

Geni i celijakija

Nada Starčević Čizmarević¹, Brankica Mijandrušić-Sinčić², Vanja Licul²,
Miljenko Kapović¹, Smiljana Ristić¹

Celijakija je bolest poremećenog imunskog odgovora potaknutog glutenom koja se javlja u genetički predisponiranih osoba. Svrha ovog rada je prikazati dosadašnje spoznaje iz genetike celijakije. Genska podloga celijakije vezana za lokus humanih leukocitnih antigena kao dominantnog genetičkog elementa detaljno je razjašnjena. No postoji i velik broj gena izvan ove regije koji pridonose etiopatogenezi bolesti, a samo su dijelom zajednički pojedinim bolesnicima, što upućuje na genetičku heterogenost bolesti. Uz to je opaženo da su mnogi od tih rizičnih lokusa u celijakiji zajednički s lokusima za druge autoimunosne bolesti. Značajan doprinos novim spoznajama daju recentne cjelogenomske asocijacijske studije, ali tek treba istražiti velik dio još i sad nepoznate heritabilnosti u celijakiji.

Ključne riječi: celijakija; genetička sklonost za oboljenje; geni; humani leukocitni antigeni

UVOD

Celijakija ili glutenska enteropatija kronična je bolest tankoga crijeva uzrokovana glutenom prvenstveno iz pšenice, raži i ječma. Bolest je karakterizirana poremećenim imunskim odgovorom, u genetički predisponiranih osoba, s posljedičnim oštećenjem sluznice tankoga crijeva i malapsorpcijom (1). Bezglutenska dijeta dovodi do oporavka sluznice, a ponovno uvođenje glutena do relapsa bolesti.

EPIDEMIOLOGIJA

Do prije 40-ak godina celijakija se smatrala rijetkom bolešću s prevalencijom od oko 0,03%, ograničenom samo na europski kontinent. Promjene u dijagnostici i uvođenje novih seroloških testova omogućili su probir u široj populaciji i promijenili epidemiološku sliku bolesti. Danas se smatra da bolest nije rasprostranjena samo u Europi te da oko 0,5-1% svjetskog stanovništva ima celijakiju (2). Recentna epidemiološka studija provedena u 15 mediteranskih zemalja, uključujući i Hrvatsku, procjenjuje da će u idućih deset godina biti više od pet milijuna novoootkrivenih bolesnika (3). Celijakija je donedavno smatrana bolešću dječje dobi, no danas znamo da se ona može javiti u bilo kojoj životnoj dobi s različitim spektrom simptoma, te se oko 50% bolesnika dijagnosticira u adultnoj dobi. Nепреpoznata bolest je povezana s većim brojem komplikacija, najčešće anemijom, osteoporozom, malapsorpcijom te malignim tumorima-limfomima (4), no prema recentnom radu čini se da je rizik za

maligne tumore, uključujući limfome, nešto niži no što se prije smatralo (5). Celijakija se češće javlja uz druge autoimunosne bolesti i urođene sindrome (6), a povezanost se dijelom tumači zajedničkom genetičkom predispozicijom. Najčešće bolesti povezane s celijakijom su: šećerna bolest tip 1, autoimunosne bolesti štitnjače, autoimunosne bolesti jetre, upalne bolesti crijeva (Crohnova bolest i ulcerozni kolitis), Sjogrenova bolest te IgA deficijencija (6-9). Celijakija uzrokuje i egzokrinu pankreasnu insuficijenciju (EPI) povezanu s oštećenjem sluznice tankog crijeva i posljedičnom atrofijom acinarnih stanica te fibrozom gušterače. Prema podacima iz literature procjenjuje se da i do 20% bolesnika ima EPI, u što se uklapaju rezultati našeg istraživanja koji pokazuju prevalenciju EPI-a od 14,3% do 15,7% (10).

KLINIČKA SLIKA

Klinička slika celijakije je vrlo raznolika. Klinički simptomi mogu biti od blagih, jedva uočljivih, do jako izraženih i odmah prepoznatljivih. Na varijabilnost kliničke slike, osim

¹ Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka

² Interna klinika, Zavod za gastroenterologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Krešimirova 42, 51000 Rijeka

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. Nada Starčević Čizmarević, Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, e-mail: nadasc@medri.uniri.hr

Primljeno/Received: 31. 1. 2015., Prihvaćeno/Accepted: 21. 4. 2015.

dobi, utječe količina glutena u prehrani, spol i genetička predispozicija. Zbog sve veće neujednačenosti u klasifikaciji kliničke slike celijakije i prezentacije s „glutenom povezanih bolesti“, skupina eksperata iz sedam zemalja izdala je 2013. tzv. „Oslo definicije“ koje se odnose na različite kliničke oblike celijakije i s celijakijom povezanih termina (1).

Simptomatska celijakija podrazumijeva širok spektar simptoma, crijevnih i izvancrijevnih, povezanih s ingestijom glutena. U bolesnika s klasičnim tipom celijakije bolest se najčešće javlja između 6. i 24. mjeseca života, a manifestira se simptomima malapsorpcije uz prisutnost proljeva, masne stolice, gubitak tjelesne mase ili zastojem u rastu. Neklasični tip celijakije javlja se kasnije, a kliničku sliku karakterizira odsutnost malapsorpcije, pri čemu je najčešće prisutan jedan od simptoma bolesti, ali ne proljev i steatorreja (1, 11).

No vidljivi simptomi čine tek vrh „ledenog brijega“ celijakije, dok veći broj slučajeva ostaje nedijagnosticiran. Naime, oštećenje sluznice prisutno je i kod subkliničkog oblika celijakije, gdje su simptomi još odsutni ili je riječ o izvancrijevnoj simptomatologiji, bez crijevne manifestacije bolesti. Postoji i potencijalna celijakija koja je stanje povećanog rizika za nastup bolesti. Osobe imaju normalan nalaz biopsije crijevne sluznice uz pozitivnu serologiju (1).

ETIOPATOGENEZA CELIJAKIJE

Ključni čimbenici u patogenezi celijakije su, osim glutena, genetička predispozicija, sluznička barijera crijeva te stečeni i urođeni imunوسي odgovor (11).

Veliki broj provedenih istraživanja posljednjih godina promijenio je pogled na celijakiju i danas se smatra da je to multiorganska bolest sa snažnom genetičkom predispozicijom. Značaj genetičke predispozicije u etiopatogenezi celijakije potvrđen je u brojnim genetičko-epidemiološkim istraživanjima bolesti u bolesnikovih srodnika. Tako u jednojajčanih blizanaca postoji visoki postotak konkordantnosti (oko 75%), dok se kod onih dvojajčanih i prvih srodnika bolest javlja u znatno manjem postotku (10-15%) (2, 12). Uz to je poznato da je bolest snažno povezana s alelima humanog leukocitnog antigena razreda II. (engl. *human leukocyte antigen* - HLA) glavnog sustava tkivne snošljivosti (engl. *major histocompatibility complex* - MHC). Više od 95% oboljelih od celijakije nosi HLA DQ2 ili DQ8 haplotip (1, 13). No iako je 30% pripadnika bijele rase DQ2 i/ili DQ8-pozitivno, celijakiju će razviti samo 3% nositelja rizičnog genotipa (14), moguće stoga što velik dio genetičke podložnosti čine još i danas nepoznati geni izvan HLA sustava.

Nakon prolaska kroz/uz epitelne stanice sluznice crijeva glijadin iz glutena dolazi u *lamini proprijii* u kontakt s tkivnom

transglutaminazom (tTG) koja procesom deaminacije pretvara glutamin u peptidu glijadina u negativno nabijenu glutaminsku kiselinu. Nakon deaminacije dolazi do jakog porasta afiniteta glijadinskih peptida za HLA receptore na antigen prezentirajućim stanicama (APS) u *lamini proprijii*. Interakcija deaminiranog glijadina i HLA receptora dovodi do aktivacije stečenog imunogenog odgovora posredovanog intestinalnim CD4+ T-limfocitima. Aktivirani T-limfociti luče proupalne citokine od kojih je najznačajniji interferon-gama (IFN- γ) (11-13, 15-17). Aktivirani T-limfociti aktiviraju B-limfocite koji stvaraju protutijela na tTG – anti-tTG, antiendomizijska (EMA) i antiglijadinska protutijela (11-16).

Osim promijenjenog stečenog imunogenog odgovora, u oštećenju sluznice tankog crijeva važnu ulogu ima urođeni imunوسي odgovor posredovan intraepitelnim limfocitima. Fragment alfa-2 glijadina p31-49 inducira urođeni imunوسي odgovor preko interleukina IL-15 koji luče enterociti i dendritičke stanice u *lamini proprijii*. IL-15 je glavni čimbenik koji utječe na proliferaciju intraepitelnih limfocita, produkciju IFN- γ i citotoksičnost te ima značajnu ulogu u razvoju i aktivaciji NK (engl. *natural killer*) stanica (11, 18, 19).

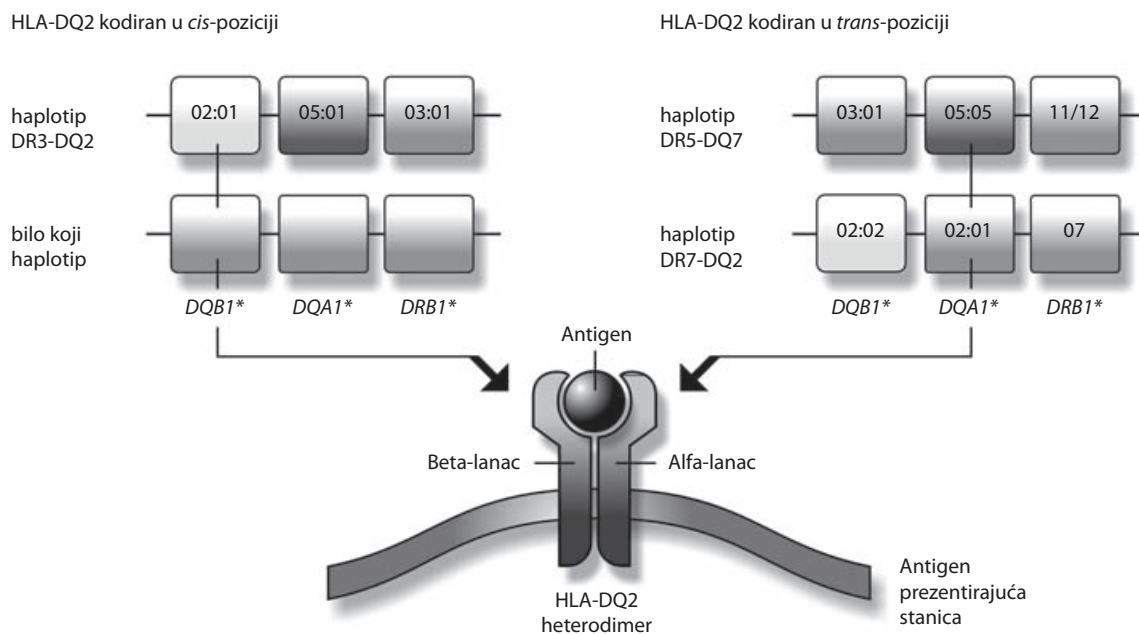
HLA GENI I CELIJAKIJA

S obzirom na to da je celijakija multifaktorska bolest, predispozicija za nju determinirana je velikim brojem gena, pri čemu se HLA sustav ističe kao ključni genetički čimbenik u etiopatogenezi bolesti. Molekule DQ2 i DQ8 kodirane su HLA sustavom koji je lociran na kratkom kraku kromosoma 6, u regiji 6p21.3 i kodira sintezu proteina koji predočavaju antigene imunوسي kompetentnim stanicama. Regiju čini više od 250 gena sa 4 milijuna parova baza, što približno obuhvaća 0,12% humanog genoma. Mnogi od tih gena determiniraju stvaranje proteina odgovornih za imunوسي nadzor (20, 21, 22).

HLA sustav je izrazito polimorfan. S obzirom na različite genske porodice humani MHC je podijeljen u tri regije: razred I, II. i III. Mnogi geni razreda I. i II. vrlo su polimorfni, a najveći polimorfizam postoji u dijelu što kodira hipervarijabilnu regiju kojom se veže strani peptid (20, 21, 24).

Genska organizacija razreda II. vrlo je kompleksna i zauzima 0.8 Mb kratkog kraka 6. kromosoma. Primjenom tehnika molekularne biologije dokazano je da su geni HLA razreda II. organizirani u šest podregija: HLA-DM, -DN, -DO, -DP, -DQ i -DR. Antigeni razreda II. građeni su uvijek od jednog α i jednog β lanca. Proučavanjem slijeda aminokiselina u lancima nađeno je da se oni jako razlikuju i da su antigene determinante smještene na β lancu (20, 21).

HUGO Gene Nomenclature Committee označio je HLA-DQA1 i HLA-DQB1 gene razreda II. kao CELIAC1 i smatra se da

SLIKA 1. HLA-DQ2 heterodimer kodiran u *cis*-poziciji i *trans*-poziciji; modificirano prema Sollid LM (28).

samo HLA regija pridonosi oko 40% heritabilnosti celijakije (24, 25). Razlog zašto ovi geni pogoduju razvoju celijakije je u tome što izoforme receptora DQ2 i DQ8, koje su produkti rizičnih alela, imaju snažan afinitet za deaminirani glijadin u odnosu na druge antigen prezentirajuće receptore, što dovodi do aktivacije T-limfocita (21, 26).

Više od 95% oboljelih od celijakije nosi HLA-DQ2 ili HLA-DQ8 haplotip. HLA-DQ aleli određuju heterodimere receptora na APS građene od α i β lanca. Molekula HLA DQ2 građena je od β lanca HLA-DQB1*02 s dva alela HLA-DQB1*0201 i HLA-DQB1*0202 i α lanca koji određuje alel HLA-DQA1*05. HLA-DQ2 je prisutan u oko 90% bolesnika s celijakijom. Aleli DQB1*02 i DQA1*05 mogu se naslijediti zajedno na istom kromosomu (*cis*-konfiguracija) ili odvojeno na dva homologna kromosoma (*trans*-konfiguracija). U osobe koja ima HLA-DR3 haplotip HLA-DQB1*02 i HLA-DQA1*05 aleli prisutni su u *cis* poziciji (HLA-DRB1*03:01-DQA1*05:01-DQB1*02:01). Ako je osoba HLA-DR5/DR7 aleli se nalaze u transpoziciji i haplotipovi izgledaju ovako: HLA-DRB1*11/12-DQA1*05:05-DQB1*03:01; HLA-DRB1*07-DQA1*02:01-DQB1*02:02 (Slika 1.) (20, 22, 23, 28). Mnogobrojne studije potvrdile su da je prisutnost alela HLA-DQB1*02 u homozigotnom obliku združeno s povećanim rizikom i agresivnijim oblikom celijakije (21, 23, 27).

Antigen HLA-DQ8 prisutan je u 5-10% bolesnika s celijakijom (25). Kod osobe koja je HLA-DR4 pozitivna HLA-DQ β lanac determinira HLA-DQB1*03:02 alel koji se u kombinaciji s alelom HLA-DQA1*03 nalazi u *cis* poziciji, pa je njezin haplotip HLA-DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02. Oko 5% bolesnika HLA-DQ2.5/DQ8 su negativni i oni imaju prisutan

HLA-DQB1*02 kao rizičan alel, ali u odsutnosti HLA-DQA1*05 alela. Vrlo rijetko bolesnici s celijakijom nositelji su različitih HLA-DQ alela gdje je prisutan alel HLA-DQA1*05, ali je odsutan HLA-DQB1*02 ili HLA-DQB1*03:02 alel. Za sve navedene rizične alele bolesnici mogu biti homozigoti ili heterozigoti, a jačina staničnog upalnog odgovora ovisi o „dozi rizičnih alela“. Homozigoti za HLA-DQ2 heterodimere na APS imaju peterostruko jači stanični upalni odgovor u odnosu na heterozigote (20, 22, 23). Različiti HLA-DQA1 i DQB1 aleli, kao i njihova genska doza, određuju težinu oštećenja crijevne sluznice i daljnju progresiju bolesti, koja uključuje pojavu različitih komplikacija (23).

Mnogi autori sugeriraju da HLA genotip za DQ2 i DQ8 nije samo indikator genetičke osjetljivosti, već je HLA tipizacija vrlo korisna u kliničkoj praksi, jer pruža dodatne spoznaje, posebice u spornim slučajevima, u onima koji ostaju nejasni i nakon biopsije, u probiru bolesnikovih prvih srodnika, gdje je prevalencija celijakije značajna kao i u ostalim rizičnim skupinama (bolesnicima s autoimunim bolestima ili specifičnim genetičkim bolestima poput Downovog, Turnerovog ili Williamsovog sindroma), ali i u djece s karakterističnim simptomima i serologijom celijakije. Dijagnostika celijakije se promijenila prije svega zbog veće dostupnosti specifičnih protutijela i genetičkog testiranja. Stoga je ESPGHAN (*European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*) 2012. godine izdao nove smjernice za dijagnostiku celijakije (29). Recentne ESPGHAN-ove smjernice predlažu dva algoritma. Jedan algoritam se odnosi na djecu i adolescente sa simptomima koji sugeriraju moguću celijakiju. U toj skupini bolesnika postoji mogućnost

izostavljanja duodenalne biopsije, i to u djece koja imaju simptome bolesti i vrijednost protutijela na tTG veću od 10x od normale, pozitivan nalaz EMA u drugom uzorku krvi i pozitivan HLA DQ2 i/ili DQ8 heterodimer (29).

Znači da ESPGHAN-ove smjernice u navedenim slučajevima predlažu HLA genotipizaciju, no potrebno je određeno vrijeme za testiranje predloženih algoritama i njihovo uvođenje u praksu. S tim u svezi su i u Hrvatskoj tiskane Preporuke Hrvatskog društva za dječju gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu: Postupnik za dijagnostiku celijakije u djece (30).

Ipak, treba istaknuti da HLA tipizacija nije tipičan dijagnostički test, jer pozitivan rezultat govori o postojanju genetičke predispozicije za bolest, što ne znači da će se ona i razviti. Naime, od 30% populacije koji su nositelji HLA-DQ2/DQ8 molekula samo 3% razvija intoleranciju na gluten (22). Nasuprot tome, negativan rezultat koji upućuje na nedostatak DQ predisponirajućih alela najvjerojatnije može isključiti bolest.

Rizici za bolest ovise o tipu DQA1/DQB1 predisponirajućih alela koji nesumnjivo mogu pomoći u genetičkom savjetovanju obitelji s celijakijom kao i diskriminaciji osoba kojima su potrebne kliničke i serološke kontrole (23, 31). Osim toga različit rizik povezan s pojedinim haplotipom vjerojatno je pod utjecajem drugih čimbenika i brojnih gena podložnosti, koji u međusobnoj interakciji epistatski djeluju na razvoj celijakije.

CELIJAKIJA I GENI IZVAN HLA REGIJE

Na temelju svega navedenog razvidno je da je riječ o iznimno složenoj bolesti predispozicija koje je determinirana i velikim brojem gena izvan HLA regije, pri čemu je HLA glavni lokus koji čini 40% heritabilnosti. Značajna uloga HLA lokusa u predispoziciji za bolest potvrđena je i prispjecom novih genomskih tehnologija, ali su tek cjelogenomske asocijacijske studije (engl. *Genome-Wide Association Study*, GWAS) posljednjeg desetljeća uputile i na druge gene i lokuse koji bi mogli pridonijeti podložnosti i razvoju bolesti (32-35). Pritom navedeni geni imaju relativno mali pojedinačni utjecaj u razvoju celijakije i samo su dijelom zajednički pojedinim bolesnicima, što upućuje na genetičku heterogenost bolesti (36). Recentne cjelogenomske asocijacijske studije dosad su identificirale 39 rizičnih regija izvan HLA sustava, od kojih su najprije tri kromosomske regije 5q31-33 (CELIAC2), 2q33 (CELIAC3) te 19p13.1 (CELIAC4) službeno priznate kao genetički predisponirajući čimbenici u celijakiji (32, 37, 38).

Služeći se podatcima *European Genetics Cluster on Coeliac Disease* provedena metaanaliza iz 2003. godine (39) ponovo

upućuje na 5q31-33 regiju kao značajan genetički čimbenik u celijakiji, iako do danas nije utvrđen pojedinačni rizični biljeg, što između ostalog moguće sugerira zajednički učinak više rizičnih gena unutar navedene regije.

S druge pak strane, potencijalni utjecaj 2q33 kromosomske regije detaljno je opisan. Tako ova CELIAC3 regija sadrži gene za CD28 antigen, zatim za protein 4 vezan za citotoksični T-limfocit (engl. *cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4* - CTLA4) i za inducibilni kostimulator T-stanica (engl. *inducible T-cell costimulator* - ICOS). Sva tri gena su važna u regulaciji T-stanične aktivnosti. Sudjelovanje CD28 antigena u naivnim T-stanicama preko CD80/CD86 (B7) liganda na APS izaziva jaku aktivaciju T-stanica preko njihovih receptora. CTLA4 ima veći afinitet prema CD80/CD86 ligandu od CD28 i negativan je regulator aktivacije T-stanica (38,40,41). S obzirom na to da CTLA4 i HLA molekule klase II. sudjeluju u istim fiziološkim procesima kao što je i antigen specifična aktivacija T-stanica, moguća je interakcija između gena *CTLA4*, kao i njegova promotora, s alelskim inačicama HLA regiji klase II.

Cjelogenomski probir proveden u nizozemskih bolesnika pokazao je rizični signal u 19p13.1 regiji, a ovu kromosomsku CELIAC4 lokaciju sugerira i skupna analiza podataka celijakije u Europi. Tako je kao rizičan utvrđen polimorfizam rs2305764, lociran u intronu 28 *MYO9B* (engl. *myosin IXB*) gena (42). *MYO9B* bio je prvi *non-HLA* gen identificiran pozicijskim kloniranjem. Defekt u genu *MYO9B* može biti čimbenik uključen u rana događanja u sluznici koja prethode dobro poznatom upalnom odgovoru. Naime, inačice gena *MYO9B* mogu narušiti čvrste spojeve te imunogeni glutenski peptidi lakše prodiru dublje u sluznicu. To je mjesto gdje HLA-DQ2 posredovana prezentacija antigena na CD4+ stanicama inicira upalni odgovor.

Do danas je na OMIM-u (engl. *Online Mendelian Inheritance in Man*) prijavljeno 13 CELIAC regija podložnosti, te su ukupno detektirana 63 gena podložnosti izvan HLA regije s malim utjecajem na predispoziciju za bolest (OR=0.7-1.3), pomoću kojih se može objasniti dodatnih 14% genetičke varijabilnosti celijakije (32, 36). Dok primjerice u CELIAC5 ili CELIAC7 nisu otkriveni pojedinačni rizični geni, neke regije nude konkretne gene i objašnjenje njihove uloge u patogenezi bolesti poput već opisane CELIAC3, CELIAC4 ili pak CELIAC6 regije koja upućuje na interleukinske gene IL2 i IL21 za koje je poznata uključenost u autoimunosne procese (43).

Ukupno gledajući, procijenjeno je da zajedno s HLA lokusom dosadašnja identifikacija gena podložnosti za celijakiju iznosi svega 54% te da veliki dio heritabilnosti bolesti još i sad ostaje nerazjašnjen (32, 44). Mogući razlozi za tzv. *missing heritability* je postojanje rijetkih genskih inačica koje nisu ispitivane u GWAS studijama ili je pak riječ o uobičajenim

(engl. *common*) inačicama lokusa koje imaju mali utjecaj pa stoga nisu dosegle prag značajnosti prilikom analize (45). Postojanje velikog broja takvih gena izvan HLA regije, koji su samo djelomično zajednički za svakog bolesnika kao i njihove epistatske reakcije, upućuje na to da je riječ o heterogenoj bolesti složenost koje je mnogo veća nego što se dosad smatralo.

GENI U CELIJAKIJI I DRUGIM AUTOIMUNOSNIM BOLESTIMA

Brojna istraživanja su pokazala istodobna javljanja više autoimunskih bolesti u obiteljima ili pojedinim osobama. Tako se i celijakija često javlja s ostalim pridruženim autoimunskim bolestima, od kojih su najčešće dijabetes tipa 1, autoimunske bolesti štitnjače, Sjogrenova bolest i dr. (45, 46). Sve to upućuje na postojanje zajedničke genetičke pozadine koja određuje zajedničke biološke putove uključne u etiopatogenezi navedenih bolesti. Sukladno tome, opaženo je da su mnogi rizični lokusi u celijakiji zajednički s lokusima za druge autoimunske bolesti (ankilozirajući spondilitis, psorijaza, reumatoidni artritis, dijabetes tipa 1, u manjoj mjeri za upalne bolesti crijeva). Dosad je utvrđeno da od 39 genskih lokusa koji su pokazali združenost s celijakijom njih 26 je zajedničko za jednu ili više autoimunskih bolesti (47, 48). Najviše genskih lokusa celijakija dijeli s dijabetesom tipa 1 (sedam regija), reumatoidnim artritisom i Crohnovom bolešću (četiri regije), dok je do danas identificirano 13 lokusa koji su karakteristični samo za celijakiju. Važno je naglasiti i da se određene genske inačice ne nalaze u kodirajućim regijama gena, već u regulatornim regijama, pri čemu utječu na njihovu gensku ekspresiju (49). Identifikacija takvih alela zahtijeva analizu genske sekvence na vrlo velikom broju bolesnika i kontrolnih ispitanika ili pak asocijacijske studije koje se služe predizajniranim platformama za genotipizaciju kao što je primjerice Immunochip (*Illumina Infinium HD array*), koje sadrže rijetke kao i uobičajene alelske inačice probane u više od stotinu GWAS studija povezanih s različitim imunogeno posredovanim bolestima (34). Lokusi povezani s ovim bolestima prije utječu na razinu genske transkripcije pojedinog ili pak susjednog gena nego što mijenjaju kodirajuću sekvencu kao što je to slučaj kod monogenih bolesti. Nedavna GWAS studija provedena na tisućama bolesnika od celijakije i drugih autoimunskih bolesti (50) uputila je na to da rijetke inačice u kodirajućim regijama poznatih lokusa vjerojatno imaju neznatnu ulogu u predispoziciji autoimunskih bolesti, pa se pretpostavlja da su ipak za podložnost bolesti odgovorne *common* inačice velikog broja gena od kojih svaka ima mali učinak. Također, poput mnogih drugih autoimunskih bolesti i u patogenezi celijakije zasigurno značajnu ulogu imaju gen/gen interakcije koje se zasad ne mogu utvrditi GWAS studijama.

S obzirom na zajedničku genetičku pozadinu koju dijele mnoge autoimunske bolesti smatra se da jedinstveni okidač bolesti određuje hoće li u pojedinom slučaju doći do razvoja celijakije, a ne neke druge bolesti (48). S tim u svezi nužno je ispitivanje uloge egzogenih čimbenika poput infektivnih bolesti ili mikrobioma, kako bi se bolje razjasnila interakcija između gena i okoliša i dobilo objašnjenje heterogene kliničke prezentacije celijakije.

ZAKLJUČAK

Na temelju iznesenog razvidno je da je celijakija složena bolest determinirana pojedinačnim i međusobnim utjecajem velikog broja gena i da se može manifestirati u svakoj dobi i s vrlo varijabilnim, širokim rasponom simptoma. Stoga su ispitivanja epistatskih reakcija gena, kao i korelacije između genotipa i fenotipske ekspresije bolesti, od iznimnog značenja. No dosadašnja ispitivanja genetičkih čimbenika u etiopatogenezi celijakije odnosila su se uglavnom na procjenu utjecaja pojedinačnih gena i rijetko genskih interakcija i najčešće su dala proturječne rezultate. Posebice su rijetko provedena ispitivanja djelovanja pojedinih gena na kliničku manifestaciju bolesti i uglavnom su se zasnivala na utvrđivanju korelacije između rizičnih alela HLA razreda II. i nekih od kliničkih parametara.

Važan sljedeći korak u genetičkim istraživanjima bit će identificiranje gena i genskih inačica pretpostavljenih na osnovu signala iz dosadašnjih GWAS studija. To uključuje i ciljano sekvenciranje regija kandidata kako bi se utvrdile rijetke mutacije neovisno od uobičajenih SNP-a (engl. *Single Nucleotide Polymorphism*). Cjelovit pristup otkrivanju genetičke pozadine bolesti omogućit će fino mapiranje egzona ili čak sekvenciranje čitavog genoma zbog pretpostavljenog značaja nekodirajućih regija. To pak zahtijeva ekstenzivne *follow-up* studije, izazove bioinformatičkog pristupa u obradi goleme količine rezultata i detaljna funkcijska istraživanja, kako bi se otkrio još i sad velik dio nepoznate heritabilnosti u celijakiji.

Kratice:

HLA - humani leukocitni antigen
 EPI - egzokrina pankreasna insuficijencija
 MHC - glavni sustav tkivne snošljivosti
 tTG - tkivna transglutaminaza
 APS - antigen prezentirajuće stanice
 IFN- γ - interferon-gama
 EMA - anti-endomizijska protutijela
 IL - interleukin
 ESPGHAN - *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*
 GWAS - cijelogenomske asocijacijske studije
 CTLA4 - protein 4 vezan za citotoksični T-limfocit
 ICOS - inducibilni kostimulator T-stanica

MYO9B - miozin IXB

OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man*

SNP – polimorfizam jednog nukleotida

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP

Svi autori jednako su doprinijeli izradi rada/*All authors have equally contributed to a manuscript writing*

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev)* obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad.*All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

- Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, et al. The Oslo definitions and related terms. *Gut*. 2013;62:43-52. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301346>
- Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2012;18:6036-59. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v18.i42.6036>
- Tucci F, Astarita L, Abkari A, et al. Celiac disease in the Mediterranean area. *BMC Gastroenterology*. 2014;14:24-30. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-14-24>
- Tack GJ, Verbeek WHM, Schreurs MWJ, Mulder CJJ. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7:204-13. <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2010.23>
- Illus T, Kaukinen K, Virta LJ, Pukkala E, Collin P. Incidence of malignancies in diagnosed celiac patients: a population-based estimate. *Am J Gastroenterol*. 2014;109:1471-7. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2014.194>
- Cosnes J, Cellier C, Viola S, et al. Incidence of autoimmune disease in celiac disease: protective effect of the gluten free diet. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:753-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2007.12.022>
- Viljamaa M, Kaukinen K, Huhtala H, Kyrönpalo S, Rasmussen M, Collin P. Coeliac disease, autoimmune diseases and gluten exposure. *Scand J Gastroenterol*. 2005;40:437-43. <http://dx.doi.org/10.1080/00365520510012181>
- Casella G, D'Inca R, Oliva L, et al. Prevalence of celiac disease in inflammatory bowel disease: an IGD-IBD multicentre study. *Dig Liver Dis*. 2010;42:171-2. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2009.08.005>
- van der Pals M, Ivarsson A, Norström F, Högborg L, Svensson J, Carlsson A. Prevalence of thyroid autoimmunity in children with celiac disease compared with healthy 12-year olds. *Autoimm Dis*. 2014; ID 417356
- Licul V, Starčević Čizmarević N, Ristić S, Mikolašević I, Mijandrušić BS. CTLA-4+49 and TNF-a-308 gene polymorphisms in celiac disease with exocrine pancreatic insufficiency. *Coll Antropol*. 2013;37:1191-4.
- Mijandrušić Sinčić B. Definicija, patogeneza i klinička slika celijakije. U: Pulanić R, Čuković Čavka S, ur. *Algoritmi u gastroenterološkoj endoskopiji i endoskopskom ultrazvuku*. 1. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2012:269-91.
- Kagnof MF. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest*. 2007;117:41-9. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI30253>
- Solid LM. Molecular basis of celiac disease. *Annu Rev Immunol*. 2000; 18:53-81. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.53>
- May-Ling Tjon J, van Bergen J, Koning F. Celiac disease: how complicated can it get? *Immunogenetics* 2010;62:641-651. <http://dx.doi.org/10.1007/s00251-010-0465-9>
- Periolo N, Cernavsky AC. Coeliac disease. *Autoimmun Rev*. 2006; 5:202-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2005.06.013>
- Qiao SW, Bergseng E, Molberg O, Jung G, Fleckenstein B, Sollid LM. Refining the rules of gliadin T cell epitope binding to the disease-associated DQ molecule in celiac disease: importance of proline spacing and glutamine deamidation. *J Immunol*. 2005;175:254-61. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.175.1.254>
- De Re V, Siumula M, Canzonieri V, Cannizzaro R. Proteomic analyses lead to a better understanding of celiac disease: focus on epitope recognition and autoantibodies. *Dig Dis Sci*. 2010;55:3041-6. <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-010-1323-1>
- Meresse B, Malamut G, Amar S, Cerf-Bensussan N. Innate immunity and celiac disease. U: Fasano A, Troncone R, Branski D, eds. *Frontiers in celiac disease*. 1st ed. Basel: Karger; 2008:66-81. <http://dx.doi.org/10.1159/000128658>
- Malamut G, El Machhour R, Montcuquet N, et al. IL-15 triggers an antiapoptotic pathway in human intraepithelial lymphocytes that is potential new target in celiac disease-associated inflammation and lymphomagenesis. *J Clin Invest*. 2010;120:2131-43. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI41344>
- Megiorni F, Pizzuti A. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 in Celiac celiac disease predisposition: practical implications of the HLA molecular typing. *J Biomed Sci*. 2012;11;19:88.
- 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:e48403. doi: 10.1371/journal.pone.0048403. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0048403>
- Hunt KA, van Heel DA. Recent advances in coeliac disease genetics. *Gut*. 2009;58:473-6. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2008.155879>
- Biagi F, Bianchi PI, Vattiato C, et al. Influence of HLA-DQ2 and DQ8 on severity in celiac disease. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46:46-50. <http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e318221077e>
- HUGO Gene Nomenclature Committee. <http://www.genenames.org>
- Karell K, Louka AS, Moodie SJ, et al. 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. [http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859\(03\)00027-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859(03)00027-2)
- Al-Toma A, Goerres MS, Meijer JW, Pe-a AS, Crusius JB, Mulder CJ. Human leukocyte antigen-DQ2 homozygosity and the development of refractory celiac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4:315-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2005.12.011>
- Karinen H, Kärkkäinen P, Pihlajamäki J, et al. Gene dose effect of the DQB1*0201 allele contributes to severity of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2006;41:191-9. <http://dx.doi.org/10.1080/00365520500206277>
- Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol*. 2002; 2: 647-55. <http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
- Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, et al. ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54:136-60. <http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0>
- Mišak Z, Kolaček S, Barbarić I i sur. Preporuke Hrvatskog društva za dječju gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu: Priručnik za dijagnostiku celijakije u djece. 2012. <http://hdpghp.hlz.hr/algoritmi.html>

31. 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*. 2009;137:834-40. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.040>
32. Lundin KE, Sollid LM. Advances in coeliac disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2014;30:154-62. <http://dx.doi.org/10.1097/MOG.0000000000000041>
33. Plaza-Izurrieta L, Castellanos-Rubio A, Irazorza I, et al. Revisiting genome wide association studies (GWAS) in coeliac disease: replication study in Spanish population and expression analysis of candidate genes. *J Med Genet*. 2011;48:493-6. <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2011.089714>
34. Hrdlickova B, Westra HJ, Franke L, Wijmenga C. Celiac disease: moving from genetic associations to causal variants. *Clin Genet*. 2011;80:203-313. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01707.x>
35. Garner CP, Murray JA, Ding YC, Tien Z, van Heel DA, Neuhausen SL. Replication of celiac disease UK genome-wide association study results in a US population. *Hum Mol Genet*. 2009;18:4219-25. <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddp364>
36. Romanos J, Rosén A, Kumar V, et al. Improving coeliac disease risk prediction by testing non-HLA variants additional to HLA variants. *Gut*. 2014;63:415-22. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304110>
37. Ryan AW, Thornton JM, Brophy K, et al. Chromosome 5q candidate genes in coeliac disease: genetic variation at IL4, IL5, IL9, IL13, IL17B and NR3C1. *Tissue Antigens*. 2005;65:150-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2005.00354.x>
38. Amundsen SS, Naluai AT, Ascher H, et al. Genetic analysis of the CD28/CTLA4/ICOS (CELIAC3) region in coeliac disease. *Tissue Antigens*. 2004;64:593-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2004.00312.x>
39. Babron MC, Nilsson S, Adamovic S, et al. European Genetics Cluster on Coeliac Disease. Meta and pooled analysis of European coeliac disease data. *Europ J Hum Genet*. 2003;11:828-34. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201051>
40. Haimila K, Einarisdottir E, de Kauwe A, et al. The shared CTLA4-ICOS risk locus in celiac disease, IgA deficiency and common variable immunodeficiency. *Genes Immun*. 2009;10:151-61. <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2008.89>
41. Hunt KA, McGovern DP, Kumar PJ, et al. A common CTLA4 haplotype associated with coeliac disease. *Eur J Hum Genet*. 2005;13:440-4. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201357>
42. Monsuur AJ, de Bakker PIW, Alizadeh BZ, et al. Myosin IXB variant increases the risk of celiac disease and points toward a primary intestinal barrier defect. *Nature Genet*. 2005;37:1341-4. <http://dx.doi.org/10.1038/ng1680>
43. Einarisdottir E, Koskinen LL, de Kauwe AL, et al. A genome-wide analysis of extended pedigrees confirms IL2-IL21 linkage and shows additional regions of interest potentially influencing coeliac disease risk. *Tissue Antigens*. 2011;78:428-37. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2011.01791.x>
44. Trynka G, Wijmenga C, van Heel DA. A genetic perspective on coeliac disease. *Trends Mol Med*. 2010;16:537-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2010.09.003>
45. Trynka G, Hunt KA, Bockett NA, et al. Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet*. 2011;43:1193-201. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.998>
46. Ventura A, Magazzù G, Gerarduzzi T, Greco L. Coeliac disease and the risk of autoimmune disorders. *Gut* 2002;51:897-8. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.51.6.897>
47. Richard-Miceli C, Criswell LA. Emerging patterns of genetic overlap across autoimmune disorders. *Genome Med*. 2012;4:6. <http://dx.doi.org/10.1186/gm305>
48. Zhernakova A, Stahl EA, Trynka G, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies in celiac disease and rheumatoid arthritis identifies fourteen non-HLA shared loci. *PLoS Genet*. 2011;7:e1002004. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1002004>
49. Maurano MT, Humbert R, Rynes E, et al. Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. *Science* 2012;337:1190-5. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1222794>
50. Hunt KA, Mistry V, Bockett NA, et al. Negligible impact of rare autoimmune-locus coding-region variants on missing heritability. *Nature*. 2013;498:232-5. <http://dx.doi.org/10.1038/nature12170>

SUMMARY

Genes and celiac disease

N. Starčević Čizmarević, B. Mijandrušić-Sinčić, V. Licul, M. Kapović, S. Ristić

Celiac disease is a chronic inflammatory disease of the small intestine triggered by gluten intake, which occurs in genetically susceptible individuals. The purpose of this paper is to present recent findings in the genetics of celiac disease. Genetic background of celiac disease related to human leukocyte antigen locus (HLA) as a dominant genetic element has been well described. However, the existence of a large number of non-HLA celiac disease genes, only partly shared by each individual patient, suggests genetic heterogeneity of the disease. In addition, it has been observed that many of these risk loci in celiac disease are common with the loci for other autoimmune diseases. A significant contribution to our knowledge has been provided by recent genome-wide association studies, but great part of the still unknown heritability in celiac disease is yet to be explored in the future.

Keywords: celiac disease; genetic predisposition to disease; genes; histocompatibility antigens