Određivanje rizika za pojavu celijakije na temelju genetskog biljega HLA-DRB1*0301 (rs2187668)

Nakić, Stjepanka

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:735606

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

STJEPANKA NAKIĆ

ODREĐIVANJE RIZIKA ZA POJAVU CELIJAKIJE NA TEMELJU GENETSKOG BILJEGA HLA-DRB1*0301 (rs2187668)

DIPLOMSKI RAD

Akademska godina:
2014./2015.

Mentor:
Izv. prof. dr. sc. Ozren Polašek

U Splitu, srpanj 2015.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

STJEPANKA NAKIĆ

ODREĐIVANJE RIZIKA ZA POJAVU CELIJAKIJE NA TEMELJU GENETSKOG BILJEGA HLA-DRB1*0301 (rs2187668)

DIPLOMSKI RAD

Akademska godina:
2014./2015.

Mentor:
Izv. prof. dr. sc. Ozren Polašek

U Splitu, srpanj 2015.

SADRŽAJ:

1. UVOD ... 1
1.1. Celijakija ... 2
1.1.1. Definicija i epidemiologija celijakije ... 2
1.1.2. Patogeneza celijakije ... 3
1.1.3. Klinička slika celijakije ... 4
1.1.4. Dijagnoza celijakije ... 6
1.1.4.1. Diferencijalna dijagnoza celijakije ... 6
1.1.4.2. Dijagnoza celijakije ... 7
1.1.4.2.1. Laboratorijske pretrage ... 7
1.1.4.2.2. Testovi apsorpcije ... 8
1.1.4.2.3. Određivanje protutijela i biopsija sluznice tankog crijeva ... 9
1.1.4.2.4. Radiološko snimanje i određivanje HLA halotipova ... 10
1.1.4.2.5. Zaključak ... 11
1.1.5. Komplikacije celijakije ... 11
1.1.5.1. Maligne komplikacije celijakije ... 11
1.1.5.2. Nemaligne komplikacije celijakije ... 12
1.1.6. Liječenje celijakije ... 12
1.1.7. Probir na celijakiju ... 13
1.2. HLA sustav ... 14
2. CILJ ISTRAŽIVANJA ... 17
3. MATERIJALI I METODE ... 19
4. REZULTATI ... 21
5. RASPRAVA ... 24
6. ZAKLJUČCI ... 27
7. POPIS CITIRANE LITERATURE ... 29
8. SAŽETAK ... 36
9. SUMMARY ... 39
10. ŽIVOTOPIS ... 42

Zahvaljujem se obitelji, prijateljima i kolegama na razumijevanju i moralnoj podršci te mentoru doc. dr. sc. Ozrenu Polašeku, dr. med. na brojnim stručnim savjetima i pomoći pri izradi diplomskog rada.

1. UVOD

1.1. Celijakija

1.1.1. Definicija i epidemiologija celijakije

Celijakija je imunološki posredovan sustavni poremećaj potaknut glutenom i srodnim prolaminima u genetski predisponiranih osoba. Karakterizirana je prisutnošću različitog spektra kliničkih manifestacija, specifičnim antitijelima, ljudskim leukocitnim antigenom (engl. - *human leukocyte antigens* - *HLA*) DQ2 ili DQ8 haplotipova i enteropatijom (1). Celijakija je obilježena histološkim promjenama sluznice tankog crijeva, poput atrofije crijevnih resica, hiperplazije Lieberkühnovih kripti i povišenog broja intraepitelijalnih limfocita. Etiopatogeneza nije do kraja razjašnjena. Danas se smatra da kod genetski predisponiranih osoba dolazi do abnormalnog imunosnog odgovora na gluten, pri kontaktu s hranom koja sadrži gluten, odnosno sastojaka koji se nalaze u pšenici (prolamini-glijadin), raži (sekalin) i ječmu (hordein). Avenin iz zobi nije štetan za osobe s celijakijom, ali je često kontaminiran s pšenicom na što treba obratiti pozornost (2).

Populacijske studije pokazuju da je učestalost pojave celijakije 0,5% do 1% u općoj populaciji, iako je većina pogođenih pojedinaca i dalje nedijagnosticirana (3). Rizik za pojavu celijakije je najveći kod monozigotnih blizanaca, slijede braća i sestre kod kojih postoji HLA podudarnost, braća i sestre te u konačnici roditelji i djeca osoba oboljelih od celijakije (4). Prevalencija celijakije, kod djece, u dobi od 2,5 do 15 godina je 3-13 na 1000 (5, 6, 7). SAD studija je utvrdila da je prevalencija celijakije kod rođaka pacijenata kod koji je celijakija dokazana biopsijom u prvom koljenu 1:22, a u drugom koljenu 1:39 (8). Konkordancija za pojavu celijakije u monozigotnih blizanaca iznosi 70%, a kod dizigotnih blizanaca 30% (2). Veća učestalost celijakije se javlja kod djece koja su rođena planiranim carskim rezom, nego kod djece koja su rođena prirodnim putem i neočekivano (9, 10). Isto tako kod nedonoščadi, rizik za pojavu celijakije, u kasnijoj dobi, je veći nego kod terminski rođene djece (10). Od ostalih čimbenika rizika spominju se perinatalne i infekcije u djetinjstvu, upotreba antibiotika i inhibitora protonske pumpe (11).

Za Republiku Hrvatsku, prevalencija i incidencija su poznate za Međimursku županiju. Prevalencija, ispitivana u adolescenata, je 1:280, a kumulativna incidencija je 1,9:1000 ili 1:550 živorođene djece (2).

Celijakija je čest poremećaj u sjevernoj Africi i zemljama Srednjeg Istoka. Epidemiologija celijakije u Azijsko-pacifičkoj regiji je i dalje nedostatna i uglavnom ograničena na Indiju, gdje je celijakija učestalo dijagnosticira (12). Visoka prevalencija celijakije, od 2-3%, zabilježena je u Finskoj i Švedskoj, dok je u Njemačkoj 0,2%, iako ta područja dijele sličnu distribuciju uzročnih faktora (razina unosa glutena i učestalost prisustva HLA DQ2/DQ8) (13, 14). Povećanje incidencije od 6,4 puta zabilježeno je u Škotskoj u periodu od 1990-2009. U porastu su bili klasični slučajevi celijakije, što ukazuje na porast incidencije u pedijatrijskoj dobi (15). Ukupna prevalencija celijakije u porastu je i u zapadnim zemljama. Nedavna SAD studija je pokazala da je prevalencija celijakije od samo 0,2% u 1975. godini porasla 5 puta tijekom sljedećih 25 godina (16). Dostupni podatci pokazuju da je incidencija celijakije u porastu (12).

1.1.2. Patogeneza celijakije

Celijakija nastaje kao posljedica aktivacije stanične i humoralne imunosti kod genetski predisponiranih osoba nakon izlaganja glutenu, kao što je već spomenuto (2). Nasljeđuje se poligeno, interakcijom više lokusa i okolišnih čimbenika. U nasljedstvu celijakije HLA geni pridonose 40%, a preostalih 60% pridonosi nekoliko ili više gene izvan HLA sustava (17).

Stanična imunost ima važnu ulogu u patogenezi celijakije. U sluznici tankog crijeva osoba s celijakijom nalazi se povećan broj T limfocita u lamini propriji i intraepitelno. Većina intraepitelijalnih limfocita nosi marker CD8+ i zato predstavljaju citotoksično/supersorsku subpopulaciju. Čini se da ti limfociti nisu uzrok patoloških promjena sluznice, ali njihova uloga za sada nije razjašnjena. Glavna patogenska uloga u nastanku lezije sluznice pridaje se limfocitima T lamine proprije (18). Gluten nakon ulaska u crijevnu sluznicu hvataju antigen prezentirajuće stanice koje posjeduju HLA DQ2/DQ8 markere. Prikazuju ga pomoćničkim limfocitima T (CD4+) lamine proprije koji stvaraju proinflamatorne citokine (2). Citokini koje otpuštaju Th2 stanice pokreću aktivaciju i klonalnu ekspanziju B-stanica, koje stvaraju protutijela. Drugi dio citokina, koje otpuštaju Th1 stanice, posreduju u različitim upalnim mehanizmima (19). Interferon gama – INF-γ i tumor nekrotizirajući faktor – TNF su najodgovorniji za lezije sluznice svojstvene celijakiji (2). Također, čini se da postoji i aktivacija prirođenog, nespecifičnog, imunološkog odgovora koji uključuje intraepitelne CD8+ T stanice (20).

Za patogenezu celijakije važna je i humoralna imunost. Za vrijeme aktivne bolesti, u velike većine bolesnika, mogu se dokazati protutijela klase IgA i IgG na glijadin. IgA antiglijadinska protutijela su dimeri, što ukazuje na sluzničko podrijetlo. Smatra se da nastaju kao posljedica nespecifičnog odgovora sluznice nakon oštećenja crijevnog epitela. Kroz oštećeni crijevni epitel prolaze neprobavljeni proteini te uzrokuju stvaranje protutijela. Osim antiglijadinskih protutijela, u serumu bolesnika s celijakijom, mogu se pronaći i endomizijska i antiretikulinska protutijela. Endomizijska protutijela (EMA) nastaju kao posljedica reagiranja na autoantigen - tkivnu transglutaminazu (tTG) (2, 18). Tkivna transglutaminaza je skupina srodnih enzima koji mogu hidrolizirati amidne grupe glutamina na nekoliko mjesta, mijenjajući time njegovu strukturu te se vezati u stabilni kompleks s deaminiranim glijadinom. Selektivno hidroliziran i negativno nabijen glijadinski peptid ima puno veći afinitet za HLA DQ2 i DQ8 molekule i na taj način postaje moćni aktivator T stanica, što je važan korak u imunološkom odgovoru, kod osoba s celijakijom (21). Osim navedenih postoje i specifična anti-tTG protutijela. Za nastanak anti-tTG protutijela često je potrebno više godina te nastaju u crijevnoj sluznici samo u prisustvu glutena, što je razlog njihovog nepostojanja u pojedinih bolesnika (2, 18).

1.1.3. Klinička slika celijakije

Celijakija se može javiti u bilo kojoj životnoj dobi. Najčešće se javlja u prvim godinama života te u trećem i četvrtom desetljeću (2, 18). Bolest se manifestira različitim formama kliničke slike zbog genetske i imunološke podloge bolesti, opsega ozljede sluznice, pacijentovih prehrambenih navika, spola i dobi početka (22). Lezije zahvaćaju isključivo sluznicu i najčešće se nalaze u gornjim dijelovima tankog crijeva (dvanaesnik, jejunum). Gluten je bjelančevina koja je u crijevima izložena djelovanju proteolitičkih enzima. Hidrolizirani gulten ne može uzrokovati lezije sluznice. Ako gluten izbjegne hidrolizu i ostane nepromijenjen, promjene se mogu pojaviti i u ileumu i u debelom crijevu. Težina kliničke slike ovisi o dužini zahvaćenosti tankog crijeva (2).

Klinički neprepoznata celijakija najvjerojatnije traje od prvih godina života. Pacijenti navode podatke o slabijem rastu i nejasnim proljevima u djetinjstvu te ponovnom pojavljivanju tegoba u odrasloj dobi (2).

Klasična i jasna klinička slika celijakije javlja se u malog broja bolesnika (2). Najčešći klinički simptomi kod djece su kronični proljev, bol u trbuhu i distenzija te slabo napredovanje (23).

Bolesnici se mogu prezentirati i atipičnim, nejasnim i povremenim smetnjama kao što su dispeptične smetnje, recidivirajuće povraćanje, afte u usnoj šupljini, recidivirajući pankreatitis, defekti zubne cakline i nejasno povišenje transaminaza (2, 18). Kod djece s atipičnom formom bolesti najčešći simptomi su ponavljajuća bol u trbuhu i distenzija, slabo napredovanje i niski rast (23).

Kod djece s tihom formom celijakije nema karakterističnih simptoma. U pojedinaca se mogu javiti bol u trbuhu, niski rast i zatvor (23).

Određeni broj pacijenata je bez simptoma (24).

Posebna kategorija je latentna glutenska enteropatija gdje bolesnici imaju normalan nalaz biopsije crijevne sluznice na prehrani s glutenom, da bi se nakon određenog vremena našle promjene crijevne sluznice svojstvene celijakiji koje bi se popravile na bezglutensku dijetu. Najčešće zahvaća članove obitelji osobe oboljele od celijakije ili monozigotne blizance za koje se utvrdilo da imaju rizični HLA DR3/DQ2 haplotip (18).

Celijakija je jedan od najčešćih uzroka kronične malapsorpcije (25). Malapsorpcija nastaje kao posljedica ozljede tankog crijeva s gubitkom apsorpcijske površine i smanjenjem količine probavnih enzima te posljedično poremećene apsorpcije mikronutrijenata (26). Glavni simptom je proljev. Proljev je kroničan ili intermitentan s učestalim, obilnim, smrdljivim, masnim, pjenušavim stolicama te nerazgrađenim ostatcima hrane. U određenog broja pacijenata može biti prisutna kronična opstipacija. Gubitkom hranjivih tvari dolazi do mršavljenja i usporenog rasta i razvoja kod djece. Apetit varira od anoreksije do stalne potrebe za hranom (2, 18).

Ostali simptomi nastaju kao posljedica malapsorpcije. Anemija se može javiti zbog poremećene apsorpcije željeza, folne kiseline, ali i vitamina B12 ako je zahvaćen ileum. Zbog poremećene apsorpcije vitamina K može doći do krvarenja s produljenim protrombinskim vremenom. Može se javiti i hiposplenizam s trombocitozom. Poremećena apsorpcija kalcija,

magnezija i vitamina topivih u mastima, kod djece, uzrokuje pojavu rahitisa, a kod odraslih pojavu osteomalacije i osteoporoze. Najčešći simptom ovih promjena je bol u kostima, iako može doći i do patoloških fraktura. Od psihičkih poremećaja može se javiti depresija i iritabilnost, a od neuroloških ataksija, mišićna slabost, periferna neuropatija i epilepsija (s parijeto-okcipitalnim kalcifikacijama) (2, 18).

Drugi mogući simptomi izvan probavnog sustava su abnormalni testovi jetrene funkcije te kožni poremećaji, kao što su dermatitis herpetiformis, svrbeža i osip s kožnim IgA depozitima (27, 28). Opisani su i slučajevi pojave amenoreje, infertilnosti, čestih spontanih pobačaja kod žena i infertilnosti i hipogonadizma kod muškaraca (2, 18).

U fizikalnom nalazu, kod klasične kliničke slike, može se uočiti pothranjenost s gubitkom mišićnog i masnog tikiva. Kao posljedica gubitka vode i elektrolita može doći do hipotenzija, a gubitak proteina može uzrokovati edeme na donjim udovima i ascites. Koža je blijeda kao posljedica anemije. Gubitak vitamina i minerala može uzrokovati folikularnu hiperkeratozu i ekhimoze. Gubitak kalcija i pojačana neuromuskularna podražljivosti mogu uzrokovati pozitivan Chvostekov i Trousseauov znak. U usnoj šupljini se mogu naći defekti zubne cakline, glositis te eritemi i ragade oko usana. U većine pacijenata trbuh je distendiran s naglašenim timpanizmom za vrijeme perkusije (18).

1.1.4. Dijagnoza celijakije

1.1.4.1. Diferencijalna dijagnoza celijakije

Celijakija je bolest koja se može prezentirati raznolikim kliničkim slikama, kao što je već spomenuto, što otežava dijagnozu. Na prvom mjestu važno je utvrditi da li postoji malapsorpcija te je li riječ o enteropatiji ili o poremećaju intraluminalne digestije. Malapsorpcijom se mogu prezentirati Whippleova i Crohnova bolest, primarne crijevne limfangiektazije, autoimuna enteropatija s pozitivnim antieritrocitnim protutijelima, Zollinger-Ellisonov sindrom. Najčešći poremećaji koji mogu uzrokovati slične lezije sluznice tankog crijeva koje nalazimo kod celijakije su primarni poremećaji imuniteta, difuzni limfom tankog crijeva, tropska sprue, eozinofilni gastroenteritis, primarni poremećaj motaliteta crijeva. Kod djece moramo misliti i na kronične enteropatije koje mogu nastati zbog

alergijskog nepodnošenja proteina kravljeg mlijeka i soje, infekcije s Gardijom lamblijom te primarne intolerancije disaharida (2, 18).

1.1.4.2. Dijagnoza celijakije

Rana dijagnoza i stroga bezglutenska dijete štite od komplikacija i smanjuju smrtnost pacijenata s celijakijom, stoga je od iznimne važnosti postaviti definitivnu dijagnozu (29, 30). Prvi dijagnostički kriteriji za celijakiju, kod djece, predlaže ESPGHAN (engl. - *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition - ESPGHAN*). Prema njihovim kriterijima, dijagnoza celijakije se postavlja na temelju slijeda triju biopsija. U prvoj biopsiji potrebno je dokazati strukturno promjenjenu sluznicu jejunuma svojstvenu celijakiji, jasno poboljšanje sluznice na bezglutensku dijetu, kod druge biopsije, te pogoršanje sluznice kada je pacijentu ponovo uveden gluten u prehranu, što ćemo dokazati trećom biopsijom (31). Slijed od tri biopsije se preporučuje u djece mlađe od dvije godine jer promjene sluznice tankog crijeva, u smislu subtotalne ili totalne vilozne atrofije, nisu svojstvene samo celijakiji, već se mogu pronaći i nakon virusnih enteritisa, kod enteropatije zbog nepodnošenja kravljeg mlijeka, u primarnim imunodeficijencijama te kod kroničnih proljeva drugih uzroka, kao što je već spomenuto u prethodnog odlomku. Kod djece starije od dvije godine histološki nalaz atrofije sluznice tankog crijeva rijetko je uzrokovan drugim stanjima. Zato se dijagnoza celijakije u djece starije od dvije godine postavlja na temelju revidiranih ESPGHAN-ovih kriterija koji uključuju prisustvo tipične kliničke slike i histološkog nalaza prve biopsije karakterističnog za celijakiju te potpune kliničke remisije nakon uvođenja bezglutenske dijete i negativizacije seroloških nalaza (21).

1.1.4.2.1. Laboratorijske pretrage

U dijagnostici celijakije koristimo se laboratorijskim pretragama koje će nas uputiti na postojanje malapsorpcije. Laboratorijski nalazi koje se mogu naći kod celijakije su anemija (mikrocitna ili makrocitna), deformirani eritrociti (kod hiposplenizma), trombocitoza, produljeno protrombinsko vrijeme (vit.K), metabolička acidoza (zbog proljeva), snižene vrijednosti natrija, kalija, klorida, magnezija, kalcija, fosfora i cinka, hipoalbuminemija,

povišene vrijednosti transaminaza. Stolica su makroskopski masne, blijede, pjenušave, a mikroskopski se u stolici mogu dokazati neprobavljena mišićna vlakna i kapljice masti (18).

1.1.4.2.2. Testovi apsorpcije

Testovi apsorpcije su korisni u razlikovanju intraluminalnih poremećaja digestije. Pomažu nam razlikovati poremećaje nastale zbog smanjenje apsortivne površine od poremećaja nastalih zbog primarnog nedostatka enzima. Najčešće se koristi pokus opterećenja ksilozom i monosaharid-disaharid apsorpcijski test (18). D-ksiloza je pentoza koja se apsorbira nepromijenjeno putem tankog crijeva (32). Pokazatelj je veličine apsorpcijske površine (18). Test uključuje mjerenje serumske ksiloze ili mjerenje ksiloze izlučene u urinu, nakon oralnog opterećenja. Test je abnormalan kod pacijenata s malapsorpcijom zbog oštećenja sluznice, ali je uredan kod pacijenata s malapsorpcijom izazvanom od strane gušteraće (33). Osjetljivost (manja od 65%) i specifičnost (manja od 74%) testa, bilo da se uzorak plazme uzima nakon jednog sata ili da se urin sakuplja četiri sata, su manje od vrijednosti koje dobivamo pomoću IgA-tTG ili IgA-EMA, zato je preciznost testa suboptimalna za dijagnozu celijakije (34, 35). U zdravom crijevu bolje se asporbiraju monosaharidi od disaharida. Prilikom oštećenja crijevna stijenka postaje propusnija za disaharide, a kod smanjene apsorpcijske površine smanjuje se apsorpcija monosaharida. Rezultate monosaharid-disaharid apsorpcijskog testa dobivamo iz uzorka urina u kojem mjerimo koncentraciju istoimenih tvari. Osjetljivost i specifičnost apsorpcijskih testova uvelike zaostaje za suvremenim serološkim testovima (18).

Pokusom opterećenja laktozom ili mjerenjem vodika u izdahnutom zraku možemo odrediti aktivnost enzima laktaze. Njegova aktivnost može biti smanjena kao posljedica smanjenja površine tankog crijeva i oštećenja četkaste prevlake. Test se izvodi tako da pacijenta opteretimo s 2g/kg TT laktoze. Kod zdravih osoba tijekom prvog sata koncentracija glukoze će porasti za minimalno 1,7 mmol/L u krvi. Također, možemo mjeriti koncentraciju vodika u izdahnutom zraku jer njegova koncentracija ovisi o intenzitetu malapsorpcije laktoze. Što je veći intenzitet malapsorpcije laktoze, količina vodika u izdahnutom zraku će biti veća (18).

1.1.4.2.3. Određivanje protutijela i biopsija sluznice tankog crijeva

Važnu ulogu u dijagnostici celijakije ima određivanje protutijela. Protutijela se određuju u svrhu probira pacijenata za biopsiju crijevne sluznice i u svrhu praćenja pridržavanja bezglutenske dijete oboljelih. Protutijela koja se određuju su IgG i IgA antiglijadinska protutijela, endomizijska i protutijela na tkivnu transglutaminazu. Visoko osjetljiva i pozitivna u više od 90% pacijenata s celijakijom su IgG antiglijadinska protutijela. Mana im je što se mogu pronaći i u serumu bolesnika s drugim probavnim poremećajima (Crohnova bolest, alergijske enteropatije) zbog čega im je specifičnost niska. Veću specifičnost, ali manju osjetljivost imaju IgA protutijela, koja se u manjoj mjeri pronalaze kod bolesnika s drugim probavnim poremećajima. Zato se u kombinaciji s IgG protutijelima, određuju i IgA protutijela. Autoprotutijela koja imaju visoku specifičnost su endomizijska i protutijela na tkivnu transglutaminazu. Postaju negativna u periodu od šest mjeseci nakon uvođenja bezglutenske dijete. IgA antiglijadinska protutijela se normaliziraju za par mjeseci, a IgG mogu prezistirati u smanjenom titru. Negativna endomizijska protutijela ne isključuju postojanje celijakije. Mogu se pojaviti i nakon nekoliko godina trajanja bolesti. Kod određenog broja pacijenata s celijakijom prisutan je prirođeni nedostatak IgA. Kod tih pacijenata negativna će biti endomizijska i IgA antiglijadinska protutijela. Zbog toga je svim pacijentima koji imaju negativna IgA protutijela i visoki titar IgG protutijela potrebno odrediti ukupni IgA u serumu (18).

Pozitivni rezultati serološkog ispitivanja trebaju biti potvrđeni biopsijom tankog crijeva (36). U 2012. godini, ESPGHAN je predložilo da biopsija neće biti potrebno u djece sa sljedeće tri karakteristike: prisustvo klasičnih crijevnih simptoma celijakije, razina IgA-tTG deset puta veća od normalne i pozitivan HLA DQ2 (1). Međutim, ako dijete ima manju vrijednost protutijela i/ili je mlađe od 18 mjeseci dodatne pretrage markera iz krvi, koje govore u prilog celijakiji, mogle bi biti korisne za dijagnozu u ovakvim slučajevima. U jednoj studiji su identificirana tri potencijalna krvna markera za potvrdu dijagnoze celijakije: CXCL11 protein, TNFRSF9 mRNA i TNFSF13B mRNA. Za potvrdu njihovog dijagnostičkog značaj potrebna su dodatna istraživanja (37). U djece, mlađe od dvije godine, mogla bi se izbjeći druga i treća biopsija, ako za vrijeme kliničke prezentacije bolesti imaju pozitivna endomizijska protutijela i Marsh IIIc (Tablica 1) stadij biopsije sluznice tankog crijeva (38).

Prilikom biopsije sluznice tankog crijeva uzimaju se 2 do 3 uzorka iz distalnog dijela dvanaesnika ili početkog dijela jejunuma. Uzorci sluznice se mogu uzeti peroralnom sukcijskom biopsijom ili za vrijeme endoskopske pretrage (18). Histološki nalaz bioptata se standardizira prema Marshovim kriterijima (Tablica 1) (21). Nalazi biopsije karakteristični za celijakiju uključuju povećan broj intraepitelijalnih limfocita (> 25 na 100 enterocita), produljenje kripti i djelomičnu do potpunu atrofiju crijevnih resica (36).

Tablica 1. Marsh-Oberhuber klasifikacija histoloških nalaza biopsije sluznice tankog crijeva kod celijakije (21)

Stupnjevi lezije sluznice tankog crijeva
Stupanj 0: Preinfiltrativna lezija
Stupanj 1: Infiltrativna lezija – normalna arhitektura sluznice, ali povećani broj IEL (>25/100 enterocita)
Stupanj 2: Hiperplastična lezija – povećani broj IEL, povećana dubina kripti, ali normalna visina resica
Stupanj 3: Destruktivna lezija – atrofija resica (A blaga ili parcijalna, B subtotalna, C totalna), hipertrofija kripti

IEL – intraepitelijalni limfociti

1.1.4.2.4. Radiološko snimanje i određivanje HLA haplotipova

Na radiološkoj snimci se mogu vidjeti znakovi malapsorpcije, kao patološko nakupljanje barijevog kontrasta u obliku folikula i dilatacija crijeva, koji su nespecifični te se mogu vidjeti i kod osoba s normalnom količinom masti u stolici (39). U gotovo svih pacijenata s celijakijom su prisutni HLA DQ2 (oko 95%) i HLA DQ8 (oko 5%) (40, 41). Mala je vjerovatnost za dijagnozu celijakije ako su negativni testovi za oba HLA DQ haplotipa (42). HLA DQ2 i DQ8 testiranje se ne smije rutinski koristiti za dokazivanje radne dijagnoze celijakije (43). Testiranje je korisno za isključivanje celijakije kod pacijenata s nepouzdanim histološkim nalazom biopsije sluznice tankog crijeva kod seronegativnih pacijenata i za procjenu pacijenata kod kojih testiranje za celijakiju nije bilo napravljeno prije uvođenja bezglutenske dijete (44). Treba naglasiti da unatoč čestim pojavama ovih biljega u općoj populaciji (30-40%), samo 1-4% , od njih, razvije celijakiju (45). S druge strane,

negativna prediktivna vrijednost HLA tipizacije je visoka zbog činjenica da se nepodnošenje glutena rijetko pojavljuje u odsutnosti HLA predodređujućih alela, što je već spomenuto (46).

1.1.4.2.5. Zaključak

Dijagnoza celijakije se postavlja na osnovu karakterističnog nalaza biopsije te dobrog kliničkog odgovora na bezglutensku dijetu. Preporučuje se odmah učiniti biopsiju sluznice tankog crijeva kod osoba s klasičnom slikom celijakije. Pozitivan nalaz endomizijskih protutijela dodatno učvršćuje dijagnozu. Ako su serološke pretrage dostupne, potrebno je odrediti IgA i IgG antiglijadinska i endomizijska protutijela ili samo endomizijska uz određivanje ukupnog IgA u serumu. Bezglutenska dijeta se smije uvesti nakon učinjene biopsije ili maksimalno dva tjedna prije. Kod pacijenata koji imaju nepotpunu histološku sliku s negativnim endomizijskim protutijelima, kojima je dvojbeno kliničko poboljšanje na bezglutensku dijetu i djeci do dvije godine treba nakon minimalno dvije godine bezglutenske dijete napraviti rebiopsiju. U slučaju urednog nalaza pacijentima je potrebno uvesti gluten u prehranu kroz 4-6 mjeseci te ponovno napraviti biopsiju. Dijagnozu celijakije nam potvrđuje pogoršanje histološke slike nakon uvođenja glutena u prehranu (18).

1.1.5. Komplikacije celijakije

1.1.5.1. Maligne komplikacije celijakije

Pacijenti oboljeli od celijakije imaju veću učestalost oboljevanja od zloćudnih bolesti. Učestalost oboljevanja iznosi 3-11%. Ako se pacijent strogo pridržava bezglutenske dijete, nakon 5 godina, učestalost zloćudnih bolesti postaje jednaka kao i kod zdrave populacije. Najčešće zloćudne bolesti koje se javljaju kod pacijenata s glutenskom enteropatijom su maligni non-Hodgkinov limfom tankog crijeva (40 puta češći), karcinom jednjaka (12 puta češći), karcinom ždrijela (10 puta češći) i adenokarcinom tankog crijeva (18).

1.1.5.2. Nemaligne komplikacije celijakije

Ulcerozni jejunoileitis je kronična, nespecifična, granulomatozna upala svih slojeve stijenke tankog crijeva. Najčešće se javlja kod osoba koji boluju od celijakije duži niz godina, a može se javiti i kod male djece s nedavno otkrivenom glutenskom enteropatijom. Upala uzrokuje nastanak ulkusa koji mogu perforirat, a u okolnoj sluznici je prisutna vilusna atrofija (18).

Kolagena celijakija (kolagena sprue) je poremećaj u kojem dolazi do odlaganja kolagenih depozita u subepitelnom sloju crijevne sluznice. Bezglutenska dijeta u većine pacijenata neće uzrokovati poboljšanje (18).

Tvrdokorna celijakija (refraktorna sprue) ima svojstvenu patohistološku sliku celijakije, ali ne odgovara na terapiju bezglutenskom dijetom. Kod tih pacijenata u terapiji se mogu primjeniti steroidi, azatioprin i ciklosporin. Ako izostane odgovor na medikamentoznu terapiju potrebno je uvesti potpunu parenteralnu prehranu. Prognoza je loša u takvim slučajevima (18).

Celijakija se češće javlja kod pacijenata s prirođenim nedostatkom IgA (10 puta češće nego kod zdrave populacije), Down sindromom (16 puta češća) i autoimunim bolestima (inzulin ovisan DM, autoimuni tireoiditis, Sjogrenov sindrom) (18). HLA DQ regija je povezana s povećanim rizikom od dijabetesa tipa 1, što bi moglo objasniti povezanost celijakije s drugim autoimunim bolesti, uključujući Gravesovu bolest i reumatoidni artritis (47). Kod pacijenata koji istodobno boluju od dijabetesa tipa 1 i celijakije postoji povećani rizik za dijabetičku retinopatiju (48).

1.1.6. Liječenje celijakije

Liječenje se sastoji od eliminacije glutena iz prehrane (49). Potpuna eliminacija glutena iz prehrane nije moguća zbog kontaminacije hrane tragovima glutena (2). Točna razina ispod koje je gluten bezopasan nije poznata, no novi podatci sugeriraju da koncentracija manja od 10 mg na dan nebi trebala, u većine pacijenata, dovesti do oštećenja (50). Bezglutenska dijeta poboljšava prehrambene parametre kod djece i odralih sa

simptomatskom celijakijom te dovodi do povećanja tjelesne težine, indeksa tjelesne mase i mineralizacije kostiju (51, 52, 53). Većina pacijenata klinički reagira u roku od nekoliko tjedana. Histološko poboljšanje zaostaje za kliničkim odgovor jer zahtijeva nekoliko mjeseci do normalizacije. Preporučuje se konzultacija s dijetetičarem kojim ima iskustva i znanja o celijakiji te članstvo u udrugu oboljelih od celijakije. Namirnice koje pacijenti mogu koristiti su riža, soja, tapioka, heljda, krumpir i (čista) zob (49). Konzumacija zobi poboljšava sadržaj hranjivih tvari u prehrani osoba na bezglutenskog dijeti tako što povećava unos vlakana, vitamina B skupine, magnezija i željeza (54). Međutim, još uvijek je potreban oprez pri uvođenju zobi u prehranu osoba s celijakijom jer postoji visoka vjerojatnost da je komercijalna zob kontaminirana s glutenom iz drugih žitarica (55, 56). Kod osoba s celijakijom može se naći deficit mikronutrijenata što treba nadoknaditi. Najčešće nedostaje željezo, folna kiselina, vitamini B skupine, vitamin K, kalcij i magnezij (2). Također su zabilježeni i slučajevi deficita bakra, cinka i karnitina (57, 58, 59). Određeni deficiti mogu perzistirati čak i nakon duljeg razdoblja pridržavanja bezglutenske dijete (60, 61). Smjernice iz 2104. godine preporučuju novodijagnosticiranim bolesnicima cijepljenje protiv pneumokoka. Isto tako preporučuju mjerenje gustoće kostiju, godinu dana nakon početka bezglutenske dijete, osobama koje imaju dodatne čimbenike rizika za razvoj osteoporeoze ili su stariji od 55 godina. Bezglutenska dijeta je važna u prevenciji osteoporoze. Odrasli pacijenti bi trebali unositi najmanje 1000 mg kalcija na dan, a svim pacijentima se preporučuje da jednom godišnje naprave hematološki i biokemijski profil (62). Moguća mjesta za nove načine liječenja, koja su još uvijek u fazama ispitivanja, su peroralna enzimska terapija (prolil endopepitdaza) kojom bi se u probavnom traktu ubrzala razgradnja glutena bogatog prolinom i na taj način omogućilo bolesnicima povremeno uzimanje manjih količina glutena, inhibicija intestinalne tkivne transglutaminaze i blokiranje vezanja peptida glutena za HLA DQ2 ili HLA DQ8 molekule te citokinska terapija (21).

1.1.7. Probir na celijakiju

Istraživanja vezana uz probir na celijakiju, u različitim populacijama, su pokazala da je prevalencija bolesti mnoge veća nego što se mislilo, 1% i više, kako u SAD-u, tako i u Europi (63, 64). Prevalencija otkrivenih slučajeva je mnogo niža, kreće se od 0,02%-0,27% (65, 66). To znači da na svakog pacijenta s dijagnozom celijakije, 3-10 pacijenata ostaje neotkriveno (67). Simptomi celijakije su raznoliki, a bolest je često asimptomatska (63, 64). Očigledno je

da će bez aktivnog serološkog probira, većina pacijenata u budućnosti ostati neprepoznata. Najnoviji serološki testovi omogućuju masovan probir na celijakiju. Međutim, ne postoje dokazi koji govore u prilog povećanom riziku od limfoma tankog crijeva ili drugih komplikacija kod asimptomatskih pacijenata. Probir na celijakiju kod asimptomatskim pacijenata mogao bi čak biti i štetan. Cjeloživotnu bezglutensku dijetu nije lako održavati zbog čega se subjektivna kvakoća života može smanjiti. Također je upitno hoće li se pacijenti koji su otkriveni pute aktivnog probira pridržavati bezglutenskoj dijeti jednako kao i simptomatski. Da li je isplativ probir populacije, još nije sasvim jasno. Serološki probir bi se trebao primjeniti kod pacijenata sa suptilnim simptomima koji govore u prilog celijakiji, kao što je izolirani subklinički nedostatak željeza (67). Na celijakiju moramo misliti i kod pacijenata s osteoporozom (68), nepolodnošću (69), neurološkim simptomima ako što su ataksija, polineuropatija, epilepsija sa stražnjim moždanim kalcifikacijama (67). Današnji dokazni ne podržavaju masovan probir na celijakiju. Umjesto toga, preporučuje se redovito praćenje pacijente s povećanim rizikom od bolesti i po potrebi napraviti individualan probir (67).

1.2. HLA SUSTAV

Sustav jakih antigena tkivne podudarnosti je određen nizom gena koji su smješteni na 6. kromosomu. Geni nose naziv MHC (engl. - *major histocompatibility complex - MHC*), a njihov produkt su molekule MHC. Kod ljudi je istoimeni sustav najprije otkriven na leukocitima zbog čega nosi naziv humani leukocitni antigen (engl. - *human leukocyte antigens - HLA*). Sastoji se od triju skupina gena. Skupine I. i II. sadrže gene koji kodiraju molekule koje imaju ključnu ulogu u preradi i predočavanju antigena staničnim receptorima na T limfocitima. Molekula MHC I skupine se sastoje od dvaju polipeptidinh lanaca: α-lanca kojeg određuju geni MHC i β-lanca kojeg određuju geni na 15. kromosomu. Glavna fukncija MHC molekule je da veže dijelove prerađenih tuđih antigena, čime tvori kompleks kojeg prepoznaju limfociti T. Citotoksični limfociti prepoznaju antigen te eksprimiraju CD8+ molekulu koja ima vezno mjesto u sklopu MHC I molekule. Klasa II MHC molekula se sastoje od dvaju međusobno sličnih, nekovalentno vezanih lanaca, α i β. Na β2 podjedinicu MHC II molekule se veže CD4+ molekula koja se nalazi na pomagačkom limfocitu T. Geni MHC-I su A, B, C, a geni MHC-II su DP, DQ, DR. Skupina III. sadrži gene koji određuju komponente

komplementa C2, C4A, C4B i faktor B te gene za proteine toplinskog šoka i neke citokine (70).

MHC geni imaju važnost pri presađivanju tkiva i organa, pri identifikaciji osoba, u antropološkim istraživanjima, pri isključivanju očinstva te u povezanosti s pojavom određenih bolesti (70).

Postojanje određenog alela HLA kod nosioca povećava vjerojatnost za pojavu određene bolesti. Bolesti između kojih postoji povezanost s nekim alelima HLA su: ankilozirajući spondilitis (B27), šećerna bolest ovisna o inzulinu (DR3, DR4, DR3/4), miastenija gravis (DR3), Goodpastureov sindrom (DR2), multipla skleroza (DR2), autoimuna hipertireoza (DR3), sistemni eritematozni lupus (DR3) i mnoge druge (70).

Humani leukocitni antigen je jedan od glavnih čimbenika u patogenezi celijakije. Smješten je na kromosomu 6p21 te sadrži stotine gena s imunološkom funkcijom. Prisustvo DQA1*05 i DQB1*02 osjetljivih alela podrazumijeva formiranje α i β lanaca HLA DQ2 heterodimera koji je prisutan u oko 90-95% osoba s celijakijom. Ova molekula pokazuje visoki afinitet za peptide koji su rezultat nepotpune glutenske probave te ih veže i prezentira antigen specifičnim T stanicama, izazivajući crijevnu upalu istovjetnu celijakiji. U većini slučajeva, DQA1*05 i DQB1*02 su kodirani u istom kromosomu (DQ2.5 cis) i pojavljuju se u jakoj povezanoj ravnoteži s DRB1*0301 (71). Ovaj alel je prvi povezan s rizikom za celijakiju (72). Aleli DQA1*05, DQB1*02 i DRB1*0301 mogu biti prisutni u dvije različite haplo-specifične forme i tvore takozvani AH *(*engl. - *ancestral haplotypes - AH)* 8.1 i AH 18.2, koji se mogu pronaći u nespecifični alelnim kombinacijama koje čine manje učestale haplotipove. DRB1*0301 alel, a time i DRB1*0301 haplotipovi bili su povezani sa velikim brojem imunoloških poremećaja, kao što su dijabetes tipa 1, multipla skleroza ili izolirani IgA nedostatak. Prema broju DQA1*05 i DQB1*02 alela, pojedinci se mogu svrstati u visoki ili srednji rizika za oboljevanje od celijakije. Homozigoti za DQ2.5 cis i heterozigoti za DQ2.5 cis s kromosomom čiji je drugi alel DQB1*02 (DQ2.2) imaju najveći rizik za razvoj celijakije. Heterozigoti za DQ2.5 cis u pojedinaca s jednom kopijom DQB1*02 (ne-DQ2.2) ili prisustvom DQ2.5 trans, imaju srednji rizik za razvoj bolesti. Osim utjecaja molekule DQ2.5, odavno je poznat i utjecaj molekule HLA DQ8, koja je prisutna u gotovo svih pacijenata s celijakijom koji ne nose DQ2.5. Međutim, genetski utjecaj HLA regije, kod celijakije, nije samo ograničen na faktore koji kodiraju DQ2 ili DQ8. Posljednjih godina došlo je do

iznimnog rasta u razumijevanju genetske podloge celijakije, pogotovo razvojem GWAS-a *(*engl. - *genome wide association studies - GWAS)*, ali njihovi radovi nisu donijeli nove informacije o HLA regiji jer su uglavnom bili usmjereni na utjecaj gena izvan ove regije (71).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Istražiti povezanost biljega rs2187668 s pojavom celijakije i drugih bolesti udruženih u fenotip celijakije.

3. MATERIJALI I METODE

Ovo istraživanje provedeno je u sklopu istraživačkog projekta 10,001 Dalmatinac, na temelju ispitanika koji su u istraživanje uključeni na području otoka Korčule. Ispitanici su pozivani putem sredstava javnog informiranja ili pismenim pozivima, na način da je stvaran prikladan uzorak odraslih osoba starijih od 18 godina. Nakon informiranja o ciljevima i rizicima istraživanja, ispitanici su potpisali informirani pristanak, a zatim pristupili većem broju mjerenja i uzimanju uzorka krvi za biokemijska i genetska testiranja.

Ispitanici su sve rezultate kliničkih mjerenja dobili odmah po provedbi pregleda, a putem pošte su im poslani rezultati biokemijskih pretraga.

Podatci o celijakiji i drugim bolestima dobiveni su izravno od ispitanika ili uvidom u njihovu medicinsku dokumentaciju, a za potrebe ovog rada su uz te korišteni još i pokazatelji upale i pokazatelji koji mogu biti povezani s upalnim stanjima, koji su uključivali c-reaktivni protein, fibrinogen, aktivator plazminogena (tPA) i d-dimer. Svi pokazatelji mjereni su u laboratoriju za analizu krvnih pokazatelja na Sveučilištu u Glasgowu, Velika Britanija.

U genotipizaciji ispitanika korišten je cjelogenomski panel HumanHap 300 (v1), s 317.058 biljega. Od cijelog seta biljega odabran je samo jedan koji je do sada bio povezan s pojavom celijakije i drugih autoimunih bolesti.

U statističkoj analizi korišteni su prosjek i standardna devijacija za prikaz numeričkih podataka ili ukupan broj i postotak za kategorijske. Korišteni su t-test i Fisherov egzaktni test, jer je često ustanovljen mali broj slučajeva u pojedinim tablicama kontingencije. Analiza je provedena korištenjem paketa R (www.r-project.org)., s razinom značajnosti postavljenom na $P<0,05$.

4. REZULTATI

Ovim istraživanjem obuhvaćeno je ukupno 940 ispitanika s Korčule. U uzorku je bilo ukupno 606 žena (64,5%) i 334 muškaraca (35,5%), prosječne dobi 57,66±14,42 za muškarce i 55,49±13,95, što je bila statistički značajna razlika (P=0,023).

Rezultati genotipizacije biljega rs2187668 pokazali su da je od ukupnog broja ispitanika njih 771 (82,0%) bilo homozigota kod kojih nije bio očekivano povećani rizik za pojavu bolesti (genotip GG; Tablica 2). Kod 162 ispitanika pronađen je heterozigotni genotip (17,2%), dok je kod 7 ispitanika pronađen genotip očekivano povećanog rizika (0,7%; Tablica 2).

U uzorku je zabilježen jedan slučaj celijakije, koji je bio heterozigot. Zabilježena je češća pojava raznih oblika autoimunih bolesti povezanih s alelom A (Tablica 2). Međutim, zbog malog broja ispitanika s AA genotipom detaljnija analiza nije bila moguća. Nije zabilježena češća pojava raznih problema vezanih uz probavni sustav (Chronova bolest ili kolitis), ali je jedan zabilježeni slučaj Addisonove bolesti pripadao u AA genotip, visokog rizika za pojavu raznih autoimunih bolesti (Tablica 2).

Niti jedan od analiziranih biokemijskih pokazatelja nije imao statistički značajnu razliku među tri ispitivane skupine, unatoč osjetnim razlikama u prosjecima, posebno za c-reaktivni protein (Tablica 2).

Tablica 2. Usporedba tri skupine ispitanika ovisno o genotipu biljega rs2187668

Bolest ili pokazatelj	Homozigoti (GG) N=771	Heterozigoti (AG) N=162	Homozigoti (AA) N=7	P
Celijakija; n (%)	0 (0)	1 (0,6)	0 (0)	0,172
Autoimune bolesti; n (%)	53 (6,9)	9 (5,6)	1 (14,3)	0,038
Razni gastrointestinalni problemi; n (%)	23 (3,0)	7 (4,3)	0 (0)	0,097
Addisonova bolest; n (%)	0 (0)	0 (0)	1 (14,3)	0,007
Fibrinogen (g/L); prosjek±SD	3,53±0,77	3,68±0,83	3,73±0,96	0,075
d-dimer (ng/L); prosjek±SD	243,32±166,31	266,35±183,67	305,43±167,06	0,311
vWF (IU/dL); prosjek±SD	135,15±42,96	135,85±46,73	170,14±53,25	0,093
tPA (ng/mL); prosjek±SD	5,76±2,17	6,03±3,01	5,33±0,74	0,248
CRP (mg/L); prosjek±SD	2,55±5,3	2,8±3,38	3,55±6,84	0,741

5. RASPRAVA

Najveći rizični genotip među bijelcima sjevernoeuropskog podrijetla je DR3/DR4, dok je kod južnoeuropske populacije značajno povećana učestalost HLA-DRB1 *0301 (73).

U ovom istraživanju htjeli smo ispitati povezanost genetskog biljega (rs2187668) s pojavom celijakije i drugih bolesti udruženih u fenotip celijakije. Jaka povezanost genetskog biljega rs2187668 i celijakije dokazana je i u istraživanjima drugih studija (74).

Genetsko testiranje je od velike važnosti radi prepoznavanja novorođenčadi s rizikom za razvoj celijakije. Tu je novorođenčad potrebno kontinuirano pratiti te ponavljano određivati protutijela i po potrebi napraviti ranu biopsiju. Cilj je postavljanje rane dijagnoze i rani početak liječenja s bezglutenskom dijetom koja će spriječiti razvoj težeg fenotipa bolesti i drugih imunološki posredovanih stanja (75).

Uspoređujući tri skupine ispitanika, ovisno o genotipu biljega rs2187668, s postojanjem autoimunih bolesti, nalazimo statistički značajnu pozitivnu korelaciju biljega rs2187668 i autoimunih bolesti (P=0,038), što je sukladno istraživanjima drugih studija (76).

U ovom istraživanju, među ispitanicama, pronađen je samo jedan slučaj celijakije. Ispitanik s celijakijom imao je heterozigotan genotip. Razlog malom broju dijagnosticiranja celijakije bi se mogao prepisati malom broju ispitanika s homozigotnim (AA) genotipom koji ima visoki rizik za pojavu autoimunih bolesti. Bilo bi dobro svim homozigotnim (AA) genotipovima napraviti probir na celijakiju određivanjem razine anti-tTG-a ili nekog drugom parametra. Također, pronađen je i ispitanik s Addisonovom bolesti koji je imao homozigotni (AA) genotip.

Od dobivenih rezultata zanimljiva je činjenica da se Addisonova bolest, kod visoko rizičnog genotipa (AA), javlja u 14,3% ispitanika, što dokazuje statistički značajnu povezanost biljeg u predviđanju autoimunih bolesti (P=0,007).

Uspoređujući biokemijske parametre između homozigota (GG), heterozigota (AG) i homozigota (AA), nije nađena statistički značajna razlika zbog malog uzorka. Najveće vrijednosti biokemijskih parametara nađene su kod homozigotnih (AA) ispitanika, posebice c-reaktivni protein, što nam govori da je očito mehanizam upale drugačiji kod ti ljudi. Jedino je biokemijski parametar tPA bio najveći kod heterozigotnih ispitanika.

Do sadašnja istraživanja o povezanosti biljega rs2187668 s pojavom celijakije i drugih bolesti udruženih u fenotip celijakije su malobrojna.

Glavni problem ovog istraživanje je bio mali broj ispitanika, što ostavlja prostora za daljnja istraživanja.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih, u ovom istraživanju, možemo zaključiti:

1. Postoji statistički značajna pozitivna korelacija između biljega rs2187668 i autoimunih bolesti.

2. Postoji statistički značajna povezanosti između biljega rs2187668 homozigotnog (AA) genotipa i Addisonove bolesti.

3. Povezanost između triju skupina ispitanika s biokemijskim parametrima nije utvrđena, iako su najveće vrijednosti biokemijskih parametara pronađene kod homozigotnih (AA) ispitanika, što nam govori da je očito mehanizam upale drugačiji kod tih ljudi.

4. Nije dokazana statistički značajna povezanost između biljega rs2187668 i celijakije, ali je preporuka da se svim homozigotnim (AA) genotipovima napravi probir na celijakiju.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo S, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012;54:136–60.
2. Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, et al., Intrena medicina, četvrto izdanje, Zagreb: Naklada Ljevak; 2008. str. 738-41.
3. Fasano A, Araya M, Bhatnagar S, et al. Celiac Disease Working Group, FISPGHAN. Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition consensus report on celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2008;47:214–9.
4. Rubio-Tapia A , Van Dyke CT , Lahr BD, et al. Predictors of family risk for celiac disease: a population-based study . Clin Gastroenterol Hepatol 2008;6:983–7.
5. Hill ID, Dirks MH, Liptath GS: 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 Gatroenterol Nutr 2005,40,1–19.
6. AGA Institute Medical Position Statment on the Diagnosis and Managament of celiac Disease. Gastroenterology 2006, 131, 1977–80.
7. Rewers M: Epidemiology of coeliac disease: what are the prevalence incidence and progression of celiac disease? Gastroenterology 2005, 128 (apr.) suppl. 1, s47–s51.
8. Riddle MS, Murray JA, Porter CK. The incidence and risk of celiac disease in a healthy US adult population. Am J Gastroenterol. 2012;107:1248-55.
9. Decker E, Engelmann G, Findeisen A, Gerner P, Laass M, Ney D, Posovszky C, Hoy L, Hornef MW: Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. Pediatrics 2010, 125, 1433–40.
10. Mårild K, Stephansson O, Montgomery S, Murray JA, Ludvigsson JF: Pregnancy outcome and risk of celiac disease in offspring: a nationwide case-control study. Gastroenterology 2012, 142, 39–45.
11. Lebwohl B, Ludvigsson JF, Green PH. The unfolding story of celiac disease risk factors. Clin Gastroenterol Hepatol 2014;12: 632-5.
12. Catassi C, Gatti S, Fasano A. The new epidemiology of celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr [Internet]. 2014;59 Suppl 1(July):S7–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24979197

13. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. Ann Med 2010;42:587–95.
14. Ivarsson A, Myle´us A, Norstro¨m F, et al. Prevalence of childhood celiac disease and changes in infant feeding. Pediatrics 2013;131:e687–94.
15. White LE, Merrick VM, Bannerman E, et al. The rising incidence of Celiac Disease in Scotland. Pediatrics 2013;132:e924–31.
16. Catassi C, Kryszak D, Bhatti B, et al. Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974. Ann Med 2010;42:530–8.
17. van Heel DA, Hunt K, Greco L, Wijmenga C. Genetics in coeliac disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005;19(3):323-39.
18. Kolaček S. Celijakija. U: Vucelić B i sur. Gastroenterologija i hepatologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2002;561-73.
19. Alaedini A, Green PH. Narrative Review: Celiac Disease: Understanding a Complex Autoimmune Disorder. Ann Intern Med 2005;142:289-98.
20. Diosdado B, Wijmenga C. Molecular mechanisms of the adaptive, innate and regulatory immune responses in the intestinal mucosa of celiac disease patients. Expert Rev Mol Diagn 2005;5(5):681-700.
21. Mišak Z, Kolaček S, Percl M. Celijakija – bolest na koju treba misliti, Medix, Studeni 2007; god. XIII, broj 72:157-61.
22. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. BMCMed. 2012;10:13.
23. Iwańczak B, Matusewicz K, Iwańczak F. Clinical picture of classical, atypical and silent celiac disease in children and adolescents. Adv Clin Exp Med. 2013;22(5):667–73.
24. Pietzak M. Celiac disease, wheat allergy, and gluten sensitivity: when gluten free is not a fad. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2012;36(1 suppl):68S-75S.
25. Di Sabatino A , Corazza GR . Coeliac disease . Lancet 2009 ;373:1480–93.
26. Reilly NR , Fasano A , Green PH . Presentation of celiac disease . Gastrointest Endosc Clin N Am 2012;22:613–21.
27. Fasano A, Catassi C. Clinical practice. Celiac disease. N Engl J Med. 2012;367:2419-26.
28. Gujral N, Freeman HJ, Thomson Ab. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. World J Gastroenterol. 2012;18:6036-59.

29. Biagi F, Corazza GR. Mortality in celiac disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2010;7:158–62.
30. Rashid M, MacDonald A. Importance of duodenal bulb biopsies in children for diagnosis of celiac disease in clinical practice. BMC Gastroenterol 2009;9:78.
31. Meuwisse GW. Diagnostic criteria in coeliac disease. Acta Paediatr Scand 1970;59:461.
32. Fordtran JS , Soergel KH , Ingelfi nger FJ . Intestinal absorption of D-xylose in man . N Engl J Med 1962;267:274–9 .
33. Craig RM , Ehrenpreis ED . D-xylose testing . J Clin Gastroenterol 1999;29:143–50.
34. Tveito K, Brunborg C, Bratlie J, et al. Intestinal malabsorption of D-xylose: comparison of test modalities in patients with celiac disease. Scand J Gastroenterol 2010;45:1289–94.
35. Carroccio A, Iacono G, Montalto G, et al. Immunologic and absorptive tests in celiac disease: can they replace intestinal biopsies? Scand J Gastroenterol 1993;28:673–6.
36. Green PH, Cellier C. Celiac disease. N Engl J Med. 2007;357:1731-43.
37. Bragde H, Jansson U, Fredrikson M, Grodzinsky E, Söderman J. Potential blood-based markers of celiac disease. 2014;1–9.
38. Mišak Z, Hojsak I, Jadrešin O, Kekez AJ, Abdović S, Kolaček S. Diagnosisof coeliac disease in children younger than 2 years. J Pediatr Gastroenterol Nutr [Internet]. 2013;56(2):201–5. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23325441
39. Weizman Z , Stringer DA , Durie PR . Radiologic manifestations of malabsorption: a nonspecifi c fi nding . Pediatrics 1984;74:530–3 .
40. Sollid LM , Markussen G , Ek J, et al. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer . J Exp Med 1989;169:345–50.
41. Sollid LM , Thorsby E . The primary association of celiac disease to a given HLA-DQ alpha/beta heterodimer explains the divergent HLA-DR associations observed in various Caucasian populations . Tissue Antigens 1990;36:136–7 .
42. Hadithi M , von Blomberg BM , Crusius JB, et al. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. Ann Intern Med 2007;147:294–302.
43. Rubio-Tapia, Alberto, Ivor D. Hill, Ciarán P. Kelly, Audrey H. Calderwood, and Joseph a Murray. 2013. “ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease.” The American Journal of Gastroenterology 108(5):656–76;quiz 677.

44. Kaukinen K, Partanen J, Maki M, et al. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease . Am J Gastroenterol 2002;97:695–9 .
45. Frangou CH: Environmental factors examined in celiac. Gastroenterol Endoscopy News 2001,62,11,1–7.
46. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, Ciclitira PJ, Sollid LM, Partanen J, European Genetics Cluster on Celiac Disease: HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. Hum Immunol 2003, 64:469–77.
47. Maureen A. Mavrinac, MD; Arthur Ohannessian, MD; Erin P. Dowling, MD; Patrick T. Dowling, MD, MPH. Why celiac disease is so easy to miss. The journal of family practice. 2014; 63(9):508-13.
48. Mollazadegan K, Kugelberg M, Montgomery SM, et al. A population-based study of the risk of diabetic retinopathy in patients with type 1 diabetes and celiac disease . Diabetes Care 2013; 36:316–21.
49. Manley, F. (1947). Essentials of Pediatrics. American Journal of Public Health and the Nations Health (Vol. 37):442.
50. Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. Aliment Pharmacol Th er 2008;27:1044–52 .
51. Bardella MT, Fredella C, Prampolini L, et al. Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. Am J Clin Nutr 2000; 72:937–9.
52. Barera G, Mora S, Brambilla P, et al. Body composition in children with celiac disease and the eff ects of a gluten-free diet: a prospective casecontrol study . Am J Clin Nutr 2000;72:71–5.
53. Rea F, Polito C, Marotta A, et al. Restoration of body composition in celiac children aft er one year of gluten-free diet . J Pediatr Gastroenterol Nutr 1996;23:408–12 .
54. Kemppainen TA, Heikkinen MT, Ristikankare MK, et al. Nutrient intakes during diets including unkilned and large amounts of oats in celiac disease . Eur J Clin Nutr 2010;64:62–7.
55. Koerner TB, Cleroux C, Poirier C, et al. Gluten contamination in the Canadian commercial oat supply . Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expos Risk Assess 2011;28:705–10.
56. Thompson T. Gluten contamination of commercial oat products in the United States . N Engl J Med 2004;351:2021–2.

57. Botero-Lopez JE, Araya M, Parada A, et al. Micronutrient defi ciencies in patients with typical and atypical celiac disease . J Pediatr Gastroenterol Nutr 2011;53:265–70.
58. Halfdanarson TR, Kumar N, Hogan WJ, et al. Copper defi ciency in celiac disease . J Clin Gastroenterol 2009;43:162–4.
59. Lerner A, Gruener N, Iancu TC. Serum carnitine concentrations in coeliac disease . Gut 1993;34:933–5.
60. Hallert C, Grant C, Grehn S, et al. Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years . Aliment Pharmacol Th er 2002;16:1333–9.
61. Hallert C, Svensson M, Tholstrup J, et al. Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet . Aliment Pharmacol Th er 2009;29:811–6.
62. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, et al. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. Gut [Internet]. 2014;63(8):1210–28.
63. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, et al. Prevalence of celiac disease among children in Finland. N Engl J Med 2003;348:2517–24.
64. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multi-center study. Arch Intern Med 2003;163:286–92.
65. Collin P, Reunala T, Rasmussen M, et al. High incidence and prevalence of adult coeliac disease. Augmented diagnostic approach. Scand J Gastroenterol 1997;32:1129–33.
66. Talley NJ, Valdovinos M, Petterson TM, Carpenter HA, Melton L Jr. Epidemiology of celiac sprue: a community-based study. Am J Gastroenterol 1994;89:843–46.
67. Collin P. Should adults be screened for celiac disease? What are the benefits and harms of screening? Gastroenterology. 2005;128(4 SUPPL. 1):104–8.
68. Corazza GR, Di Sario A, Cecchetti L, et al. Bone mass and metabolism in patients with celiac disease. Gastroenterology 1995;109:122–28.
69. Sher KS, Jayanthi V, Probert CS, Stewart CR, Mayberry JF. Infertility, obstetric and gynaecological problems in coeliac sprue. Dig Dis 1994;12:186–90.
70. Andreis, I, Batinić D, Čulo F, et al., Imunologija, sedmo izdanje, Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 98-113.

71. Medrano LM, Dema B, López-Larios A, et al. HLA and Celiac Disease Susceptibility: New Genetic Factors Bring Open Questions about the HLA Influence and Gene-Dosage Effects. PLoS One. 2012;7(10):5–9.
72. Keuning JJ, Pena AS, van Leeuwen A, van Hooff JP, va Rood JJ (1976) HLADW3 associated with coeliac disease. Lancet 1:506–08.
73. Bilbao JR, Calvo B, Aransay a M, et al. Conserved extended haplotypes discriminate HLA-DR3-homozygous Basque patients with type 1 diabetes mellitus and celiac disease. Genes Immun. 2006;7(7):550–4.
74. Dubois P, Trynka G, Franke L, et al. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. Nat Genet. 2010;42(4):295–302.
75. Romanos J, van Diemen CC, Nolte IM, et al. Analysis of HLA and Non-HLA Alleles Can Identify Individuals at High Risk for Celiac Disease. Gastroenterology [Internet]. Elsevier Inc.;2009;137(3):834–40.e3.
76. De Boer YS, Van Gerven NMF, Zwiers A, et al. Genome-wide association study identifies variants associated with autoimmune hepatitis type 1. Gastroenterology [Internet]. Elsevier, Inc; 2014;147(2):443–52.e5.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja:

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi postoji li povezanost biljega rs2187668 s pojavom celijakije i drugih bolesti udruženih u fenotip celijakije.

Materijali i metode:

Ovo istraživanje provedeno je u sklopu istraživačkog projekta 10,001 Dalmatinac, na temelju ispitanika koji su u istraživanje uključeni na području otoka Korčule. Ispitanici su se birali na način da je stvaran prikladan uzorak odraslih osoba starijih od 18 godina. Podatci o biokemijskim parametrima su prikupljeni standardnim procedurama mjerenja. Podatci o celijakiji i drugim bolestima dobiveni su izravno od ispitanika ili uvidom u njihovu medicinsku dokumentaciju. U svrhu genetskog testiranja ispitanika korišten je cjelogenomski panel HumanHap 300 (v1). U statističkoj analizi korišteni su prosjek i standardna devijacija za prikaz numeričkih podataka ili ukupan broj i postotak za kategorijske. Korišteni su t-test i Fisherov egzaktni test.

Rezultati:

Ovo istraživanje uključilo je ukupno 940 ispitanika s Korčule. U uzorku je bilo ukupno 606 žena (64,5%) i 334 muškaraca (35,5%), prosječne dobi 57,66±14,42 za muškarce i 55,49±13,95, što je bila statistički značajna razlika (P=0,023). U uzorku je zabilježen jedan slučaj celijakije, koji je bio heterozigot, te je zabilježena češća pojava raznih oblika autoimunih bolesti povezanih s alelom A. Također, zabilježen je slučaj Addisonove bolesti koji je pripadao u AA genotip, visokog rizika za pojavu raznih autoimunih bolesti. Od analiziranih biokemijskih parametara, niti jedan nije imao statistički značajnu razliku među tri ispitivane skupine.

Zaključci:

U ispitivanoj populaciji pronalazimo povezanost između biljega rs2187668 i autoimunih bolesti te povezanost između biljega rs2187668 homozigotnog (AA) genotipa i Addisonove bolesti. Povezanost između triju skupina ispitanika i biokemijskih parametara nije utvrđena, kao ni povezanost biljega rs2187668 s celijakijom.

9. SUMMARY

Diploma Thesis Title

Determing the risk of occurrence celiac disease based on genetic marker HLA-DRB1 * 0301 (rs2187668)

Objective

The objective of this study was to determine whether there is a connection between marker rs2187668 with the appearance of celiac disease and other diseases associated to celiac disease phenotype.

Materials and methods

This research was conducted as part of research project 10,001 Dalmatian, based on respondents who are involved in the research area of the island of Korčula. Respondents were chosen in a way that is real convenience sample of adults older than 18 years. Data on biochemical parameters were collected by standard procedures of measurement. Data about celiac disease and other diseases were obtained directly from respondents or insight into their medical records. The purpose of genetic testing participants was used genome-panel HumanHap 300 (v1). The statistical analysis used the average and standard deviation for the display of numerical data or the total number and percentage for categorical. The tests that were used are T-test and Fisher's exact test.

Results

This study included a total of 940 respondents from Korčula. The sample had a total of 606 women (64,5%) and 334 men (35,5%), avarege age 57,66 ± 14,42 for men and 55,49 ± 13,95, which was a statistically significant difference (P=0.023). In the sample was noted one case of celiac disease, which was heterozygous, and it was notified frequent occurrence of various forms of autoimmune disease associated with allele A. Also, there is a case of Addison's disease, which is a member of the AA genotype, higher risk for a variety of

autoimmune diseases. At the analysis of biochemical parameters, none of them had a statistically significant difference among the three treatment groups.

Conclusions

In the studied population we find associations between markers rs2187668 and autoimmune diseases, and the linkage between markers rs2187668 homozygous (AA) genotype and Addison's disease. The relationship between the three groups and biochemical parameters have not been established, as well as markers rs2187668 association with celiac disease.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Stjepanka Nakić

Datum rođenja: 14.11.1990.

Mjesto rođenja: Split, Splitsko-dalmatinska županija, Hrvatska

Državljanstvo: Hrvatsko

Adresa stanovanja: Držićeva 17, 21 210 Solin

Telefonski broj: +38521244028

GSM: +385989263676

E-mail adresa: stjepa57@gmail.com

Školovanje:

1997.-2005. Osnovna škola „Don Lovre Katić“, Solin, Hrvatska

2005.-2009. Zdravstvena škola, Split, Hrvatska

2009.-2015. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer doktor medicine, Split, Hrvatska

Strani jezici:

Engleski: napredna razina