حيث اهميتها في تشخيص مرض السيلياك. اما السكن في المناطق الحضرية ووجود تاريخ مرضي في العائلة والعمر فقد احتلت المراتب الثالثة والرابعة والخامسة على التوالي. وجاءت عوامل العمر وتأخر النمو (تأخر النمو للاطفال وتأخر التسنين) وانتفاخ البطن بالمراتب الثامنة والتاسعة والعاشرة على التوالي. في حين احتلت علامة قصر القامة المرتبة الاخيرة (الثانية عشر) من حيث الاهمية . وبالمقابل فقد اظهرت النتائج ان العلامات المرضية، والامساك وعدم تحمل اللاكتوز والاسهال المزمن كانت لها ترافق عكسي Inversely related مع تشخيص المرض. وعلى اية حال فإن معدل الدقة التنبؤية الكلية لتلك العلامات المرضية والعوامل الديموغرافية مجتمعة كانت 71.2% الا أن قيمة (P) كانت غير معنوية احصائيا (P = 0.098).

جدول (4-10) اهمية العلامات المرضية والعوامل الديموغرافية في تشخيص المرض.

العلامات المرضية العوامل الديموغرافية	نوع الترافق	الترتيب
الم البطن		1
الاصابة بداء السكري (النوع الاول)		2
السكن في المناطق الحضرية		3
وجود تاريخ عائلي		4
الجنس		5
الامساك	ترافق عكسي	6
عدم تحمل اللاكتوز	ترافق عكسي	7
العمر		8
تاخر النمو (تاخر نمو الطفل، تاخر التسنين)		9
انتفاغ البطن		10
الاسهال المزمن	ترافق عكسي	11
قصر القامة		12

Wilk's lambda = 0.88

P = 0.098

Overall predictive accuracy = 71.2%

11.4. المعلمات المناعية:

تظهر النتائج في الجدول (4-11) العلاقة بين وجود الضدات النوعية IgA للكلايدين واحتمالية تشخيص مرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية. فإن وجود الضدات النوعية IgA للكلايدين كانت ايجابية لدى 42.3 % من مرضى السيلياك غير المؤكد، مقابل 57.7% لدى مرضى السيلياك المؤكد وبفارق احصائي معنوي (P<0.001). ان عامل الخطورة في هذه الحالة هو

351.1 مرة اكثر من عدم وجوده، اي ان وجود الضدات النوعية IgA للكلايدين يزيد من احتمالية تشخيص مرض السيلياك 351.8 مرة اكثر من حالة عدم وجوده.

اما الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز فقد كانت ايجابية لدى 34.8% من مرضى السيلياك غير المؤكد مقابل 65.2 لدى مرضى السيلياك المؤكد وبفارق احصائي معنوي ($P<0.001$). ان عامل الخطورة في حالة ايجابية الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز كانت 486.9 مرة اكثر من حالة عدم وجودها، اي ان ايجابية الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز يزيد من احتمالية تشخيص مرض السيلياك 486.9 مرة اكثر من حالة كونها سلبية.

في الجدول (4-12) تبين النتائج ايجابية الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في مجموعة السيطرة مقارنة بمحموعة المرضى المشتبه اصابتهم بمرض السيلياك، إذ اظهرت النتائج ان معدل ايجابية الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز لدى مجموعة السيطرة بلغ 4.2% مقابل 14.7% لدى المرضى المشتبه اصابتهم بمرض السيلياك وبفارق احصائي غير معنوي (P= 0.16). اما في حالة مقارنة ايجابية الضدات النوعية IgA للترنسكلوتامنيز في مجموعة السيطرة مع كل من مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد و مجموعة مرضى السيلياك المؤكد، فقد اظهرت النتائج أن معدل الضدات النوعية IgA لدى مرضى السيلياك غير المؤكد 5.7% مقابل 100 % لدى مرضى السيلياك المؤكد وبفارق احصائي معنوي(P<0.001) بين المجاميع الثلاث.

جدول (4-12) ايجابية الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في مجاميع الدراسة.

مجاميع الدراسة	الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز			قيمة P
	العدد	الموجب	%	
مجموعة السيطرة	24	1	4.2	0.16 [NS]
مجموعة المرضى المشتبه بهم	156	23	14.7	
مجموعة السيطرة	24	1	4.2	< 0.001
مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد	141	8	5.7	
مجموعة مرضى السيلياك المؤكد	15	15	100.0	

تبين النتائج في جدول (4-13) ايجابية الضدات النوعية IgA للكلايدين في مجموعة السيطرة مقارنة بمحموعة المرضى المشتبه اصابتهم بمرض السيلياك، إذ اظهرت النتائج ان معدل ايجابية الضدات النوعية IgA للكلايدين لدى مجموعة

السيطرة بلغ صفر% مقابل 16.7% لدى المرضى المشتبه اصابتهم بمرض السيلياك وبفارق احصائي معنوي (P=0.031). وبالمثل في حالة مقارنة ايجابية الضدات النوعية IgA للكلايدين في مجموعة السيطرة مع كل من مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد و مجموعة مرضى السيلياك المؤكد، فقد اظهرت النتائج أن معدل الضدات النوعية IgA للكلايدين لدى مرضى السيلياك غير المؤكد 7.8% مقابل 100 % لدى مرضى السيلياك المؤكد وبفارق احصائي معنوي (P< 0.001) بين المجاميع الثلاث.

جدول (4-13) ايجابية الضدات النوعية IgA للكلايدين في مجاميع الدراسة.

مجاميع الدراسة	الضدات النوعية IgA للكلايدين			قيمة P
	العدد	الموجب	%	
مجموعة السيطرة	24	0	0.0	0.031
مجموعة المرضى المشتبه بهم	156	26	16.7	
مجموعة السيطرة	24	0	0.0	< 0.001
مجموعة مرضى السيلياك غير المؤكد	141	11	7.8	
مجموعة مرضى السيلياك المؤكد	15	15	100.0	

أظهرت نتائج الدراسة أن الضدات النوعية IgA للكلايدين كانت 57.7% لدى مرضى السيلياك إذ لاتتفق هذه النتائج مع نتائج بحث آخر بينت فيه أن AGA-IgA كانت أيجابية لدى 95% من مرضى السيلياك وسبب هذا الاختلاف يعود الى أن أعمار الدراسة كانت أقل من عمر السنة وكذلك حساسية الفحوص المستخدمة، بينما تتفق هذه الدراسة في جانب آخر مع نتائج الضدات النوعية IgA للترانسكلوتاميناز إذ أظهرت أن TgA-IgA وجد في 66% من مرضى السيلياك (Simell,2010) لكن لاتتفق نتائج الضدات النوعية TGA-IgA إذ وجدت بنسبة 30% لدى مرضى السيلياك، وسبب هذا الإختلاف هو أن الفئة العمرية للدراسة كانت (2.5-15) سنة لكن تتقارب النتيجة عند مقارنة ايجابية الضدات TGA_IgA في مجموعة السيطرة إذ كانت النسبة 3.3%(Wadaa,2012) كما ترتبط مستويات

الترانسكلوتاميناز في أكثر الأحيان مع شدة المرض ولاسيما في المرضى صغار العمر (Savilahti *et al.,*2010)، وتتفق نتائج الضدات النوعية للترانسكلوتاميناز مع دراسة أخرى ظهر فيها ان ($p<0.001$) ويرتبط مع العمر ودرجة الضرر الحاصل في الزغابات (Vivas *et al.,*2008).

12.4.صلاحية المعلمات المناعية:

تظهر النتائج في الجدول (4-14) صلاحية الاختبارات المناعية وهي كل من الضدات النوعية IgA للكلايدين والضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في المصل في تشخيص مرض السيلياك، إذ تبين النتائج ان حساسية إختبار الضدات النوعية IgA للكلايدين في المصل كانت 100% وخصوصيته كانت 92.2% ودقة الإختبار كانت 92.9% والقيمة التنبؤية الموجبة عندما تكون احتمالية تشخيص مرض السيلياك سريريا 50% فهي 92.8% والقيمة التنبؤية الموجبة عندما تكون احتمالية تشخيص مرض السيلياك سريريا 90% فهي 99.1% والقيمة التنبؤية السالبة عندما تكون احتمالية تشخيص مرض السيلياك 10 % فهي 100%.

اما صلاحية إختبار الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في المصل فقد اظهرت النتائج ان حساسية الإختبار كانت 100% وخصوصيته كانت 94.3% ودقة الإختبار كانت 94.9% والقيمة التنبؤية الموجبة عندما تكون إحتمالية التشخيص مرض السيلياك سريريا 50% فهي 94.6% والقيمة التنبؤية الموجبة عندما تكون إحتمالية تشخيص مرض السيلياك سريريا 90% فهي 99.4 % والقيمة التنبؤية السالبة عندما تكون إحتمالية تشخيص مرض السيلياك 10 % فهي 00 %.

جدول (4-14) صلاحية الاختبارات المناعية في تشخيص مرض السيلياك.

الاختبار	الحساسية sensitivity	الخصوصية specifity	الدقة Accuracy	القيمة التنبؤية الموجبة PPV		القيمة التنبؤية السالبةNPV
				% 50	% 90	%10
الضدات النوعية IgA للكلايدين	100.0	92.2	92.9	92.8	99.1	100.0
الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز	100.0	94.3	94.9	94.6	99.4	100.0

لاتتفق نتائج صلاحية الاختبارات المناعية للضدات النوعية IgA للكلايدين مع نتائج دراسة أخرى وجد فيها أن حساسية إختبار الضدات النوعية AGA- IgA (85-90%) (Rostom *et al.*,2006). كمالاتتفق مع ماوجد في دراسة أخرى تبين أنخفاض حساسية الاختبار(42-46)، أما خصوصية الإختبار فقد كانت (85-88%) (Reeves *et al.*,2006) .

تتقارب نتائج الدراسة مع نتائج الدراسات الاخرى لتقييم صلاحية إختبار الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامينيز فقد كانت حساسية الإختبار (61-100%) والخصوصية (86-100%) (Hadithi,2008). أما في دراسة أخرى فتتقارب نتائج إختبار حساسية TGA-IgA إذ تصل الى 94% (Collin *et al.*,2005). كما أظهرت دراسة أخرى القيمة التبؤية الموجبة للترانسكلوتامينيز (89%) وهي تتقارب مع نتائج الدراسة الحالية (Mubarak *et al.*,2012) .

12.4.اهمية المعلمات المناعية والكيموحيوية :

تظهر النتائج في الجدول (4-15) ترتيب المعلمات المناعية والاختبارات الكيموحيوية من حيث اهميتها في تشخيص مرض السيلياك. فقد احتل إختبار التحري عن الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في المصل المرتبة الاولى من حيث الاهمية في تشخيص المرض ويليه إختبار التحري عن الضدات النوعية IgA للكلايدين في المصل المرتبة الثانية وكان ترتيب تحديد تركيز بروتين سي التفاعلي بالمرتبة الثالثة. بالمقابل سجلت الفحوص الكيموحيوية وهي تركيز الكالسيوم في

المصل و تركيز الزلال في المصل وتركيز خضاب الدم (الهيموغلوبين) ترافقا عكسيا Inversely related مع تشخيص المرض. وعلى اية حال فإن معدل الدقة التنبؤية الكلية لتلك المعلمات المناعية والاختبارات الكيموحيوية مجتمعة كانت 94.2% وكانت قيمة (P) معنوية احصائياُ (P < 0.001).

جدول (4-15) اهمية المعلمات المناعية والاختبارات الكيموحيوية في تشخيص المرض.

المعلمات المناعية والاختبارات الكيموحيوية	نوع الترافق	الترتيب
الضدات النوعية للترانسكلوتامنيز		1
الضدات النوعية للكلايدين		2
تركيز الكالسيوم في المصل	ترافق عكسي	3
تركيز الزلال في المصل	ترافق عكسي	4
تركيز خضاب الدم (الهيموغلوبين)	ترافق عكسي	5
تركيز بروتين سي التفاعلي		6

Wilk's lambda = 0. 54

P < 0.001

Overall predictive accuracy = 94.2%

13.4.خاصية التشغيل المتلقي: Receiver Operating (ROC) Characteristic

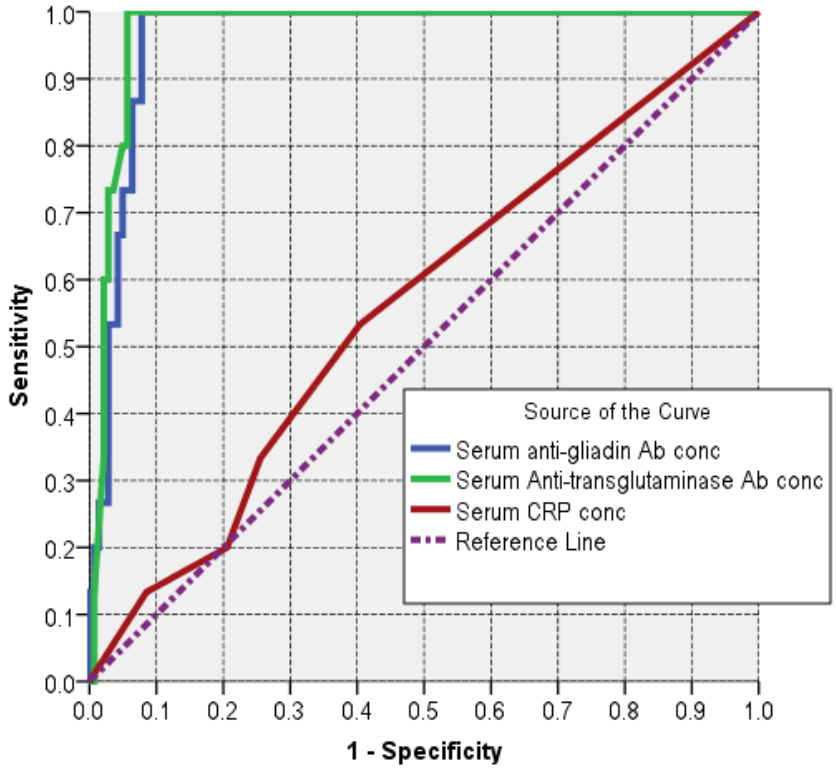
تمثل خاصية تشغيل المتلقي (Receiver Operating Characteristic) اداة اساسية لتقييم اداء الاختبارات التشخيصية (Diagnostic tools) من خلال ايجاد معدل الإيجابية الحقيقية (True positive rate) من الحالات الإيجابية وتعني الحساسية (Sensitivity) مقابل معدل الإيجابية الكاذبة (False positive rate) من الحالات السالبة وتعني 1- الخصوصية. ويسمى ايضا منحنى التشغيل النسبي لأنه يقارن بين True positive rate و False positive rate. يوفر منحنى خاصية تشغيل المتلقي اختيار الإختبار الامثل وتجنب الإختبار غير

المناسب بمعزل عن التكلفة ونوعية الاختبار. ان احسن وسيلة تنبؤئية هي التي تكون فيها نقاط الإختبار واقعة في اعلى الزاوية اليسرى من الرسم البياني، وبذلك فهي تكون حساسة 100% (لا وجود للسلبية الكاذبة) وذات خصوصية 100% (لا وجود للايجابية الكاذبة).

1.13.4. خاصية التشغيل المتلقي للاختبارات المناعية:

يبين الرسم البياني في الشكل (4-1) والجدول (4-16) أن احسن إختبار لتشخيص مرض السيلياك هو تحديد تركيز الضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في المصل لوقوع نقاطه في اقصى الزاوية العلوية اليسرى من الرسم البياني مسجلا قيمة (ROC area = 0.973)، وكان مستوى الاحتمالية معنويا احصائيا (P<0.001). ثم يأتي بعده اختبار تحديد تركيز الضدات النوعية IgA للكلايدين في المصل لوقوع نقاطه في اقصى الزاوية العلوية اليسرى ايضا من الرسم البياني ولكن بقيمة (ROC area = 0.963) وكان مستوى الاحتمالية معنويا(P <0.001) ايضا.

اما اختبار قياس تركيز بروتين سي التفاعلي في المصل فلم يكن اختبارا مثاليا لتشخيص مرض السيلياك لوقوع نقاطه بالقرب من الخط الوسطي (الخط القياسي) في الرسم البياني وكانت قيمة (ROC area = 0.560) ومستوى الاحتمالية غير معنوي احصائيا (P =0.44).



شكل (4-1) يبين خاصية تشغيل المتلقي للأختبارات المناعية.

جدول (4-16): قيم خاصية تشغيل المتلقي للاختبارات المناعية في تشخيص مرض السيلياك.

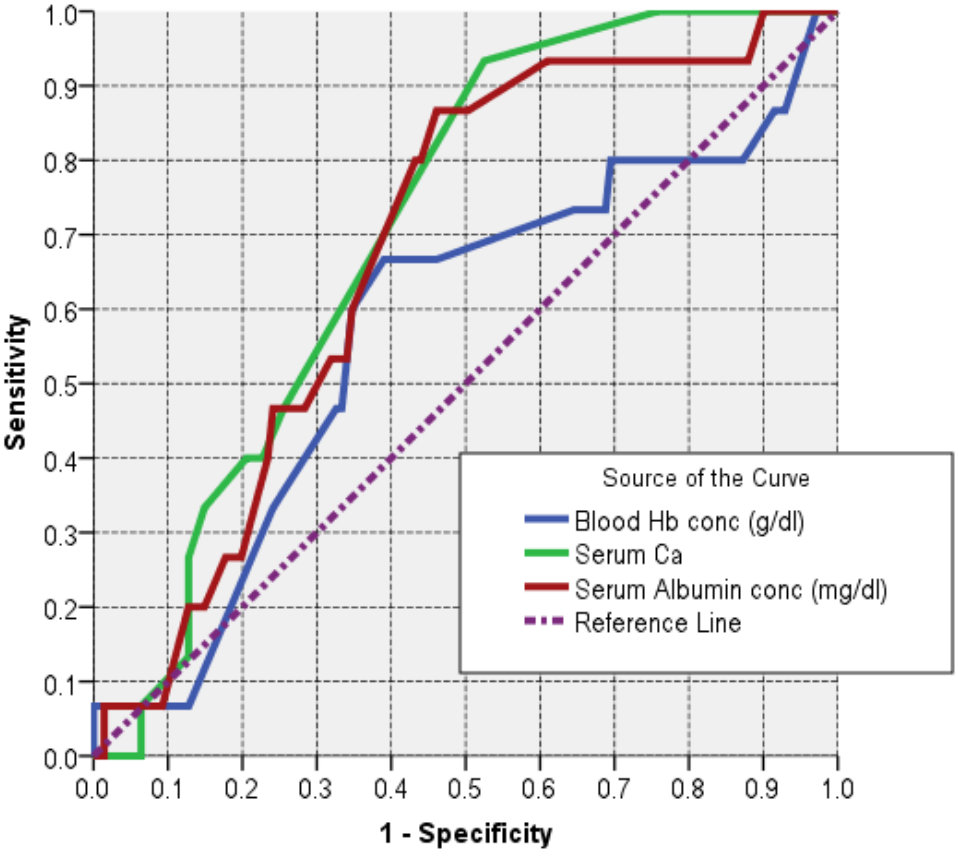
الاختبارات	قيمة ROC	P
تركيزالضدات النوعية IgA للترانسكلوتامنيز في المصل	0.973	< 0.001
تركيزالضدات النوعية IgA للكلايدين في المصل	0.963	< 0.001
تركيز بروتين سي التفاعلي في المصل	0.560	0.44 [NS]

NS: non-significant

2.13.4. خاصية التشغيل المتلقي للاختبارات الكيموحيوية:

يمثل الرسم البياني في الشكل (4-2) والجدول(4-17) قيم خاصية تشغيل المتلقي (ROC) للاختبارات الكيموحيوية الداخلة في الدراسة. إذ تظهر النتائج أن قياس تركيز الكالسيوم في المصل هو من الاختبارات المناسبة للاستدلال على

مرض السيلياك، إذ كانت قيمــة (ROC area= 0.710) وكانت مستوى الاحتمالية معنوياً إحصائياً (P = 0.007). وبالمثل اظهرت النتائج ان قياس تركيز الزلال في المصل من الاختبارات المناسبة ايضا، إذ كانت قيمة (ROC area = 0.681) وكانت مستوى الاحتمالية معنوياً إحصائياً (P= 0.021). على العكس من ذلك لم يكن قياس تركيز خضاب الدم (الهيموغلوبين) اختبارا مناسبا للاستدلال على مرض السيلياك، إذ كانت قيمة (ROC area = 0.574) وهي بذلك الاقرب الى الخط الوسطي (الخط القياسي) ، وكان مستوى الاحتمالية غير معنوي إحصائياً (P= 0.35).



شكل (4-2) يبين خاصية تشغيل المتلقي للإختبارات الكيموحيوية .

جدول (4-17): قيم خاصية تشغيل المتلقي للاختبارات الكيموحيوية للاستدلال على مرض السيلياك.

الاختبارات	قيمة ROC	P
تركيز الكالسيوم في المصل	0.710	0.007
تركيز الزلال في المصل	0.681	0.021
تركيز خضاب الدم (الهيموغلوبين)	0.574	0.35 [NS]

NS: non-significant

جدول (4-8) علاقة الاعراض المرضية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية.

الاعراض المرضية	التشخيص النهائي لمرض السيلياك (مجموعة الاعراض المرضية)						OR	Inverse OR	قيمة P	95%حدود الثقة
	مرضى السيلياك غير المؤكد		مرضى السيلياك المؤكد		المجموع					
	العدد	%	العدد	%	العدد	%				
الم في البطن										
كلا	103	93.0	8	7.0	115	100	2.8	**	0.067 [NS]	(8.15-0.93)
نعم	34	82.9	7	17.1	41	100				
انتفاخ البطن										
كلا	103	91.2	10	8.8	113	100	1.4	**	0.6 [NS]	(4.22-0.44)
نعم	38	88.4	5	11.6	43	100				
اسهال مزمن										
كلا	44	89.8	5	10.2	49	100	0.9	1.1	0.86 [NS]	(2.8-0.29)
نعم	97	90.7	10	9.3	107	100				
امساك										
كلا	132	89.8	15	10.2	147	100	0.4	2.2	0.46 [NS]	(3.75-0.05)
نعم	9	100	0	0.0	9	100				
النوع الاول داء السكري										
كلا	136	91.3	13	8.7	149	100	4.2	**	0.106 [NS]	(23.74-0.74)
نعم	5	71.4	2	28.6	7	100				

ملحق جدول (4-8) علاقة الاعراض المرضية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية.

الاعراض المرضية	التشخيص النهائي لمرض السيلياك (مجموعة الاعراض المرضية)						OR	Inverse OR	قيمة P	95%حدود الثقة
	مرضى السيلياك غيرالمؤكد		مرضى السيلياك المؤكد		المجموع					
	العدد	%	العدد	%	العدد	%				
قصر القامة										
كلا	133	90.5	14	9.5	147	100	1.2	**	0.87 [NS]	(10.2-0.14)
نعم	8	88.9	1	11.1	9	100				
Delayed mile stone تأخر النمو والتسنن										
كلا	97	91.5	9	8.5	106	100	1.5	**	0.49 [NS]	(4.38-0.49)
نعم	44	88	6	12	50	100				
عدم القدرة على تحمل اللاكتوز										
كلا	135	90.0	15	10.0	150	100	0.7	1.5	0.71 [NS]	(5.82- 0.08)
نعم	6	100	0	0	6	100				
جمع العلامات المرضية الموجبة										
واحد فقط	44	100	0	0.0	44	100	12.6	**	0.017	(99.74-1.58)
2	81	88.0	11	12.0	92	100				
3–4	16	80.0	4	20.0	20	100	24.3	**	0.005	(223.1-2.64)

جدول (4-9) علاقة العوامل الديموغرافية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية.

العوامل الديموغرافية	التشخيص النهائي لمرض السيلياك (مجموعة الاعراض المرضية)						OR	Inverse OR	قيمة P	95% حدود الثقة
	مرضى السيلياك غير المؤكد		مرضى السيلياك المؤكد		المجموع					
	العدد	%	العدد	%	العدد	%				
العمر										
شهر(1-6)	40	93.0	3	7.0	43	100.0	Reference			
(7-12) شهر	30	93.8	2	6.3	32	100.0	0.9	1.1	0.90[NS]	(5.66- 0.14)
(1-5) سنة	40	87.0	6	13.0	46	100.0	2.0	**	0.35[NS]	(8.56- 0.47)
6 سنة فما فوق	31	88.6	4	11.4	35	100.0	1.7	**	0.49[NS]	(8.26- 0.36)
الجنس										
الاناث	86	92.5	7	7.5	93	100.0		**	0.28[NS]	(5.21- 0.61)
الذكور	55	87.3	8	12.7	63	100.0	1.8			
السكن										
المناطق الريفية	49	96.1	2	3.9	51	100.0		**	0.11[NS]	(15.96- 0.75)
المناطق الحضرية	92	87.6	13	12.4	105	100.0	3.5			
التاريخ العائلي										
كلا	126	91.3	12	8.7	138	100.0		**	0.29[NS]	(8.3- 0.53)
نعم	15	83.3	3	16.7	18	100.0	2.1			

جدول (4-11) علاقة المعلمات المناعية بالتشخيص النهائي لمرض السيلياك بين المشمولين بالدراسة ممن لديهم اعراض مرضية.

المعلمات المناعية	التشخيص النهائي لمرض السيلياك (مجموعة الاعراض المرضية)						OR	Inverse OR	قيمة P	95% حدود الثقة
	مرضى السيلياك غير المؤكد		مرضى السيلياك المؤكد		المجموع					
	العدد	%	العدد	%	العدد	%				
الضدات النوعية IgA للكلايدين										
كلا	130	100	0	0.0	130	100				
نعم	11	42.3	15	57.7	26	100	351.8	**	<0.001	(2887.2-42.8)
الضدات النوعية IgA للترانكلوتامنيز										
كلا	133	100	0	0.0	133	100				
نعم	8	34.8	15	65.2	23	100	486.9	**	<0.001	(4097.3-57.8)

References: المصادر:

القرآن الكريم

Abu-Zekry, M.; Kryszak, D.; Diab, M.; Catassi, C. and Fasano, A. (2008). Prevalence of CD in Egyptian children disputes the east-west agriculture-dependent spread of the disease. ***J Pediatr Gastroenterol Nutr***.,47:136–140.

Akobeng, AK. and Heller, RF. (2007). Assessing the population impact of low rates of breast feeding on asthma, coeliac disease and obesity: the use of a new statistical method. ***Arch Dis Child***.;92:483–485.

Akobeng, AK.; Ramanan, AV.; Buchan, I. and Heller, RF. (2006).Effect of breast feeding on risk of celiac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. ***Arch Dis Child***.,91:39–43.

Alarida, K.;Harown, J.; Ahmaida, A.;Marinelli,L.; Vwnturini, C.; Koderma, G.;Tozzoli,R.; Mandoles, A.;Bearzi, I.; Catassi, C. (2011). Coeliac disease in Libyan children: a screening study based on the rapid determination of anti-transglutaminase antibodies**. Dig Liver Dis**, [Epub ahead of print].

Al-Husseiny,A.H. and AL-Teemimi,A.M.(2008).prevalence of celiac disease in Diyala children and adolescents with short stature.***Diyala Journal***., 31: 87-98.

AL-Khafagi, M.T.(2004).immunopathological and clinical evalution of celiac disease in Iraq.M.Sc.Thesis College of Medicine.University of Baghdad.

AL-Mashhadani,W.M; AL-Musawi,A.; AL-Auqbi,T.F.;AL-Salihi, H.H. and Abdulnabi,S.A.(2009).Celiac disease is a member of oxidative stress syndrome.Iraqi J.Commun.med. 22(2): 88-91.

AL-Shawal,A.A; Shabib,S.M; Sakati ,N.A and Attia ,N.A.(2003). Prevalence and characteristics of celiac disease in type I diabetes mellitus inSaudi Arabia. ***Saudi Medical Journal*** , Vol. (10): 1113-1115.

Anderson, RP.; Degano, P.; Godkin, AJ.; Jewell,D.P;Hill,A.V. (2000).in vivo antigen challenge in celiac disease, identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope**.** ***Nat Med***., 6 : 337-342.

Ben Hariz, M.; Kallel- Sellami, M.; Kallel L.Lahmer, A.; Halious, S.; ouraoui, S.; Laater, A.;Sliti, A.; Mahjoub, A.;Zouari, B.; Makni,S.; Maherzi,A. (2007). Prevalence of CD in Tunisia: mass screening study in schoolchildren**.** ***Eur J Gastroenterol Hepatol***., 19(8): 687–694.

Bhattacharya, M.; Dubey, A. P. & Mathur, N. B. (2009). Prevalence of Celiac disease in north Indian children. ***Indian Pediatr***., 46, 415–417 .

Biagi, F.; Campanella, J.; Soriani, A.; Vailati, A. and Corazza, GR .(2006). Prevalence of coeliac disease in Italian patients affected by Addison's disease. ***Scand J Gastroenterol***., 41:302-305.

Briani, C.;Samaroo,D . ; Alaedini, A.(2008).Celiac disease :from gluten to autoimmunity. **Autoimmun Rev**., 7:644-50.

Bucci, P.; Carile, F.; Sangianantoni, A.; D'Angi`o, F.; Santarelli, A.and Lo Muzio, L. (2006).Oral aphthous ulcers and dental enamel defects in children with coeliac disease. ***Acta Paediatr***.,95:203–207.

Burtis, A.etal. (1999).Tietz Textbook of clinical Chemistry,3rd ed.AACC.

Bushara, KO. (2005). Neurologic presentation of CD. ***Gastroenterology***, 128:S92–S97.

Cammarota, G.; Cuoco, L.; Cianci, R.; Pandolfi, F. and Gasbarrini,G. (2000). Onset of coeliac disease during treatment with interferon for chronic hepatitis C. ***Lancet,*** 356: 1494–45.

Caspary,WF.; Holtmeier,W.(1999). antikÖrperdiagnostik bei sprue. Deutsches ärzteblatt.96(36), A-2213-2214.

Cataldo, F.; Marino, V.; Ventura, A.; Bottaro, G. and Corazza, GR. (1998). Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Italian Society of

Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) and \"Club del Tenue Working Groups on Coeliac Disease**.** ***Gut***., 42:362- 365.

Catassi, C.; Cobellis, G. (2007). Coeliac disease epidemiology is alive and kicking, especially in the developing world. **Dig Liver Dis**.,39:908–910.

Ciclitira, PJ.; King, AL. and Fraser, JS.(2001).AGA technical review on celiac Sprue. American Gastroenterological Association. ***Gastroenterology,*** 120**:**1526_1540.

Clemente, MG.; De Virgiliis, S.and Kang, J. (2003). Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signaling involved in intestinal barrier function. ***Gut***.,52:218–223.

Collin, P.; Kaukinen, K.; Vogelsang, H.; Korponay-Szabo, I.; Sommer, R.; Schreier, E.; Volta, U.; Granito, A.; Veronesi, L.; Mascart, F.; Ocmant, A.; Ivarsson, A.; Lagerqvist, C.; Bürgin-Wolff, A.;Hadziselimovic, F.; Furlano, RI.; Sidler, MA.; Mulder, CJ.; Goerres, MS.; Mearin, ML.; Ninaber, MK.; Gudmand-Høyer, E.; Fabiani, E.; Catassi, C.; Tidlund, H.; Alainentalo, L.; Mäki M. (2005). Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. ***Eur J Gastroenterol Hepatol***., 17:85-91. [PMID: 15647647].

Cronin, CC. and Shanahan, F. (1997).Insulin-dependent diabetes mellitus and coeliac disease. **Lancet**, 349: 1096–1097.

Dahele,A and Ghosh,S.(2001).Vitamin B12 deficiency in untreated celiac disease.***Am J Gastroenterol***.,96:745-50.

David Branski, M.D.(2012). new insights in celiac disease. ***Rambam Maimonides Medical Journal***,3 (1):e0006.

Delvecchio, M.; De Bellis, A.; Francavilla, R.; , Rutigliano, V.; Predieri, B.; Indrio, F.; De Venuto, D.; Sinisi, AA.; Bizzarro, A.; Bellastella, A.; Iughetti, L.; Cavallo, L.; Italian Autoimmune Hypophysitis Network Study. (2010).Anti-pituitary antibodies in children with newly diagnosed celiac disease: a novel finding contributing to linear-growth impairment. ***AmJ Gastroenterol.***, 105:691–696.

Detlef Schuppan. (2000).Current concepts of celiac disease pathogenesis. ***Gastroenterology***,119 : 234-242.

Dewar, DH.; Amato, M.; Ellis, HJ.; Pollock EL.; Gonzalez-Cinca, N.; Wieser, H.; Ciclitira, PJ.(2006) .The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to patients with coeliac disease.***Eur J Gastroenterol Hepatol***., 18**:** 483–91.

Di Sabatino, A. ; Corazza, GR. (2009). Coeliac disease. ***Lancet,*** 373: 1480–1493.

Dieterich, W.; Ehnis, T.; Bauer, M.; Donner, P.; Volta, U.; Riecken, EO.; Schuppan, D. (1997). Identification of

tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. ***Nat Med***.,3:797–801.

Dogan,M.; Yuca,S.A.; AcikgÖz,M.; Dogan, S.Z. ; Kaya,A. and Cesur,y.(2010). Celiac disease with celiac crisis.***Eur J Gen Med .,***7(2):213-215.

Drago, S.; El Asmar, R.; Di Pierro, M. Grazia Clemente, M.; Tripathi, A.; Sapone, A.; Thakar, M.; Iacono, G.; Carroccio, A.; D'Agate, C.; Not, T.; Zampini, L.; Catassi, C.; Fasano, A. (2006). Gliadin, zonulin and gut permeability: effects on celiac and non-celiac intestinalmucosa and intestinal cell lines. ***Scand J Gastroenterol***.,41:408–419.

Dubé,C.(2005).The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk western European populations: a systematic review. ***Gastroenterology;*** 128 (Suppl. 1), S57–S67.

Ertekin, V.; Selimo˘glu, MA,.;Kardas, F.; Aktas¸, E. (2005).Prevalence of CD in Turkish children. ***J Clin Gastroenterol***.,39:689–691.

Fasano, A . ; Catassi, C. (2001). Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. ***Gastroenterology***,120:636–651.

Fasano, A .and Catassi, C. (2005). Coeliac disease in children. ***Best Pract Res Clin Gastroenterol***,19:467–468.

Fasano, A. (2011). Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. ***Physiol Rev***.,91:151–175.

Fasano, A. and Counts, D. (2010). Commentary on "anti-pituitary antibodies in children with newly diagnosed celiac disease: a novel finding contributing to linear growth". ***AmJ Gastroenterol***., 105:697–698.

Fasano, A.; Berti, I.;Geraduzzi, T.;Not, T.; Colletti, RB.; Drago, S.; Elistur ,Y.; Green, PH.; Guandalini, S.; Hill, ID.; Pietzak, M.; Ventura, A.; Thorpe, M. Kryszak, D.;Fornaroli, F.; Wasserman ,SS.; Murray, JA. and Horvath K.(2003).Prevelance of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States:a large multicenter study.***Arch Intern Med***., 163:286_92.

Fasano,A. and Catassi,C. (2001). Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum***. Gastroenterology,***120:636–651.

Fasano,A.(2006).Systemic autoimmune disorders in celiac disease.***Curr Opin Gastroenterol.,*** **38:**10743-9.

Forsberg, G.; Fahlgren, A.; Horstedt, P.; Hammarstrom, S.; Hernell, O. and Hammarstrom, ML. (2004). Presence of bacteria and innate immunity of intestinal epithelium in childhood celiac disease.***Am J Gastroenterol***.,99: 894–904.

Freeman,HJ.(2008).Adult celiac disease in the eldery.***World J Gastroentero***l.,14:6911-6914.

Gadewar, S. and Fasano, A. (2005). Celiac disease: is the atypical really typical? Summary of the recent National Institutes of Health Consensus Conference and latest advances**. *Curr Gastroenterol Rep***.,7:455–461.

Giorgetti, GM.; Tursi, A.; Brandimarte, G.; Rubino, C. and Gasbarrini, G. (2000). Dysmotility-like dyspeptic symptoms in coeliac patients: role of gluten and Helicobacter pylori infection. ***Dig Liv Dis.***,32: 73–74.

Green, PHR .and Cellier ,C.(2007).Medical progress: celiac disease. ***The New England Journal of Medicine*** ,357:1731-1743.

Hadithi,M.(2008). on diagnostic tools in celiac disease and its complicated forms.Thesis College of Medicine . VU University medical center Amsterdam.

Halfdanarson, TR.; Litzow, MR. and Murray, JA. (2007) Hematologic manifestations of celiac disease. ***Blood***., 109:412–421.

Hershko, C.and Patz, J. (2008). Ironing out the mechanism of anemia in celiac disease. ***Haematologica***.,93:1761–1765.

Hill, ID. (2005).What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and

specificity vary in different populations? ***Gastroenterology***,128:S25–32.

Hill, ID.; Dirks, MH.; Liptak, GS.; Colletti ,RB.; Fasano, A.; Guandalini, S.; Hoffenberg, EJ.; Horvath, K.; Murray, JA.; Pivor, M.; Seidman EG; North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. (2005). Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. ***J Pediatr Gastroenterol Nutr***.,40:1–19.

Hoffenberg, E. J. (2003). A prospective study of the incidence of childhood celiac disease. ***J. Pediatr***. ,143, 308–314 .

Holmes, GKT.(2002). Screening for coeliac disease in type 1 diabetes. ***Arch Dis Child***. 87:495–499.

Husby ,S.(2011).ESPGHAN guidelines for the diagnosis of celiac disease in children and adolescents.An evidence-based approach.***J pediatr Gastroenterol Nut in press***.

Imanzadeh, F.; Sayyari, AA.; Yaghoobi, M.; Akbari, MR.; Shafagh, H.; Farsar, AR. (2005). CD in children with diarrhea is more frequent than previously suspected. ***J Pediatr Gastroenterol Nutr***.,40:309–311.

Ivarsson, A. (2005). The Swedish epidemic of coeliac disease explored using an epidemiological approach—some lessons to be learnt. ***Best Pract Res Clin Gastroenterol.,*** 19:425–440.

Jabri, B. and Sollid, LM. (2009). Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. ***Nat Rev Immunol***., 9:858–870.

Kagnoff, MF. (2007).Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. ***J Clin Invest***., 117**:** 41–49.

Kagnoff, MF.; Austin, RK.; Hubert, JJ.; Bernardin, JE.; Kasarda, DD. (1984).Possible role for a human adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. ***J Exp Med***.,160:1544–57.

Kakar ,S.; Nehra, V.; Murray, JA.; Dayharsh, GA. And Burgart, LJ. (2003). Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosa architecture. ***Am J Gastroenterol***., 98: 2027–2033.

Kalayci,AG.; Kansu,A.; Girgin,N.; Kucuk,O. and Aras,G.(2001). Bone mineral density and importance of a gluten-free diet in patients with celiac disease in childhood. ***Pediatrics*** ,108(5):E89.

Karell, K.; Louka ,AS.; Moodie, SJ.; Asher, H.;Clot, F.;Greco , L.;Ciclitira, PJ.; Sollid ,LM.; Partanen ,J and European Genetics Cluster on celiac D. (2003).HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02(DQ2) hetrodimer:results from the European Genetics Cluster on celiac disease .***Hum Immunol .,64***:469-77.

Kati, H.; Markku, M.; Erkki, S.; Lipsanen, V.; Laippala, P.; Koskimies, S. (1992).Intraepithelial γ δ T-cell receptor lymphocytes and genetic susceptibility to celiac disease. ***Lancet***; 339: 1500-03.

Kondrashova, A.; Mustalahti, K.; Kaukinen, K.; Viskari, H.; Volodicheva ,V.; Haapala, AM.;Ilonen, J.;Knip, M.; Maki, M.;Hyoty, H. and Epivir Study G.(2008).Lower economic status and inferior hygienic environment may protect against celiac disease.***Ann Med.,*** 40**:**223_31.

Korponay_Szabo, IR.; Szabados, K.; Puztai, J.;Uhrin, K.;Ludmany, E.; Nemes, E.; Kaukinen, K.; Kapitany, A.; Koskinen, L.; Sipka, S.; Imre, A .and Maki M.(2007).Population screening for celiac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test:diagnostic accuracy and feasibility study**.*BMJ*.,** 335:1244_7.

Larizza, D.; Calcaterra, V.; De Giacomo, C.; De Silvestri, A.; Asti, M.; Badulli, C.; Autelli, M.; Coslovich, E.; Martinetti, M. (2001).Coeliac disease in children with autoimmune thyroid disease. ***J Pediatr***.,139:738–740.

Lars-Olof. *etal*. (1997). Current Opinion in infectious diseases 10:196-201

Lewis, NR.and Scott, BB. (2010).Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase

antibody compared as screening tests for coeliac disease. ***Aliment Pharmacol Ther***.,31:73–81.

Lionetti, E. and Catassi ,C .(2011).New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. ***International reviews of immunology***, 30:219-231.

Lionetti, E.; Francavilla, R.; Pavone, P.; Pavone, L.; Francavilla, T.; Pulvirenti, A.; Giugno, R.; Ruggieri, M. (2010).The neurology of coeliac disease in childhood: what is the evidence? A systematic review andmeta-analysis. ***DevMed Child Neurol***.,52:700–707.

Lohi ,S.;Mustalahti, K.;Kaukinen, K.;Laurila, K.;Collin, P.;Rissanen, H.; Lohi, O.; Bravi, E.;Gasparin, M.; Reunanen, A. and Maki, M.(2007).increasing prevelance of celiac disease over time.***Aliment Pharmacol Ther,*** 26**:**1217_1225.

Londei, M.; Ciacci, C.; Ricciardelli, I.; Vacca, L.; Quaratino, S.; Maiuri, L. (2005).Gliadin as a stimulator of innate responses in celiac disease.***Mol Immunol***.,42:913–918.

Maiuri, L.; Ciacci, C.; Ricciardelli, I.; Vacca, L.; Raia, V.; Auricchio, S.; Picard, J.; Osman, M.; Quaratino, S.; Londei, M. (2003). Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease**.** ***Lancet***.,362:30–37.

Malekzadeh, r.; Sachdev, A. and Fahid, A. A. (2005).Coeliac disease in developing countries: Middle East, india and

North Africa. ***Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.***, 19, 351–358

Markku ,M.(1992). Use of serological antibody tests in celiac disease. In: Branski, D.; Rozen, P.and Kagnoff MF, eds. Gluten-sensitive Enteropathy. Frontiers of Gastro-intestinal Research. Basel, Switzerland: Karger:108–29.

Marsh, MN. (1992).Gluten, major histocompatability complex and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity (celiac sprue). ***Gastroenterolog***, 102 : 330-354.

Matysiak-Budnik, T.; Moura, IC.; Arcos-Fajardo, M.; Lebreton, C.;Menard, S.;Candalh, C.;Ben-Khalifa, K.;Dugave, C.;Tamouza, H.;Van Niel, G.;Bohnik,y.; Lamargue, D.; Chaussade, S.;Malamut, G.; Cellier, C.; Cerf-Bensussan, N.; Moneteiro, RC.;Heyman,M. (2008). Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in CD. ***J ExpMed***., 205:143–154.

Mearin, L.; Drijfhout, JW.; van Veelen, P.; Koning, F. (2002).Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease.***J ExpMed***.,195:643–649.

Meeuwisse, GW. (1970). Diagnostic criteria in coeliac disease. **Acta Paediatr Scand**. ,59:461-463.

Meini, A.; Pillan, NM.; Villanacci, V.; Monafo, V.; Ugazio, AG.and Plebani A (1996). Prevalence and diagnosis of celiac disease in IgA-deficient children. **Ann Allergy Asthma Immunol**.,77:333- 336.

Meresse, B.; Chen, Z.; Ciszewski, C.; Tretiakova, M.; Bhagat, G.; Krausz, TN.; Raulet, DH.; Lanier, LL.; Groh, V.; Spies, T.; Ebert, EC.; Green, PH.; Jabri, B. (2004).Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in CD. ***Immunity***,21:357–366.

Meresse, B.; Curran, SA.; Ciszewski, C.; Orbelyan, G.; Setty, M.; Bhagat, G.; Lee, L.; Tretiakova, M.; Semrad, C.; Kistner, E.; Winchester, RJ.; Braud, V.; Lanier, LL.; Geraghty, DE.; Green, PH.; Guandalini, S.; Jabri, B. (2006). Reprogramming of CTLs into natural killer-like cells in CD.***J ExpMed***.,203:1343–1355.

Molberg, O.; McAdam, SN.; Korner, R.; Quarsten, H.; Kristiansen, C.;Madsen, L.;Fugger, L.; Scott, H.; Noren, O.; Roepstorff, D.; Ludin, K.; SjÖstrÖm, H.; Sollid, L.M. (1998).Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. ***NatMed***.,4:713–717.

Molberg, O.; SolheimFlaete, N.; Jensen, T.; Lundin, KE.; Arentz-Hansen, H.; Anderson, OD.;Kjersti Uhlen, A.;

Sollid, LM.(2003). Intestinal T-cell responses to high-molecular-weight glutenins in celiac disease. ***Gastroenterology***, 125**:** 337–44.

Moos, V.; Zimmermann-Kordmann, M.; Schneider, T.; Daum, S.; Zeitz, M.; Fromm, M.;Schulzke, JD. (2008). Mechanisms of epithelial translocation of the alpha(2)-gliadin-33mer in coeliac sprue. ***Gut.***;57:747–754.

Mora, S. (2008).Celiac disease inchildren: impact on bone health.***Rev EndocrMetabDisord***.,9:123–130.

Mubarak, A.; Wolters, VM.; Gmelig- Meyling ,FH,.; Ten Kate, FJ. and Houwen RH.(2012). Tissue transglutaminase levels above 100 U/mL and celiac disease: A prospective study. ***World J Gastroenterol***., 18(32) :4399-402.

Mustalahti, K.; Catassi,C.; Reunanen, A.; Fabiani, E.; Heier, M.; McMillan, S.; Murray, L.; Metzger, MH.; Gasparin, M.; Bravi, E.; Maki, M. and Coeliac Eu Cluster PE.(2010). The prevelance of celiac disease in Europe:result of a centralized, international mass screening project .***Ann Med .,***42:587_95.

Myhre ,AG.; Aarsetoy, H.; Undlien, DE.; Hovdenak, N.; Aksnes, L. and Husebye, ES. (2003). High frequency of coeliac disease among patients with autoimmune adrenocortical failure. ***Scand J Gastroenterol*** .,38:511-515.

Myleus, A.;Ivarsson, A.;Webb, C.;Danielsson, L.;Hernell, O.;Hogberg, L.;Karlsson, E.;Lagerqvist, C.; Norstrom, F.;Rosen, A.; Sandstrom, O.;Stenhammar, L.;Stenlund H.; Wall ,S. and Carlsson, A .(2009).celiac disease revealed in 3% of Swedish 12- year- olds born during an epidemic., ***J pediatr Gastroentrol Nutr***., 49:170_176.

Nieuwenhuizen, WF.; Pieters, RHH.; Knippels, LMJ.; Jansen, MCJF. and Koppelman, SJ.(2003) .Is Candida albicans a trigger in the onset of celiac disease? ***Lancet***,361:2152–4.

Nilsen, EM.; Jahnsen, FL.; Lundin, KE.; Johansen, FE.; Fausa, O.; Sollid, LM.; Jahnsen, J.; Scott, H.; Brandtzaeg, P. (1998). Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with CD. ***Gastroenterology.***,115(3):551–563.

Norris, J.; Barriga, K.; Hoffenberg, E.; Taki, I.; Miao, D.; Haas, JE.; Emery, LM.; Sokol, RJ.; Erlich, HA.; Eisenbarth, GS.; Rewers, M. (2005).Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten intro-duction in the diet of infants at increased risk of disease. ***JAMA***.,293:2343–51.

Oberhuber, G.; Grandtisch, G. and Vogelsang, H. (1999).The histopathology of celiac disease: time for standardized

report scheme for pathologists. ***Eur J Gastroenterol Hepatol***., 11: 1185–1194.

Pavone, P.; Nicolini, E.; Taibi ,R. and Ruggieri, M. (2007). Rotavirus and celiac disease. ***Am J Gastroenterol*.** ,102:1831.

Provan,D. and Krentz, A. (2002).Hematology. In:Oxford handbook of clinical and laboratory investigation. Provan,D. and Krentz,A.1st.Oxford university press. United States.167- 168.

Rawashdeh, M. O.; Khalil, B. and Raweily, E.(1996). Celiac Disease in Arabs. ***Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition***, 23(4) : pp 415-418.

Rawashdeh, M. O.; Khalil, B. and Raweily, E.(1996). Celiac Disease in Arabs. ***Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition***,Volume 23 - Issue 4 - pp 415-418.

Reeves, GE.; Squance ,ML.; Duggan, AE.; Murugasu, RR.; Wilson, RJ.; Wong RC.; Gibson, RA.; Steele, RH.; Pollock, WK. (2006). Diagnostic accuracy of coeliac serological tests: a prospective study. ***Eur J Gastroenterol Hepatol***.,18(5):493-501

Richard J Farrel R and Ciaran P. Celiac sprue and refractory sprue. In Sleisenger & Fordtran's; Gastrointestinal and Liver diseases ,7th edition,united states (2002). Vol.4; Chapter 93, pp. 1817-1841.

Richard, JF. and Kelly, CP. (2001). Diagnosis of celiac sprue. ***Am J Gastroenterology***., 96 : 3237-3246.

Romanos, J.; van Diemen, CC. and Nolte, IM. (2009). Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. ***Gastroenterology***,137:834–840.

Rostami, K.; KaerKhaert, J.;Tiemessen, R.; von Blomberg, BM.; Meijer, JW.; Mulder, CJ. (1999).sensitivity of antiendomysium antibodies and anti gliadin antibodies in untreated celiac disease :disappointing in clinical practice.***Am J Gastroentero.,***94:888-94.

Rostom, A.; Dube, C.; Cranney ,A.; Saloojee, N.; Sy, R.; Garritty, C.; Sampson, M.; Zhang, L.; Yazdi, F.; Mamaladze ,V.; Pan, I.; MacNeil, J.; Mack, D.; Patel, D.; Moher D.(2005). The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. **Gastroenterology**,128:S38–46.

Rostom, A.; Murray, JA.and Kagnoff, MF. (2006). American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. ***Gastroenterology***,131(6):1981-2002.

Rubio-Tapia, A.and Murray JA. (2007).The liver in celiac disease. ***Hepatology***,46:1650–1658.

Saadah,O.I.(2011).Celiac disease in children and adolescents at a singe center in saudi Arabia.**Annals of Saudia Medicine**,31(1):51-57.

Sategna Guidetti, C,.;Solerio, E.; Scaglione, N.; Aimo, G. and Mengozzi, G. (2001). Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. ***Gut*** .,49:502-505.

Savilahti, E.; Kolho, K.; Westerholm-Ormio, M. and Verkasalo, M. (2010). Clinics of coeliac disease in children in the 2000s. ***Acta Paediatr***, 99: 1026- 1030.

Schumann, M.; Richter, JF.; Wedell, I.;Schumann, M.; Richter, JF.; Wedell, I.; Schumann, M.; Richter, JF.; Wedell, I.; Moos,V.; Zimmermann-Kordmann ,M.;Schneider, T.; Daum, S.; Zeitz, M.; Fromm, M,.; Schulzke, JD. (2008).Mechanisms of epithelial translocation of the alpha(2)-gliadin-33mer in coeliac sprue. ***Gut***,57:747–754.

Schuppan, D.; Junker, Y.and Barisani, D. (2009) .Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. ***Gastroenterology***,137:1912–33.

Shan ,L.; Molberg, O.; Parrot, I.; Hausch, F.; Filiz, F.; Gray, GM.; Sollid, LM.; Khosla, C. (2002). Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. ***Science***.,297**:** 2275–79.

Simell,S.(2010). natural history of celiac disease-associated antibodies and progression to overt disease in children at increase in children at increase genetic risk.Thesis College of turun yliopisto. University of Turku.

Sood, A.; Midha, V.; Sood, N.; Avasthi, G. & Sehgal, A. (2006). Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North india. ***J. Gastroenterol. Hepatol***., 21, 1622–1625.

Sorlie, DE. (ed). (1995). Medical biostatics and epidemiology: Examination and Board review.First ed, ,Norwalk, Connecticut, Appleton and lange:47-88 .

Stene, LC.; Honeyman, MC.; Hoff enberg, EJ.; Haas, JE.; Sokol, RJ.; Emery, L.; Taki, I.; Norris, JM.; Erlich, HA.; Eisenbarth, GS.; Rewers, M. (2006).Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood:a longitudinal study. ***Am J Gastroenterol***., 101: 2333–40.

Stenson,WF.; Newberry, R.; Lorenz, R.; Baldus, C.and Civitelli, R. (2005).Increased prevalence of celiac disease and need for routine screening among patients with osteoporosis. ***Arch InternMed***.,165:393–399.

Stern, M. (2000).Working Group on Serologic Screening for Celiac Disease. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: a European iniative toward standardization. ***J Pediatr Gastroenterol Nutr*** ., 31: 513–519.

Sturgess, R.; Day ,P.; Ellis, HJ.; Lundin, KE.; Gjertsen, HA.; Kontakou, M.; Ciclitira, PJ. (1994). Wheat peptide challenge in coeliac disease. ***Lancet***,343**:** 758–61.

Sulkanen, S.; Halttunen, T.; Laurila, K.; Kolho, KL.; Korponay- Szabó, IR.; Sarnesto, A.; Savilahti, E.; Collin, P. and Mäki, M. (1998). Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease [see comments]. ***Gastroenterology***, 115:1322- 1328.

Tack, GJ.; Verbeek, WH.; Schreurs,MW. And Mulder, CJ. (2010).The spectrumof celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. ***Nat Rev Gastroenterol Hepatol***.,7:204–213.

Tjon, JM.; van Bergen, J. and Koning, F. (2010). CD: How complicated can it get? ***Immunogenetics***,62: 641–645.

Tommasini, A.; Not ,T.; Kiren, V.; Baldas, V.; Santon, D.; Trevisiol, C.; Berti, I.; Neri, E.; Gerarduzzi, T.; Bruno, I.; Lenhardt, A.; Zamuner ,E.; Spano, A.; Crovella, S.; Martellossi, S.; Torre, G.; Sblattero, D.; Marzari, R.; Bradbury, A.; Tamburlini, G. and Ventura, A. (2004). Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. ***Arch Dis Child*** .,89:512-515.

Trier ,JS. (1997). Celiac sprue and refractory sprue. In Sleosenger & Fordran's Gastrointestinal & Liver disease / 6th edition, vol. 2.

Trier, JS. (1998).Coeliac sprue and refractory sprue. In Feldman M, Schar Schmidt BF, Sleisenger MA (eds):

Gastrointestinal and liver diseases Philadelphia; **W. B. Saunders**., 1557.

Troncone, R.and Auricchio, S. (2007).Rotavirus and celiac disease: clues to the pathogenesis and perspectives on prevention**.** ***J Pediatr Gastroenterol Nutr***.,44:527–528.

Tursi,A.; Brandimarte,G.;Giorgetti, GM.(2003).Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease.***Journal of Clinical Gastroenterology***,36(3):219-221.

Vader, LW.; De, RA.; van der Wal ,Y.; Kooy,Y.M.; Benckhuijsen,W.; Mearin, M.L.; Drijfhout, J.W.;Van Veelen,P.; Koning, F. (2002). Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease. ***J ExpMed***., 195:643–649.

vanRijn, JC.; Grote, FK.; Oostdijk, W. and Wit, JM. (2004). Short stature and the probability of coeliac disease, in the absence of gastrointestinal symptoms. ***Arch Dis Child***.,89:882–883.

Ventura, A,.;Magazzu, G. and Greco, L. (1999). Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. **Gastroenterology**, 117:297-303.

Viljamaa, M.; Kaukinen, K.; Huhtala, H.; Kyrönpalo, S.; Rasmussen, M. and Collin, P. (2005). Coeliac disease,

autoimmune diseases and gluten exposure. ***Scand J Gastroenterol***., 40:437-443.

Villanacci, V.; Catassi, C.; Rostami, K. and Volta, U. (2010).Celiac disease: changing dogma on historical diagnosis. **GastroHep**., http://www.gastrohep.com/ freespeech/ freespeech.asp?id5128.

Vilppula A, Kaukinen K, Luostarinen L, Krekela I, Patrikainen H, Valve R, Maki M and Collin P.(2009) .Increasing Prevalence and high incidence of celiac disease in elderly people : a population_based study. ***BMC* Gasteroenterol**., **9:49.**

Vivas, S.; Ruiz de Morales, J.;Fernandez, M.; Hernando, M.and Herrero B. , (2008). Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. ***Am J Gastroenterol***., 103: 2360-2365.

Volta, U.; Granito, A.; Parisi, C.; Fabbri, A.; Fiorini, E.; Piscaglia, M.; Tovoli, F.; Grasso, V.; Muratori, P.; Pappas, G.; De Giorgio, R. (2010). Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease: a prospective analysis. ***J Clin Gastroenterol*** .,44:186–90.

Wadaa,I.M.(2012).Correlation between IgA Anti-tTG antibodies and histopathological findings in duodenal biopsys from patients with celiac disease. B.Sc.Thesis

College of Health and Medical Technology.University of Baghdad University.

wahab, P. J., Meijer, J. w. & Mulder, C. J. (2002).Histologic follow-up of people with celiac disease on a gluten-free diet: slow and incomplete recovery. ***Am. J. Clin. Pathol.***, 118: 459–463

West, J.; Logan, RF.; Hill, PG.;LIoyd, A.; Lewis, S.; Hubbard, R.; Reader, R. Holmes, GK. and Khaw, KT.(2003). Seroprevalence, correlates,and characteristic of undetected celiac disease in England.***Gut.,*** 52:960_5.

Wierink, CD.; van Diermen, DE.; Aartman, IH.; Heymans, HS. (2007). Dental enamel defects in children with coeliac disease. ***Int J Paediatr Dent***.,17:163–168.

Wieser, H. (2007) .Chemistry of gluten proteins. ***Food Microbiol***., 24**:** 115–19.

Wieser, H.(1995). The precipitating factor in coeliac disease. ***Baillieres Clin Gastroenterol***., 9**:** 191–207.

Wolters, VM. and Wijmenga, C. (2008). Genetic background of celiac disease and its clinical implications. ***Am J Gastroenterol***.,103:190–195.

Wu, J.; Xia, B.; Von Blomberg, BM.; Zhao, C.; Y ang, XW.; Crusius, JB. and Pena, AS.(2010).Coeliac disease:emerging in China. **Gut .,**59**:**418_9.

Young, DS. (2001).Effects of drugs on Clinical Lab. Tests,4th ed AACC.

Zanoni, G.; Navone, R.; Lunardi, C.; Tridente, G.; Bason, C.; Sivori, S.; Beri, R.; Dolcino, M.; Valletta, E.; Corrocher, R.; Puccetti A. (2006).In celiac disease, a subset of autoantibodies against transglutaminase binds toll-like receptor4 and induces activation of monocytes. ***PLoS Med***., 3: 1637–53.

Summary:

Celiac disease is an autoimmune disorder of the small intestine that occurs in genetically predispose people of all ages from middle infancy on word. The prevalence of clinically diagnosed disease is 0.05-0.27% in variouse studies.

This cross-sectional study was conducted in Diyala province for the period from(4 September 2011-12 April 2012") in AL-Batool Teaching Hospital for maternity and children. The study include 156 child who were clinically suspected as having celiac disease and 24 apparently healthy child as a control group. The age range of the patients was 1 month to 14 years.

The aims of the study are to investigate the validity of serological tests for the diagnosis of celiac disease and to explore the association of the disease with certain biochemical, immunological and hematological markers as well as demographic factors.

Five milliliters of venous blood samples were collected from the study and control groups following the standard aseptic technique. One milliliter of the blood was putted in EDTA tubes for determination of hemoglobin concentration which was carried out immediately using the heprinized capillary tube procedure. The remaining of the blood was poured in plan plastic disposable tubes. Sera were separated by centrifugation at 3000 rpm for 5 minutes, sera were divided into two aliquot tubes and kept frozen till use. One part was used to determine the serum calcium and albumin concentration using commercially, aviable colorimetric kits. Another part was used to determine the quantitative and qualitative C-reactive protein using the highly sensitive agglutination test, and also to determine the serum anti-gliadin IgA and anti-tissue transglutaminase IgA using the enzyme-linked immunosorbant assay(ELISA), which was carried out in the Virology Unit at the Public Health Laboratory in Baquba.

Information regarding patients age, sex, residence, family history, clinical sings were collected in special questionnaire form preconstructed for this purpose. For human privacy, the patient's relative consensus were taken.

For statistical analyses and comparison, children who were serum anti-gliadin IgA and anti-tissue transglutaminase IgA positive were considered as celiac disease patient's, and those children who had only one of these marker positive were considered as symptomatic non-celiac patients.

The results showed that the serum anti-gliadin IgA and anti-tissue transglutaminase IgA concentration in celiac disease patients were significantly higher($P<0.001$) compared to symptomatic non-celiac disease patients and control groups.

The results also revealed that the serum concentration of calcium, but not albumin, was significantly lower($P<0.001$) in celiac disease patients as compared to symptomatic non-celiac disease patients and control groups. furthermore, the

hemoglobin concentration showed non-significant differences among the study groups.

The c-reactive protein positivity rate was significantly higher(P=0.038) in celiac disease patients as compared to control group, but not significant as compared to symptomatic non-celiac disease patients.

Regarding the clinical signs, the abdominal pain was found in 17.1% and 82.9% among celiac disease and symptomatic non-celiac patients respectively , although the presence of abdominal pain increase the diagnosis of celiac disease 2.8 times (odd ratio). Similarly, the presence of insulin dependent diabetes mellitus ,abdominal distension and short stature increases the risk of celiac disease, but all were insignificant. On the other hand, the presence of 3-4 clinical symptoms collectively increases the risk of disease by 24.3 times.

The results also showed that the celiac disease is more in 1-5 years age group, males than females , urban area than in rural areas , and families with positive history than in families with negative history, but all were statistically insignificant.

Regarding the validity of serum anti-gliadin IgA and anti-tissue transglutaminase IgA tests, the results showed that the sensitivity, specifity, accuracy, positive and negative predictive values were 100%, 92.2%, 92.9%, 99.1%, 100% and 100%, 94.3%, 94.9%, 99.4%, 100% respectively.

It can be concluded that the serum anti-tissue transglutaminase IgA is more valid than the serum anti-gliadin IgA for the diagnosis of celiac disease , but the presence of both antibodies was a strong predictive markers for the disease. On the other hand, the serum calcium, albumin concentrations, hemoglobin concentration and c-reactive protein positivity were non-specific and can be used as a co-predictive markers for the diagnosis of celiac disease.

استمارة المعلومات :

الاسم:

العمر:

الجنس: ذكر( ) انثى( )

السكن: ريف ( )، مدينة ( )

وجود تاريخ عائلي للمرض:

وجود انتفاخ في البطن:

الاعراض المرضية:

Ministry of Higher Education

& Scientific Research

Diyala University

College of Education for Pure Science

Department of Biology

The Validity Of Serological Tests For detection of celiac disease among children in Diyala province

A thesis

Submitted to the Council of college of Education for Pure Science/Diyala University In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biology/Microbiology

By

Shahad Khalel Ibrahem Al_qaisi

B.Sc.Biology

Supervised by

Assit.Prof.Dr
Nadhim Ghazal Noaman
College of Medicine
Diyala University

Assit.Prof.Dr
Abdul-Razak Shafiq Hassan
College of Veterinary Medicine
Diayala University

1434

2013