DOI: 10.22122/jims.v36i467.8732 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و ششم/شماره‌ی ۴۶۷/هفته‌ی سوم فروردین ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۰ تاریخ چاپ: ۱۳۹۷/۱/۱۵

بررسی معیارهای ارزش تشخیصی و نقطه‌ی برش تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال با دو روش هماتوکسیلین– ائوزین و ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD3 در دئودنوم کودکان مبتلا به سلیاک

مژگان مختاری[۱]، حسین صانعیان[۲]، رسول توکلی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: برخی مطالعات نشان داده است که تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال با نشانگر CD3 می‌تواند با حساسیت و ویژگی بالایی ابتلا به سلیاک را مشخص کند، اما مطالعات انجام گرفته در این زمینه، محدود و متناقض می‌باشد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین معیارهای ارزش تشخیصی و نقطه‌ی برش تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال به دو روش هماتوکسیلین– ائوزین و ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD3 در دئودنوم کودکان مبتلا به سلیاک انجام شد.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی مقطعی، ۱۱۳ کودک زیر ۱۲ سال کاندیدای بیوپسی در بیمارستان‌های الزهرا (س) و امام حسین (ع) اصفهان مورد مطالعه قرار گرفتند و تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال در اسلایدهای هماتوکسیلین– ائوزین و CD3 در آن‌ها شمارش شد. بر حسب نتیجه‌ی آزمایش پاتولوژی، نقطه‌ی برش و معیارهای ارزش تشخیصی نشانگرهای پیش‌گفته تعیین گردید.

یافته‌ها: بهترین نقطه‌ی برش برای هماتوکسیلین– ائوزین و CD3، به ترتیب ۱۶ و ۱۸ به دست آمد. بر این اساس، هماتوکسیلین– ائوزین دارای حساسیت ۹۳/۸، ویژگی ۸۶/۶، مثبت کاذب ۱۳/۴، منفی کاذب ۶/۳، ارزش اخباری مثبت ۵۳/۶، ارزش اخباری منفی ۹۸/۸ و صحت ۸۷/۶ درصد بود. معیارهای پیش‌گفته برای CD3 به ترتیب شامل حساسیت ۸۷/۵، ویژگی ۹۳/۸ مثبت کاذب ۶/۲، منفی کاذب ۱۲/۵، ارزش اخباری مثبت ۷۰/۰، ارزش اخباری منفی ۹۷/۸ و صحت ۹۲/۹ درصد محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: شمارش تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال همراه با استفاده از نشانگر CD3 در تشخیص بیماری سلیاک به ویژه در مواردی که تناقض بین هماتوکسیلین– ائوزین و سرولوژی وجود دارد، کمک کننده است و از دقت بالایی برخوردار می‌باشد. در عین حال، توصیه می‌گردد مطالعات بیشتری در خصوص حساسیت و ویژگی CD3 در تشخیص بیماری سلیاک انجام گیرد.

واژگان کلیدی: سلیاک، لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال، کمپلکس CD3

ارجاع: مختاری مژگان، صانعیان حسین، توکلی رسول. **بررسی معیارهای ارزش تشخیصی و نقطه‌ی برش تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال با دو روش هماتوکسیلین– ائوزین و ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD3 در دئودنوم کودکان مبتلا به سلیاک.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۷): ۸۹-۸۳

مقدمه

بیماری سلیاک، یک نوع اختلال سیستم ایمنی است که به طور کلی، افراد مبتلا به آن نسبت به رژیم غذایی حاوی گلوتن حساسیت دایمی دارند (۴-۱). بزرگ‌ترین نارسایی‌ها در تشخیص سلیاک در رابطه با یافته‌های هیستولوژیک رخ می‌دهد که ناشی از تهیه‌ی نمونه به روش نامناسب و برش‌های مماسی از بافت می‌باشد که تفسیر نمونه را دچار اشکال می‌کنند (۶-۵). در چنین شرایطی، ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry)، به دلیل رنگ‌آمیزی مناسب سیتوپلاسم لنفوسیت‌ها و افتراق آن‌ها از انتروسیت‌ها تشخیص را آسان‌تر می‌کند و می‌تواند در طبقه‌بندی Marsh راه‌گشا باشد (۷).

ترکیب علایم بالینی و نشانگرهای سرولوژیک، مطرح کننده‌ی بیماری سلیاک می‌باشد. ارزیابی سرولوژیک سلیاک شامل آنتی‌بادی IgA (Immunoglobulin A) آنتی‌اندومزیال، آنتی‌بادی IgA آنتی‌ترانس گلوتامیناز بافتی است که دارای بیشترین دقت تشخیصی

۱- دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دستیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: رسول توکلی
Email: rtavakoli@chmail.com

است و ارزان‌تر از روش ایمونوفلورسانس برای ارزیابی آنتی‌بادی می‌باشد (۸).

تغییرات توصیف شده در سلیاک، عبارت از افزایش تعداد Intraepithelial lymphocytes (IEL) (۳۰ لنفوسیت در هر ۱۰۰ اینتروسیت)، کاهش ارتفاع سلول‌های اپیتلیال (تغییر از حالت ستونی به مکعبی و از آن به حالت صاف)، از دست دادن قطبیت هسته‌ای سلول‌های اپیتلیال، کاهش در تعداد سلول‌های گابلت و حالت‌های غیر طبیعی میکروپرزها می‌باشد (۱۰-۹). تغییرات ساختاری عبارت از هیپرپلازی کریپت‌ها، آتروفی جزئی یا کلی پرزها و کاهش پرزهای روده‌ای به نسبت کریپت‌ها و تغییرات لامینا پروپریا (شامل افزایش اینفلتراسیون لنفوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها) می‌باشد. افزایش در IEL، ممکن است شاخص مناسب برای حساسیت به گلوتن نسبت به تغییرات ساختاری پرزهای روده‌ای باشد؛ به گونه‌ای که آن‌ها در ابتدای بیماری نمایان می‌شوند و قبل از بهبود، دیگر ویژگی‌های ساختاری ناپدید می‌شوند که در هر دو مرحله، قابل شناسایی هستند. کاهش ارتفاع پرزها و انتروسیت‌ها، آسان‌تر از بقیه‌ی تغییرات در روده قابل تشخیص می‌باشند، اما این تغییرات، در مراحل پیشرفته‌تر بیماری رخ می‌دهند (۱۱).

استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی به عنوان وسیله‌ای بهتر در بررسی تعداد و توزیع IEL به ویژه در هنگامی که ساختار پرزهای روده‌ای در بیوپسی، طبیعی می‌باشند، مطرح شده است. روش ایمونوهیستوشیمی، در واقع هنگامی که افزایش قطعی در IELها مشکوک است، می‌تواند مفید باشد. روش IHC با CD3 به برجسته‌تر کردن الگوی توزیع IEL در اپیتلیوم پرزهای روده‌ای کمک می‌کند؛ در حالی که برخی گزارش‌های متناقض در مطالعات دیده می‌شود (۹).

با توجه به این که در Marsh طبقه‌ی I، تنها یافته‌ی مورفولوژیک، افزایش لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال است و تغییرات ساختاری در پرزهای روده‌ی باریک هنوز حادث نشده است، در کودکان مشکوک به بیماری سلیاک، بر اساس علایم بالینی و آزمایشگاهی (چک آنتی‌بادی)، بیوپسی دئودنوم و استفاده از رنگ‌آمیزی به روش ایمونوهیستوشیمی در شمارش لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال، تشخیص قطعی بیماری داده می‌شود.

از طرفی، به دلیل این که مطالعه‌ای بومی در خصوص تعیین نقطه‌ی برش (Cut-off) تشخیص این بیماری انجام نشده بود و تشخیص دیرهنگام بیماری در کودکان می‌تواند باعث تغییرات ساختاری در پرزهای روده‌ی باریک شود، مطالعه‌ی حاضر، با هدف تعیین معیارهای ارزش تشخیصی و نقطه‌ی برش تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال به روش IHC در کودکان زیر ۱۲ سال مشکوک به سلیاک انجام شد.

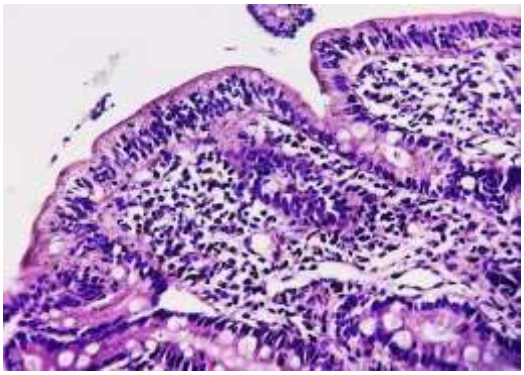
روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی بود که طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۳ در بیمارستان‌های الزهرا (س) و امام حسین (ع) اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه، کودکان زیر ۱۲ سال کاندیدای بیوپسی دئودنوم مراجعه کننده به بیمارستان‌های پیش‌گفته بودند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران زیر ۱۲ سال با طبقه‌ی ۱ در طبقه‌بندی Marsh و کاندیدای بیوپسی دئودنوم بودند که والدین آنان برای شرکت در مطالعه رضایت داشتند. همچنین، نتایج پاتولوژی مشکوک و عدم امکان بیوپسی دئودنوم به علل مختلف به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظرگرفته شد.

در این تحقیق، دو گروه مورد بررسی قرار گرفتند. گروه اول، بیماران مبتلا به سلیاک که بر اساس شرح حال بالینی و بررسی‌های آزمایشگاهی (چک آنتی‌بادی‌های آنتی‌اندومیزیال و آنتی‌ترانس گلوتامیناز بافتی) و نتیجه‌ی بیوپسی دئودنوم در بررسی مورفولوژیک لام هماتوکسیلین- ائوزین (Hematoxiline-eosine یا H&E) مورد تأیید قرار گرفته و به درمان پاسخ مناسب داده بودند. گروه دوم، کودکانی بودند که به دلایل دیگری مورد بیوپسی دئودنوم قرار گرفته و از نظر سلیاک منفی و بیوپسی آن‌ها طبیعی گزارش شده بود.

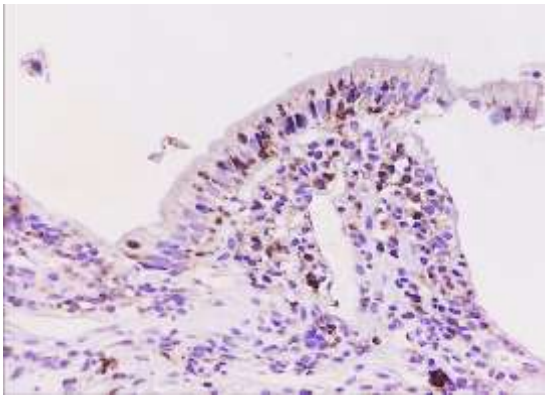
بیوپسی روده، از قسمت دوم دئودنوم هر دو گروه به عمل آمده و مورد بررسی قرار گرفت. همه‌ی نمونه‌ها، برای ارزیابی هیستولوژیک از کفایت مورد نظر (یافتن حداقل چهار پرز در یک ردیف) برخوردار بودند. شکل‌های ۱ تا ۴ نمای هیستولوژیک H&E و CD3 در بیماری سلیاک و نمونه‌ی دئودنوم طبیعی را نشان می‌دهد.



شکل ۱. نمای هیستولوژیک هماتوکسیلین- ائوزین در بیماری سلیاک (۴۰×)

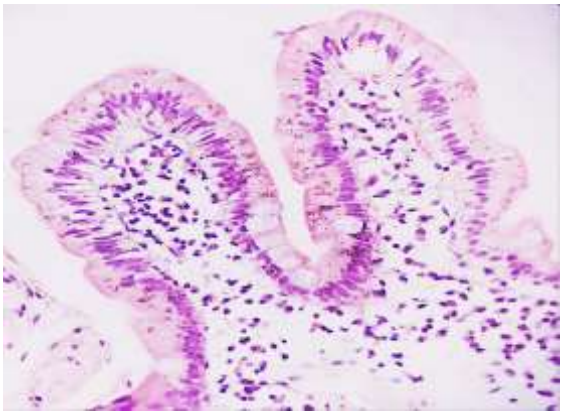
اطلاعات مورد نیاز نظیر نتایج آزمایش سرولوژیک و چک آنتی‌بادی از پرونده استخراج و در فرم هر بیمار ثبت شد. به کمک رنگ‌آمیزی با روش IHC، تعداد لنفوسیت‌های اینتراپیتلیال نمونه‌های بیوپسی دئودنوم مورد شمارش قرار گرفت. در هر بار شمارش لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال، ۵-۳ ویلوس به صورت اتفاقی مورد بررسی قرار گرفت و تعداد

لنفوسیت‌ها به ازای ۵۰۰–۳۰۰ سلول اپیتلیال شمارش گردید (۱۲).



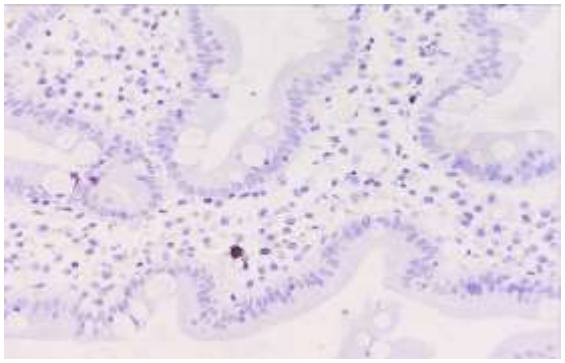
شکل ۲. نمای هیستولوژیک CD3 در بیماری سلیاک (۴۰×)

روش نمونه‌گیری به شیوه‌ی غیر احتمالی آسان بود و حجم نمونه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مطالعات شیوع و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، شیوع نتیجه‌ی مثبت در نمونه‌های بیوپسی که معادل ۰/۵ در نظر گرفته شد و پذیرش میزان خطای ۰/۱، به تعداد ۹۶ بیمار برآورد شد که جهت اطمینان بیشتر، ۱۱۳ نمونه‌ی در دسترس، مورد بررسی قرار گرفتند.



شکل ۳. نمای هیستولوژیک هماتوکسیلین–ائوزین در نمونه‌ی دئودنوم طبیعی (۴۰×)

داده‌های به دست آمده وارد رایانه شد و با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) و Medcalc مورد تحلیل قرار گرفت. جهت تحلیل داده‌ها، از آزمون‌های آماری χ^2، t و آزمون‌های ارزش تشخیصی و آنالیز Receiver operating characteristic (ROC) استفاده گردید.



شکل ۴. نمای هیستولوژیک CD3 در نمونه‌ی دئودنوم طبیعی (۴۰×)

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۱۳ کودک تحت بیوپسی دئودنوم با میانگین سنی ۳/۰ ± ۶/۵ سال (دامنه‌ی ۶ ماه تا ۱۲ سال) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند که ۴۶ نفر آن‌ها پسر و ۶۷ نفر دختر بودند. برابر نتایج پاتولوژی، ۱۶ نفر (۱۴/۲ درصد) از بیماران مورد مطالعه مبتلا به سلیاک تشخیص داده شدند.

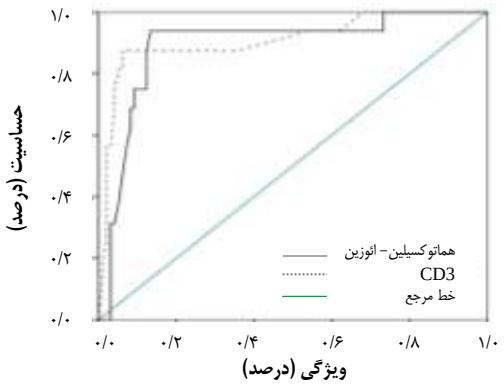
در جدول ۱، مشخصات دموگرافیک و تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال دئودنوم در برش‌های H&E و CD3 در دو گروه آمده است. بر این اساس، هر دو نشانگر مورد مطالعه دارای صحت مناسبی برای تعیین ابتلای فرد به سلیاک بودند. مشاهده می‌شود که بر طبق آزمون t، میانگین تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال دئودنوم در برش‌های H&E در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا تفاوت معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۰۱$). میانگین سطح CD3 در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به سلیاک نیز حاکی از اختلاف معنی‌دار بین دو گروه بود ($P < ۰/۰۰۱$).

جدول ۱. توزیع مشخصات دموگرافیک و تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال دئودنوم در برش‌های هماتوکسیلین– ائوزین و CD3 در دو گروه

متغیر		ابتلا به سلیاک		مقدار P
		خیر	بلی	
میانگین سن		۶/۳۷ ± ۲/۹۶	۷/۰۶ ± ۳/۲۸	۰/۳۹۰
جنس [تعداد (درصد)]	پسر	۴۲ (۴۳/۳)	۴ (۲۵/۰)	۰/۱۷۰
	دختر	۵۵ (۵۶/۷)	۱۲ (۷۵/۰)	
میانگین IEL در برش هماتوکسیلین– ائوزین		۱۲/۰۵ ± ۳/۹۹	۲۶/۳۱ ± ۷/۴۳	< ۰/۰۰۱
میانگین IEL در برش CD3		۱۳/۴۸ ± ۳/۴۷	۲۸/۱۹ ± ۵/۳۳	< ۰/۰۰۱

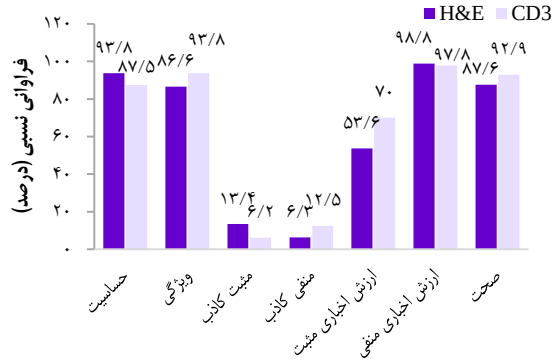
IEL: Intraepithelial lymphocytes

تحلیل داده‌های به دست آمده با منحنی ROC نشان داد که سطح زیر این منحنی برای IEL در برش H&E معادل ۰/۸۹ و برای CD3 معادل ۰/۹۱ بود (شکل ۵).



شکل ۵. سطح زیر منحنی Receiver operating characteristic (ROC) برای دو نشانگر CD3 و هماتوکسیلین- ائوزین در تشخیص بیماری سلیاک. برای هماتوکسیلین- ائوزین، سطح زیر منحنی برابر ۰/۸۹، خطای معیار مساوی ۰/۰۴۶ و دامنه اطمینان برابر ۰/۹۸-۰/۸۰ (P < ۰/۰۰۱) و برای CD3 این مقادیر به ترتیب برابر با ۰/۹۱، ۰/۰۴۷ و ۰/۹۹-۰/۸۲ (P < ۰/۰۰۱) بود.

در مطالعه‌ی حاضر، بهترین نقطه‌ی برش H&E معادل ۱۶ و بهترین نقطه‌ی برش CD3 معادل ۱۸ به دست آمد. بر این اساس، H&E دارای حساسیت ۹۳/۸، ویژگی ۸۶/۶، مثبت کاذب ۱۳/۴، منفی کاذب ۶/۳، ارزش اخباری مثبت ۵۳/۶، ارزش اخباری منفی ۹۸/۸ و صحت ۸۷/۶ درصد بود. معیارهای پیش‌گفته برای CD3 به ترتیب حساسیت ۸۷/۵، ویژگی ۹۳/۸، مثبت کاذب ۶/۲، منفی کاذب ۱۲/۵، ارزش اخباری مثبت ۷۰/۰، ارزش اخباری منفی ۹۷/۸ و صحت ۹۲/۹ درصد محاسبه شد (شکل ۶).



شکل ۶. معیارهای ارزش تشخیصی هماتوکسیلین- ائوزین و CD3 در تشخیص بیماری سلیاک

در مورد بیماران سلیاک، علاوه بر علایم بالینی مثبت اعم از دل درد، اسهال مزمن، کاهش رشد، حساسیت به مواد دارای گلوتن و غیره، آنتی‌بادی TTG ارزیابی شد که میزان آن افزایش یافته بود. همچنین، از نظر human leukocyte antigen-DQ2 (HLA-DQ2) و HLA-DQ8 مورد بررسی قرار گرفت. گروه شاهد علایم بالینی دیسپپسی داشتند و از نظر سرولوژی نیز منفی بودند.

بحث

بیماری سلیاک یک بیماری به نسبت شایع است که در صورت عدم تشخیص به موقع در دوران کودکی، می‌تواند منجر به بروز عوارض جبران ناپذیر در کودک گردد. تشخیص نهایی سلیاک از طریق بیوپسی دئودنوم امکان پذیر است، اما متأسفانه امکانات بیوپسی در تمامی مناطق و برای همه‌ی کودکان مشکوک، امکان پذیر نمی‌باشد. از سوی دیگر، تا کنون روش آزمایشگاهی که بتواند به طور قطعی، ابتلا به سلیاک را مشخص کند، ارایه نشده است.

برخی تحقیقات نشان داده است که تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال با نشانگر CD3 به روش IHC در دئودنوم، می‌تواند یک روش قابل اعتماد برای تشخیص این بیماری باشد (۱۲)، اما در این مورد نیز نظریه‌ی واحدی ارایه نشده و معیارهای ارزش تشخیصی این نشانگر، در مطالعات مختلف، متفاوت گزارش شده است (۱۳). از این رو، هدف کلی از انجام این مطالعه، تعیین معیارهای ارزش تشخیصی تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال با نشانگر CD3 به روش IHC در دئودنوم کودکان مبتلا به سلیاک بود.

در این مطالعه، ۱۱۳ کودک زیر ۱۲ سال که به علل مختلفی تحت بیوپسی دئودنوم قرار گرفته بودند، از نظر تعداد لنفوسیت اینترا اپیتلیال با نشانگر CD3 مورد مطالعه قرار گرفتند که ۱۴/۲درصد آن‌ها، مبتلا به سلیاک تشخیص داده شدند. دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به سلیاک، از نظر ویژگی‌های دموگرافیک اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما میانگین تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال در برش H&E و همچنین، نشانگر CD3 در کودکان مبتلا به سلیاک به طور معنی‌دار و قابل توجهی بالاتر بود و از آن جایی که در فرم غیر کلاسیک بیماری و موارد خاموش، افزایش لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال یکی از پایه‌های اصلی تشخیص است (۱۳)، این یافته می‌تواند در تشخیص صحیح بیماری سلیاک کمک کننده باشد.

برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، مناسب‌ترین نقطه‌ی برش تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال در برش H&E و همچنین، نشانگر CD3 به ترتیب مقادیر بالاتر از ۱۶ و بالاتر از ۱۸ به دست آمد. در مطالعه‌ی Mubarak و همکاران، در بررسی ۱۵۹ کودک که تحت بیوپسی قرار گرفته بودند، نشانگر CD3 در ۱۲/۶درصد بیماران مثبت بود و در

۶/۳ درصد این کودکان، فرم کلاسیک بیماری سلیاک وجود داشت (۱۴). در مطالعه‌ی Tosco و همکاران، ۵۶ بیمار مبتلا به سلیاک درمان نشده با ۵۶ فرد سالم از نظر نشانگر CD3 و شمارش سلول‌های اپیتلیالی مورد مطالعه قرار گرفتند. محاسبه‌ی نمره‌ی D، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه نشان داد. در این مطالعه، روش ایمونوهیستوشیمی به عنوان یک روش اختصاصی برای تشخیص سلیاک معرفی شده است (۱۵). Lonardi و همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه دست یافتند که شمارش سطح CD3 می‌تواند در تشخیص بیماری سلیاک در مواردی که بیماری در مرحله‌ی Latent قرار دارد، کمک کننده باشد (۱۶).

در حالی که در مطالعه‌ی Hudacko و همکاران، شمارش CD8 به همراه CD3 در بهبود تشخیص بیماری سلیاک به روش ایمونوهیستوشیمی، مؤثر نبوده است (۱۷). Pellegrino و همکاران، در مطالعه‌ی خود ارزش شمارش سلول‌های اپیتلیال را در تشخیص سلیاک مورد مطالعه قرار دادند که برابر مطالعه‌ی ایشان، ارزش شمارش سلول‌های پیش‌گفته در حد متوسط برآورد شده است (۱۸).

CD3، در واقع یک نشانگر رده‌ی لنفوسیت‌های T می‌باشد. بنابراین، آنتی‌بادی بر علیه آن می‌تواند غشای سلول‌ها را رنگ‌آمیزی نماید که این هم در مورد لنفوسیت‌های T طبیعی و نئوپلاستیک مصداق دارد. با توجه به این که بررسی لام‌های مورفولوژی چشمی می‌باشد و CD3 یک نشانگر رنگ کننده‌ی غشای سلول‌های لنفوسیتی T است، بررسی لام‌ها نسبت به لام H&E راحت‌تر است و احتمال خطا کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری نهایی این که شمارش تعداد لنفوسیت‌های اینترا اپیتلیال با استفاده از نشانگر CD3 در تشخیص بیماری سلیاک به ویژه در مواردی که تناقض بین H&E و سرولوژی وجود دارد، کمک کننده است و از دقت بالایی برخوردار می باشد. در عین حال، توصیه می‌گردد مطالعات بیشتری در خصوص حساسیت و ویژگی CD3 در تشخیص بیماری سلیاک انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی در رشته‌ی پاتولوژی است که با شماره‌ی ۳۹۵۱۱۰ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب و با حمایت‌های این معاونت انجام شده است. از این رو، نویسندگان مقاله از زحمات ایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Rosai J. Gastrointestinal Tract. In: Rosai J, editor. Rosai and Ackerman's surgical pathology. Philadelphia, PA: Mosby; 2004. p. 716-7.
2. Sood M. Disorders of malabsorption. In: Kliegman R, Behrman R, Jenson H, Stanton B, editors. Nelson textbook of pediatrics. 18thed. Philadelphia, PA: Saunders; 2007; p.1591-3. vol 2.
3. Troncone R, Auricchio S. Celiac disease. In: Wyllie R, Hyms J, Kay M, editor. Pediatric gastrointestinal and liver disease. 4th ed. Saint Louis, MO: Saunders; 2011. p. 366-73.
4. Tollefsen S, Arentz-Hansen H, Fleckenstein B, Molberg O, Raki M, Kwok WW, et al. HLA-DQ2 and -DQ8 signatures of gluten T cell epitopes in celiac disease. J Clin Invest 2006; 116(8): 2226-36.
5. Tajik P. Celiac disease overview in children by focused on Iranian studies. International Journal of Celiac Disease 2014; 2(4): 121-5.
6. Polanco I. Celiac disease in children. In: Rodrigo L, Salvador Pena A. Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. 1st ed. Terrassa, Spain: Omnia Science; 2014. p. 221-34 .
7. Guz-Mark A, Zevit N, Morgenstern S, Shamir R. Duodenal intraepithelial lymphocytosis is common in children without coeliac disease, and is not meaningfully influenced by Helicobacter pylori infection. Aliment Pharmacol Ther 2014; 39(11): 1314-20.
8. Kakar S, Nehra V, Murray JA, Dayharsh GA, Burgart LJ. Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosal architecture. Am J Gastroenterol 2003; 98(9): 2027-33.
9. Valdimarsson T, Franzen L, Grodzinsky E, Skogh T, Strom M. Is small bowel biopsy necessary in adults with suspected celiac disease and IgA anti-endomysium antibodies? 100% positive predictive value for celiac disease in adults. Dig Dis Sci 1996; 41(1): 83-7.
10. Fasano A, Troncone R, Branski D. Frontiers in celiac disease. Basel, Switzerland: Karger; 2008. vol 12.
11. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. 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 2005; 40(1): 1-19.
12. Ghergherehchi, R, Rafeey M, Majidi J, Majidi S. Prevalence of Celiac Disease in Type 1 Diabetic Children and adolescents in East Azarbaijan. J Babol Univ Med Sci 2010; 11(6): 40-5. [In Persian].
13. Rajabiani A, Aaliepour A, Tavangar S M, Meysamie A P. A comparison of H&E staining and IHC study in quantization of duodenal intra-epithelial lymphocytes. Yafte 2008; 9(4): 51-7. [In Persian].
14. Mubarak A, Wolters VM, Houwen RH, ten Kate FJ. Immunohistochemical CD3 staining detects additional patients with celiac disease. World J Gastroenterol 2015; 21(24): 7553-7.
15. Tosco A, Maglio M, Paparo F, Greco L, Troncone R, Auricchio R. Discriminant score for celiac disease

based on immunohistochemical analysis of duodenal biopsies. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2015; 60(5): 621-5.

16. Lonardi S, Villanacci V, Lorenzi L, Lanzini A, Lanzarotto F, Carabellese N, et al. Anti-TCR gamma antibody in celiac disease: the value of count on formalin-fixed paraffin-embedded biopsies. Virchows Arch 2013; 463(3): 409-13.

17. Hudacko R, Kathy Z, X, Yantiss RK. Immunohistochemical stains for CD3 and CD8 do not improve detection of gluten-sensitive enteropathy in duodenal biopsies. Mod Pathol 2013; 26(9): 1241-5.

18. Pellegrino S, Villanacci V, Sansotta N, Scarfi R, Bassotti G, Vieni G, et al. Redefining the intraepithelial lymphocytes threshold to diagnose gluten sensitivity in patients with architecturally normal duodenal histology. Aliment Pharmacol Ther 2011; 33(6): 697-706.

DOI: 10.22122/jims.v36i467.8732 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 36, No. 467, 3rd Week, April 2018**

Received: 29.08.2017 Accepted: 1.12.2017 Published: 04.04.2018

Evaluation and Specification of Intraepithelial Lymphocyte Cut-off Point with Hematoxiline-Eosine (H&E) and Immunohistochemistry (CD3 Marker) in Duodenal Biopsy of Children with Celiac Disease

Mojgan Mokhtari[1], Hosein Saneian[2], Rasoul Tavakoli[3]

Original Article

Abstract

Background: Some of studies showed intraepithelial lymphocyte and CD3 marker can be used in diagnosis of celiac disease with a high sensitivity and specificity, but there is controversy in these studies. This study aimed to evaluate and specify the cut-off point of intraepithelial lymphocyte with Hematoxiline-eosine (H&E) and immunohistochemistry (CD3 marker) in duodenal biopsy of children with celiac disease.

Methods: In this cross-sectional study, 113 under 12-years-old children candidated for duodenal biopsy were enrolled. The number of intraepithelial lymphocytes in Hematoxiline-eosine and CD3 methods were determined, and based on pathology results, the cut-off points and diagnostic values of the two methods were calculated.

Findings: The best cut-off points for Hematoxiline-eosine and CD3 methods was 16 and 18, respectively. The sensitivity, specificity, false positive, false negative, positive predictive value, negative predictive value, and accuracy were 93.8, 86.6, 13.4, 6.3, 53.6, 98.8, and 87.6 percent for Hematoxiline-eosine, and 87.5, 93.8, 6.2, 12.5, 70.0, 97.8, and 92.9 percent for CD3, respectively.

Conclusion: Count of intraepithelial lymphocytes along with CD3 marker can help to detect celiac disease, especially when there is a controversy in between Hematoxiline-eosine and serology results. More studies is recommended to detect diagnostic values of these markers better.

Keywords: Celiac disease, Intraepithelial lymphocyte, CD3 complex

Citation: Mokhtari M, Saneian H, Tavakoli R. **Evaluation and Specification of Intraepithelial Lymphocyte Cut-off Point with Hematoxiline-Eosine (H&E) and Immunohistochemistry (CD3 Marker) in Duodenal Biopsy of Children with Celiac Disease.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(467): 83-9.

1- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Resident, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Rasoul Tavakoli, Email: rtavakoli@chmail.com