

Pregledni prispevek/Review article

SODOBNI PRINCIPI DIAGNOSTIKE CELIAKIJE

MODERN DIAGNOSTIC APPROACH TO CELIAC DISEASE

Jernej Dolinšek, Darja Urlep-Žužej, Dušanka Mičetić-Turk

Klinični oddelek za pediatrijo, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

Prispelo 2006-06-22, sprejeto 2006-09-25; ZDRAV VESTN 2006; 75: Supl. II: 89-97

Ključne besede *celiakija; diagnoza; serologija; histologija; genetika*

Izvleček

Izhodišča *Celiakija je imunsko pogojena bolezen tankega črevesa, ki nastane kot posledica uživanja glutena pri genetsko predisponiranih osebah. Bolezen prizadene okoli 1 % prebivalstva in ni le bolezen otroške dobe, saj v različnih kliničnih oblikah prizadene ljudi vseh starosti. Diagnostika bolezni temelji na merilih, ki jih je sprejelo in nato revidiralo Evropsko združenje za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano (ESPGHAN). Kot zlati standard predvidevajo dokaz reverzibilne okvare sluznice tankega črevesa. Revidirana merila predvidevajo manjše število biopsij za postavitve dokončne diagnoze, kar je predvsem posledica uporabe seroloških testov. V diagnostiki celiakije igrajo pomembno vlogo tudi genetske preiskave, predvsem določanje prisotnosti zapisa za HLA-DQ2 in HLA-DQ8. Najnovejši testi, ki omogočajo določanje prisotnosti protiteles proti tkivni transglutaminazi v kapilarni krvi ob obisku bolnika v ambulantni, bodo verjetno zelo olajšali diagnostiko bolezni. Nova dognanja, ki kažejo, da gre pri celiakiji za sistemski patološki imunski odgovor na gluten pri genetsko predisponiranih osebah, pa že kažejo na to, da v prihodnje biopsija sluznice tankega črevesa morda ne bo več imela primarne vloge.*

Zaključki *Sodobna diagnostika celiakije temelji na uporabi bolezensko specifičnih seroloških testov in dokazu povratne okvare sluznice tankega črevesa. V diagnostiki se v zadnjem času uspešno uporabljajo tudi genetski testi in novi hitri serološki testi. Intenzivne raziskave patogeneze in klinične slike celiakije pa bodo pokazale, ali bo v prihodnje moč postaviti zanesljivo diagnozo bolezni tudi brez biopsije sluznice tankega črevesa.*

Keywords *celiac disease; diagnosis; serology; histology; genetics*

Abstract

Background *Celiac disease, also known as genetic gluten intolerance is a chronic disease that affects genetically predisposed individuals after the gluten ingestion. It affects about 1 % of population regardless of the age, and can manifest with diverse clinical picture. Diagnosis of celiac disease is based on criteria adopted and later revised by European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN). These criteria consider intestinal biopsy as a gold standard. The number of biopsies has decreased after the introduction of serological tests, which are considered in revised criteria. Genetic tests have also proven to be very valuable in diagnostic procedure, especially HLA-DQ2 and HLA-DQ8 determination. Bedside or point-of-care tests, which enable quick determination of anti tissue transglutaminase antibodies in capillary blood, are a promising new tool. Many reports have shown that adverse immunological response to gluten in genetically predisposed individuals is systemic, which can lead to a decreased importance of intestinal biopsy in future.*

Avtor za dopisovanje / Corresponding author:

Asist. mag. Jernej Dolinšek, dr. med., Klinični oddelek za pediatrijo, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor, e-mail: jernej.dolinsek@sb-mb.si

Conclusions

Diagnosis of celiac disease is based on specific serological marks and reversible mucosal changes of small intestine. Lately developed genetic tests and new quick serological tests are also used. Intensive research focused on pathogenesis and manifestations of celiac disease will show whether definite diagnosis could be confirmed without the use of intestinal biopsy in future.

Uvod

Celiakija je imunsko pogojena bolezen tankega črevesa, ki nastane kot posledica uživanja glutena pri genetsko predisponiranih osebah. Tipična klinična slika bolezni z dolgotrajno drisko in slabšim napredovanjem bolnikov je znana že več kot 100 let (1), škodljiv učinek proteinov nekaterih žitaric, predvsem pšenice, rži in ječmena, pa poznamo že 50 let (2).

Prevalenco bolezni v Evropi danes ocenjujejo na 1/200 do 1/100 prebivalcev (3–8). To pomeni, da je celiakija ena najpogostejših kroničnih bolezni nasploh. Naraščanje števila novoodkritih bolnikov opazujemo tudi v Sloveniji (9).

Celiakija ni le bolezen otroške dobe in se lahko pojavi v kateri koli starosti. Pri tem je zanimivo, da v odrasli dobi običajno ne poteka z značilnimi kliničnimi znaki. Mnogo pogosteje so prisotni zunajčrevesni znaki celiakije in tudi resni zapleti bolezni, ki pa jih lahko opazimo tudi že v otroški dobi. Neustrezno zdravljenje celiakija lahko povzroči zaplete na številnih organskih oziroma organskih sistemih. Pogost pa je tudi razvoj drugih avtoimunih bolezni, predvsem avtoimunega tiroiditisa (10, 11). Med najpogostejše zunajčrevesne znake celiakije štejemo hematološke motnje, predvsem anemijo zaradi pomanjkanja železa, ki se ne odziva na zdravljenje s peroralnim železom, vidimo pa lahko tudi anemijo zaradi pomanjkanja folne kisline in vitamina B12. Pri odraslih osebah je anemija lahko celo primarni klinični znak celiakije (12). Kot pomemben zunajčrevesni znak, ki ga pogosto opisujemo, je nizka rast. Običajno je posledica dolgotrajne prisotnosti neodkrita celiakije in je lahko izolirani znak bolezni. Zelo neugoden zaplet, ki je posledica dolgotrajnega zmanjševanja gostote kostnine, je osteoporoza. Običajno se pojavi šele v odrasli dobi. Dokazano pa je, da je vsaj v otroški dobi proces še reverzibilen ob upoštevanju brezglutenske diete (13). S celiakijo naj bi bili povezani tudi artritis (10). Podobno lahko vidimo tudi značilne okvare zobne sklenine, ki so očitne predvsem na stalnih zobeh, hkrati pa se lahko v ustni votlini pojavljajo tudi spremembe v obliki aft (14). Tudi kožni pojavi so pogosto pridružene celiakiji. Številni dokazi kažejo na to, da je herpetiformni dermatitis (Duhring) kožni pojav celiakije, saj lahko pri bolnikih s to boleznijo dokažemo prisotnost specifičnih protiteles in okvaro črevesne sluznice (15). Zelo pomembne so tudi težave, ki prizadenejo reproduktivni sistem. Dokazano je, da pride pri dekletih in fantih z nezdravljeno celiakijo do zapoznele pubertete, pogostejše pa so tudi druge težave, predvsem neplodnost, neredne menstruacije, pogostejši splavi, rojstvo otrok z nižjo porodno težo (16). Tudi nevrološke težave so pri celiakiji dobro opisane. Že dalj časa je znano, da se pri bolnikih z nezdravljeno celiakijo

pogosteje pojavljajo nevrološki zapleti. Opisani so pojavi miopatije, pogosteje pa se pojavlja tudi epilepsija, povezana s kalcifikacijami v centralnem živčnem sistemu. Pogost je tudi razvoj cerebelarne ataksije (17). V literaturi so kot zaplet celiakije opisane tudi nekatere psihiatrične bolezni (18). Sorazmerno pogosto predvsem pri starejših bolnikih s celiakijo dokažemo zvišane vrednosti serumskih transaminaz, ki kažejo na okvaro jeter, ta pa je reverzibilna in ob ustreznih dieti ne vodi v kronično jetrno okvaro (19). Najresnejši zaplet celiakije pa je nedvomno razvoj malignih bolezni, predvsem malignega limfoma tankega črevesa (20–22).

Predvsem zaradi visoke prevalenca celiakije, ki lahko poteka z resno klinično sliko, in zaradi možnosti razvoja resnih zapletov bolezni je potrebno bolnike s celiakijo aktivno iskati. Pri aktivnem iskanju bolnikov s celiakijo uporabljamo sodobna diagnostična merila za celiakijo, ki temeljijo na dokazu povratne okvare sluznice tankega črevesa, ki nastane kot posledica uživanja glutena. Kot *zlati standard* predvidevajo biopsijo sluznice tankega črevesa, pomembno vlogo v diagnostiki pa igrajo tudi specifične imunske spremembe, ki omogočajo diagnostiko na podlagi seroloških testov. V diagnostiki celiakije najpogosteje uporabljamo revidirana merila ESPGHAN (Evropsko združenje za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano), ki predvidevajo eno biopsijo sluznice tankega črevesa ob hkratnem sledenju ravni seroloških označevalcev za celiakijo in klinične slike po prehodu na brezglutensko dieto (23). Klasična merila ESPGHAN, ki predvidevajo tri biopsije, danes uporabljamo le v primerih, ko obstaja dvom o prvotno postavljeni diagnozi (24). Sodobne smernice za obravnavo otrok s celiakijo je podalo tudi Severnoameriško združenje za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano (NASPGHAN) (25). Te smernice upoštevajo uporabo najnovejših genetskih in seroloških testov, vendar so tako kot v smernicah ESPGHAN zlati standard še vedno značilne spremembe črevesne sluznice.

Diagnostična merila ESPGHAN opredeljujejo celiakijo kot dosmrtno motnjo tolerance za gluten, zato mora biti dieta brez glutena pri bolnikih s celiakijo prav tako dosmrtna, saj je to edini način, da se izognejo razvoju resnih zapletov bolezni. Revidirana merila za celiakijo so bila sprejeta predvsem po zaslugi odkritja specifičnih protiteles pri bolnikih s celiakijo – seroloških označevalcev za celiakijo – in so posledica specifičnega patološkega imunskega odgovora na zaužiti gluten (26). Uporaba seroloških označevalcev omogoča manjšo invazivnost diagnostičnih postopkov, hkrati pa njihova visoka občutljivost in specifičnost ni zmanjšala zanesljivosti diagnostike celiakije. V diagnostične namene določamo antigliadin

ska protitelesa (AGA) razredov IgG in IgA (27), anti-endomizijska protitelesa (EMA) razreda IgA (28) in v zadnjih letih protitelesa proti tkivni transglutaminazi (t-TG) razreda IgA in IgG (29, 30). S pomočjo dokazovanja specifičnih protiteles lahko odkrijemo bolezen tudi pri bolnikih, kjer bolezen ne poteka s tipičnimi kliničnimi znaki. Zato danes bolnike delimo na bolnike s tipično obliko in atipičnimi oziroma asimptomatskimi oblikami celiakije (31, 32), ki so celo 7-krat pogostejše od tipičnih oblik bolezni (6). V zadnjih letih v diagnostiki celiakije po zaslugi napredka genetike uporabljamo tudi genetske preiskave, predvsem določanje prisotnosti zapisa za HLA-DQ2 oziroma HLA-DQ8, ki imajo visoko negativno napovedno vrednost (33). Najnovejša preiskava, ki bo verjetno pomembno vplivala na diagnostiko celiakije v naslednjih letih, pa je določanje prisotnosti protiteles t-TG v kapilarni krvi, in jo lahko opravimo v nekaj minutah neposredno ob obisku bolnika v ambulanti (34).

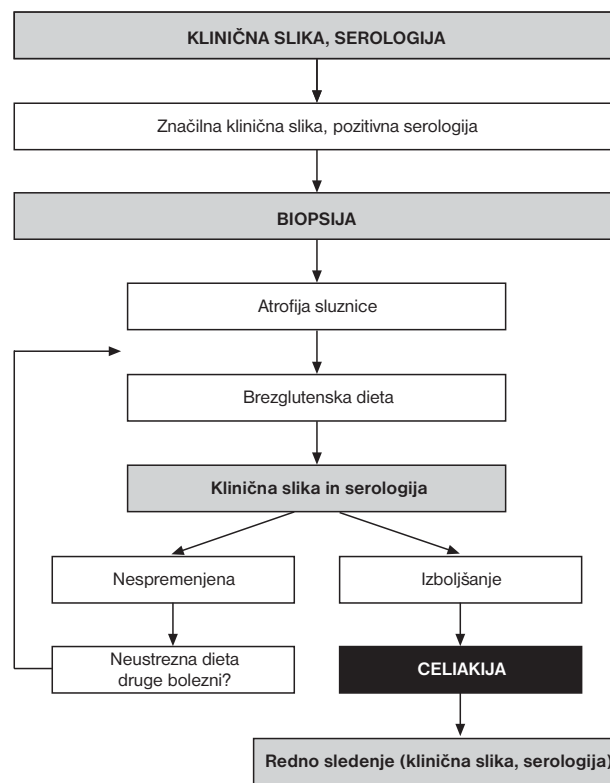
Diagnostična merila pri celiakiji

Diagnostiko celiakije usmerja predvsem klinična slika, vendar dokončna diagnoza vedno temelji na dokazovanju prisotnosti specifičnega povratnega imunskega odgovora in dokazovanju značilnih histoloških sprememb sluznice tankega črevesa. Evropsko združenje za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano (ESPGHAN) je leta 1970 sprejelo enotna diagnostična merila za celiakijo – »klasična merila«, ki temeljijo na biopsiji sluznice tankega črevesa (24). Ta merila za določitev diagnoze predvidevajo najmanj tri biopsije. Prvo biopsijo opravimo v času, ko ima bolnik težave in uživa normalno hrano. Bolnik po tej biopsiji preide na strogo brezglutensko dieto, ki traja vsaj dve leti. Normalizacijo histološke slike potrdimo z drugo biopsijo. Bolnik lahko nato preide na obremenitev z glutenom. Po 3–6 mesecih (v primeru kliničnega poslabšanja takoj) opravimo tretjo biopsijo sluznice tankega črevesa. Prisotnost značilnih histoloških sprememb potrdi končno diagnozo. V primeru normalnega histološkega izvida z obremenitvijo nadaljujemo in opravimo še četrto biopsijo po dveh letih. Patološki histološki izvid diagnozo potrdi, normalni izvid pa jo praktično izključuje.

Kljub izboljševanju diagnostičnih postopkov, predvsem dokazovanju zvišanih vrednosti antigliadinskih in antiendomizijskih protiteles, so ta merila ostala v veljavi vse do leta 1990, ko so bila sprejeta »revidirana merila« ESPGHAN za diagnozo celiakije (23). Čeprav se je število potrebnih biopsij na podlagi teh meril v večini primerov zmanjšalo, **zlati standard** v diagnostiki celiakije še vedno ostaja biopsija sluznice tankega črevesa.

Revidirana merila ESPGHAN predvidevajo le eno biopsijo sluznice tankega črevesa, ki pokaže tipične histološke spremembe, nato pa je za dokončno postavitev diagnoze dovolj klinično izboljšanje in normalizacija vrednosti za celiakijo specifičnih serumskih protiteles po prehodu na brezglutensko dieto (Sl. 1). Le v primerih, ko je začetna diagnoza nejasna (mlajši bolniki, nejasna histološka slika, prehod na dieto brez

glutena še pred prvo biopsijo) ali kadar želi mladostnik sam prekiniti dieto, sledimo klasičnim merilom ESPGHAN.



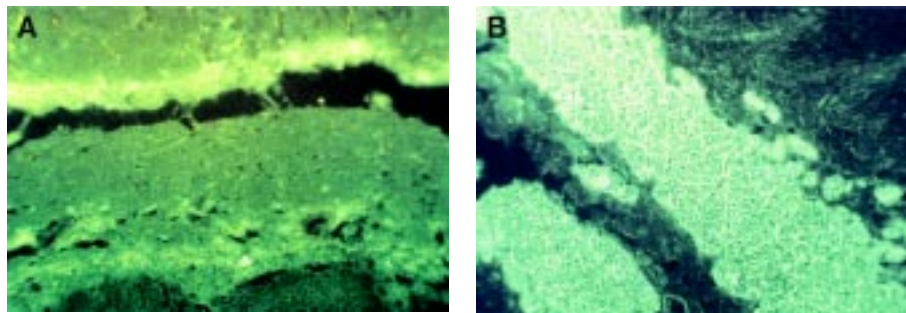
Sl. 1. Diagnostični postopek pri celiakiji na podlagi revidiranih meril ESPGHAN.

Figure 1. Diagnostic approach to celiac disease according to revised ESPGHAN criteria.

Najnovejša merila NASPGHAN prav tako kakor revidirana merila ESPGHAN predvidevajo le eno biopsijo sluznice tankega črevesa in nato dokaz kliničnega izboljšanja in normalizacijo seroloških testov po prehodu na brezglutensko dieto. Pri tem so merila NASPGHAN bolj specifična glede uporabe seroloških testov, saj predvidevajo predvsem uporabo protiteles t-TG in ne priporočajo več uporabe protiteles AGA, v nekaterih primerih pa upoštevajo tudi možnost uporabe genetskih testov za dokazovanje značilnega zapisa za HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 (25).

Serološki označevalci za celiakijo

V serumu bolnikov s celiakijo lahko dokažemo prisotnost specifičnih protiteles, ki jih imenujemo *serološki označevalci celiakije*. Sem sodijo antigliadinska protitelesa (AGA) razredov IgG in IgA (27, 35), anti-endomizijska protitelesa (EMA) razreda IgA (28, 36) in protitelesa proti tkivni transglutaminazi (t-TG) (29, 36). Prav odkritje protiteles proti t-TG, ki predstavlja avtoproteleso pri celiakiji (37), je omogočilo tudi vpogled v osnovne patogenetske mehanizme, ki privedejo do razvoja bolezni (38, 39). Ker pri bolnikih s celiakijo pogosteje opažamo pomanjkanje imunoglo-



Sl. 2. Dokazovanje prisotnosti antiendomizijskih protiteles. Fino zamrežena struktura na sliki B predstavlja pozitiven izvid indirektnne imunofluorescence. Imunofluorescenca na sliki A je negativen izvid oziroma nespecifična vezava.

Figure 2. Determining the presence of antiendomysium antibodies. Fine reticular fluorescence on figure B is an indication of a positive indirect immunofluorescence. Unspecific binding on figure A represents a negative result of the test.

bulinov razreda A (IgA) v smernicah NASPGHAN predvidevajo tudi določitev nivoja IgA. V primeru, da dokažemo pomanjkanje IgA, priporočajo določanje za celiakijo specifičnih protiteles razreda IgG. Pri tem sicer dajejo prednost dokazovanju protiteles EMA in t-TG. Poudarjajo pa, da rezultati niso zadostno preverjeni, da bi lahko v teh primerih popolnoma izključili uporabo protiteles AGA razreda IgG (25).

Antigliadinska protitelesa

Dokazovanje prisotnosti antigliadinskih protiteles (AGA) pri bolnikih s celiakijo sega v zgodnja šestdeseta leta (40). V diagnostičnih postopkih dokazujemo prisotnost antigliadinskih protiteles razredov IgG in IgA.

Serumska raven antigliadinskih protiteles razredov IgG in IgA se določa z uporabo komercialnih sendvič encimskoimunskih testov ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) (35, 41). Test je sicer zelo občutljiv, a slabo specifičen; to je zelo pomembno in zmanjšuje njegovo diagnostično vrednost. Njegova pozitivna napovedna vrednost se po različnih virih nahaja med 33 % in 80 % za kombinacijo, ko so hkrati pozitivna protitelesa razredov IgA in IgG, pri tem pa so protitelesa razreda IgA napovedno boljše od protiteles razreda IgG (27, 42–44).

Glede na to, da so protitelesa razreda IgA bolj specifična, je treba pri njihovem vrednotenju upoštevati tudi morebitno pomanjkanje celotnih IgA.

Prav zaradi slabe specifičnosti NASPGHAN v svojih smernicah ne priporoča več uporabe protiteles AGA (25).

Antiendomizijska protitelesa

Antiendomizijska protitelesa (EMA) pri bolnikih s celiakijo so prvič opisali leta 1984 in jih kmalu uvedli v klinično uporabo (28).

Večina centrov se pri dokazovanju prisotnosti protiteles EMA razreda IgA ali IgG odloča za uporabo komercialnih indirektnih imunofluorescenčnih testov, ki uporabljajo kot antigen rezine požiralnika primatov (opic) (45). Pri tem pod fluorescenčnim mikroskopom prisotna fino zamrežena struktura dokazuje

prisotnost protiteles (Sl. 2). Nekatere raziskave potrjujejo tudi uporabnost antigenov v človeški popkovnici za dokazovanje prisotnosti protiteles EMA (HUC – Human Umbilical Cord) (46). Glede na teste za dokazovanje protiteles AGA so ti testi dosti bolj specifični, prav tako pa je ustrezna tudi njihova občutljivost. Njihova pozitivna napovedna vrednost je po mnenju vseh avtorjev blizu 100 % (42, 47, 48). Glede na to, da gre za protitelesa razreda IgA, je treba pri dokazovanju upoštevati morebitno pomanjkanje celotnih IgA (49), saj lahko v tem primeru določimo tudi protitelesa EMA razreda IgG.

kanje celotnih IgA (49), saj lahko v tem primeru določimo tudi protitelesa EMA razreda IgG.

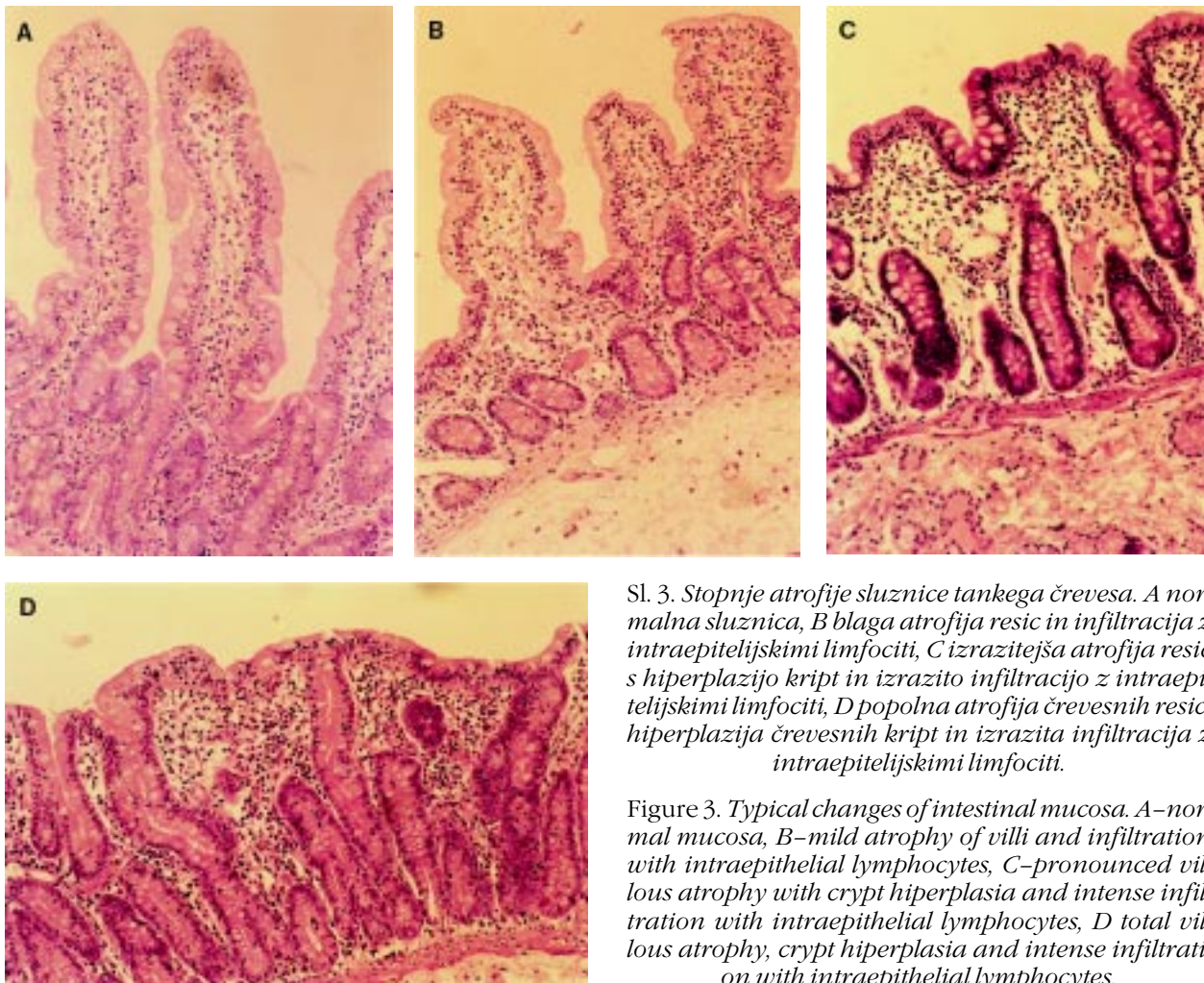
Protitelesa proti tkivni transglutaminazi

Protitelesa proti tkivni transglutaminazi (t-TG) so bila prvič opisana leta 1997 (29), njihovo dokazovanje je danes skupaj z dokazovanjem prisotnosti protiteles EMA osnova diagnostike celiakije. Tkivna transglutaminaza je pravzaprav avtoantigen za protitelesa EMA (37). Antigen predstavlja encim tkivna transglutaminaza. Gre za encim, odvisen od kalcija, ki katalizira križno povezavo med glutaminskimi in lizinskimi ostanki v proteinih. Gliadin oz. nekateri gliadinski peptidi so pomemben substrat za ta encim. V diagnostične namene dokazujemo prisotnost protiteles t-TG razreda IgA, lahko pa določamo tudi protitelesa razreda IgG. Določamo jih z metodo ELISA. Na trgu je na voljo več različnih komercialnih pripravkov, ki temeljijo na rekombinantni človeški tkivni transglutaminazi. Številne izkušnje kažejo, da je test zelo občutljiv in visoko specifičen (36, 37, 50–52), vendar je specifičnost po nekaterih podatkih nekoliko nižja kot pri protitelesih EMA. Protitelesa t-TG razreda IgA in IgG so po mnenju NASPGHAN najprimernejša v diagnostiki celiakije in imajo prednost pred protitelesi EMA in AGA (25).

Glede na to, da gre za protitelesa razreda IgA, je treba pri dokazovanju upoštevati tudi morebitno pomanjkanje celotnih IgA, saj lahko v tem primeru določimo tudi protitelesa t-TG razreda IgG.

Biopsija sluznice tankega črevesa

V času, ko so odkrili škodljiv učinek glutena (2), je diagnostika celiakije temeljila na kliničnih znakih bolezni. Leta 1955 je bila opravljena prva peroralna biopsija tankega črevesa (Royer v Argentini in Shinnerjeva v Veliki Britaniji) (53, 54), ki je omogočila histološki pregled bioptov sluznice tankega črevesa. Takrat so sicer že bili znani zapisi o spremenjeni sluznici tankega črevesa pri umrlih bolnikih s celiakijo (55), vendar je prevladovalo mnenje, da gre za artefakte, ki so posledica smrti. Šele mikroskopski pregled svežih bioptov sluznice tankega črevesa je potrdil, da so pri bol-



Sl. 3. Stopnje atrofije sluznice tankega črevesa. A normalna sluznica, B blaga atrofija resic in infiltracija z intraepitelijskimi limfociti, C izrazitejša atrofija resic s hiperplazijo kript in izrazito infiltracijo z intraepitelijskimi limfociti, D popolna atrofija črevesnih resic, hiperplazija črevesnih kript in izrazita infiltracija z intraepitelijskimi limfociti.

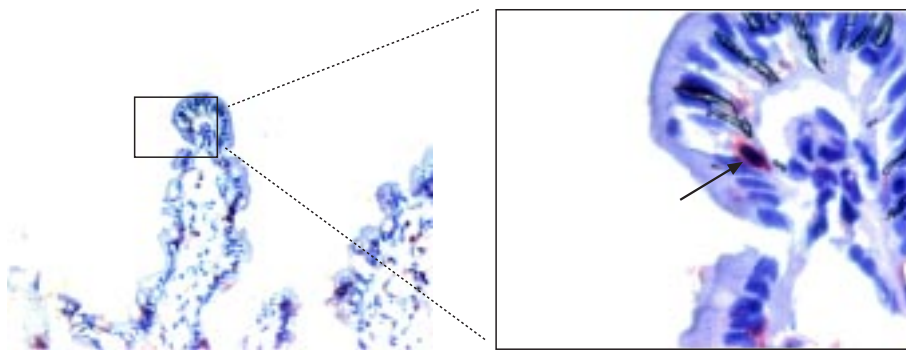
Figure 3. Typical changes of intestinal mucosa. A-normal mucosa, B-mild atrophy of villi and infiltration with intraepithelial lymphocytes, C-pronounced villous atrophy with crypt hiperplasia and intense infiltration with intraepithelial lymphocytes, D total villous atrophy, crypt hiperplasia and intense infiltration with intraepithelial lymphocytes.

nikih s celiakijo prisotne značilne histološke spremembe sluznice tankega črevesa (56–59). Spremembe, ki jih uživanje glutena povzroči pri bolnikih s celiakijo, pogosto označujemo z izrazom *atrofija sluznice tankega črevesa*. Ker sluznica tankega črevesa pravzaprav ni atrofična (Lieberkühnovne kripte so podaljšane), se uporabljata tudi izraza *ploska sluznica tankega črevesa* ali pa *hiperplastična atrofija črevesnih resic*. Najznačilnejše histološke spremembe, ki jih pri celiakiji opažamo, so: popolna ali delna atrofija črevesnih resic, podaljšanje Lieberkühnovih kript in povečanje števila IEL (60–63). Biopsijo sluznice tankega črevesa lahko, predvsem pri majhnih otrocih, opravimo s pomočjo aspiracijske biopsijske sonde, modificirane po Zachoreczu, vendar s sodobnimi endoskopi majhnega premera danes pri dojenčkih običajno odvezamo biopte ob ezofago-gastro-duodenoskopiji, ki je metoda izbire tudi pri starejših preiskovanih. Na ta način si natančno ogledamo mesto odvzema biptov pred in po biopsiji, prav tako pa nam metoda omogoča odvzem večjega števila vzorcev iz različnih mest dvanajstnika.

Prav biopsija sluznice tankega črevesa in dokaz značilnih histoloških sprememb sta temelj diagnostičnih meril ESPGHAN. Pri opredelitvi sprememb sluznice tankega črevesa različni avtorji pri histološkem pre-

gledu atrofijo delijo v 2–7 stopenj (59, 61–64), vendar pa je najpogosteje uporabljena klasifikacija po Marshu (61), ki spremembe črevesne sluznice pri celiakiji deli v štiri značilne stopnje. Kot tip 0 označujemo normalno črevesno sluznico. Tip 1 oz. infiltrativna stopnja predstavlja sluznico skoraj normalne zgradbe, kjer je epitelij resic infiltriran z limfociti (IEL). Tip 2 oz. infiltrativno-hiperplastična stopnja predstavlja obsežnejše arhitekturne spremembe, predvsem hipertrofijo in hiperplazijo kript, medtem ko so črevesne resice še prisotne. Epitelij je običajno izrazito infiltriran z limfociti. Tip 3 oz. ploska destruktivna stopnja je najznačilnejša sprememba, ki jo vidimo pri bolnikih s celiakijo. Resic praktično ni, kripte so močno hiperplastične in hipertrofične, infiltracija epitela z limfociti je zelo izrazita (61) (Sl. 3). Nekateri avtorji predlagajo poenostavitev te klasifikacije, saj menijo, da je klasifikacija, ki predvideva večje število stopenj, lahko vir diagnostičnih nesporazumov in zmot (65). Predvideni model, ki bi upošteval le dve vrsti sprememb, bo potrebno šele natančneje preučiti in opredeliti njegovo klinično uporabnost. Zato za zdaj ostaja v veljavi Marsheva klasifikacija.

Čeprav klasifikacija po Marshu upošteva prisotnost in število IEL, natančneje ne opredeljuje posameznih podtipov IEL.



Sl. 4. Ocenjevanje gostote intraepitelijskih limfocitov. Levo vidimo normalno sluznico tankega črevesa, desno je izsek sluznice, prikazan pri večji povečavi. S puščico je označena CD3 pozitivna celica (limfocit T). V celotni resici so vidni le posamezni limfociti T, njihova gostota je normalna.

Figure 4. Intraepithelial lymphocytes. Normal mucosa is seen on the left, with larger magnification on the right. CD3 positive cell is marked with an arrow. Only few lymphocytes can be seen.

Intraepitelijski limfociti (IEL)

Povečano število IEL pri bolnikih z aktivno celiakijo upošteva tudi klasifikacija po Marshu (61), vendar ne upošteva različnih podtipov IEL. Z imunohistokemijskimi metodami se je pokazalo, da intraepitelijski T limfociti pri celiakiji nosijo dve vrsti T-celičnih receptorjev (TCR). Na podlagi tega jih delimo v IEL z alfa/beta TCR in limfocite z gama/delta TCR. Pri aktivni obliki celiakije so pomnoženi tako limfociti z alfa/beta kot tudi z gama/delta TCR. Zelo zanimiva pa je ugotovitev, da pri bolnikih s celiakijo že v latentni fazi in tudi po prehodu na brezglutensko dieto število limfocitov z alfa/beta TCR pade na normalne vrednosti, število limfocitov z gama/delta TCR pa ostane povišano (66–68). Ta ugotovitev kaže na to, da limfociti z gama/delta TCR verjetno igrajo zelo pomembno vlogo v patogenezi bolezni, čeprav nekatere raziskave kažejo na to, da niso popolnoma specifični za celiakijo (69, 70).

Določanje podtipov limfocitov T v sluznici tankega črevesa je možno z imunohistokemijskimi metodami, kjer uporabljamo monoklonska protitelesa proti posameznim vrstam TCR. S sekundarnim sistemom nato vezana monoklonska protitelesa prikažemo s svetlobnim mikroskopom (Sl. 4) ali z imunofluorescenco. Dokazovanje specifičnih podvrst limfocitov T v tankem črevesu opravljajo le v nekaterih svetovnih centrih. Metoda je odlično orodje za sledenje aktivnosti bolezni, zelo pomembno pa je, da omogoča tudi dokazovanje atipičnih in asimptomatskih oblik celiakije. Za te oblike celiakije je značilno to, da so v krvi bolnikov prisotna za celiakijo značilna protitelesa, običajne histološke preiskave pa ne pokažejo značilnih sprememb. Vidimo lahko le nespecifično povečanje celotnega števila IEL, ki pa jih brez imunohistokemijskih metod ne moremo natančneje opredeliti.

Genetska predispozicija za razvoj celiakije

Ne glede na različne pojavne oblike bolezni je skupna značilnost vseh bolnikov s celiakijo njihova ge-

netska predispozicija za razvoj bolezni. Da je bolezen genetsko pogojena, so pokazale predvsem družinske raziskave in raziskave dvojčkov (71–74).

Na podlagi teh raziskav je postalo jasno, da je prevalenca bolezni med družinskimi člani in predvsem med dvojčki takšna, da dejavniki okolja ne morejo v celoti pojasniti nastanka bolezni in da morajo pomembno vlogo pri nastanku bolezni igrati tudi genetski dejavniki (74). Natančnejše genetske analize so pokazale, da je v predispozicijo za razvoj celiakije verjetno vključenih več genov na različnih kromosomih

(75–78) in da gre za kompleksno genetsko predispozicijo. Najbolj raziskana je povezava celiakije z nekaterimi HLA (human leukocyte antigen) aleli, kodiranimi na šestem kromosomu (6p21.3). Najpogostejši predisponirajoči genetski dejavnik za celiakijo v Evropi je HLA-DQ2 heterodimer (33), ki je zapisan z aleli DQA1*05 in DQB1*02. Večina bolnikov s celiakijo, ki prihajajo iz Evrope, nosi zapis za HLA-DQ2 (HLA-DQA1*0501; DQB1*02). Ta alela sta lahko zapisana v položaju *cis* z DRB1*03 (DR3) ali v položaju *trans* z DRB1*11 ali *12 (DR5) ali z DRB1*13 (DR6) in DRB1*07 (DR7) (Sl. 5). HLA-DQ2 heterodimera pri DR3 in DR5(DR6)/DR7 sicer nista popolnoma identična in se razlikujeta v dveh aminokislinskih ostančkih, kar pa funkcionalno verjetno ni pomembno (79). Tako je natančen zapis za heterodimer v *cis* DQA1*0501; DQB1*0201 pri *trans* pa DQA1*0505; DQB1*0202.

Povezava celiakije in HLA pri bolnikih, ki ne nosijo zapisa za HLA-DQ2, je pokazala, da 5–12 % bolnikov nosi haplotip HLA-DR4; DQ8, ki je zapisan z DRB1*04; DQA1*0301; DQB1*0302 (73, 77) (Sl. 5). Bolnike s celiakijo, ki ne nosijo zapisa za HLA-DQ2 ali HLA-DQ8, srečamo le izjemoma (33).

Čeprav nosi HLA-DQ2 ali HLA-DQ8 zapis več kot 30 % celotne populacije v zahodni Evropi in tudi v Sloveniji (80), je določanje tega zapisa v diagnostiki celiakije zelo pomembno. Razvoj genetskih metod je namreč omogočil rutinsko uporabo genetskih preiskav v diagnostiki celiakije. Pri tem so na voljo številni komercialni pripravki. Z njimi s pomočjo metode pomnoževanja nukleinske kisline (PCR) določimo alele gena DQB1 in jih razdelimo v serološke skupine DQ2, DQ3, DQ4, DQ5, DQ6, DQ7, DQ8 in DQ9, to pa zadostuje za diagnostiko celiakije in natančnejša analiza ni potrebna.

Metoda ima velik pomen v diagnostiki celiakije predvsem zaradi svoje visoke negativne napovedne vrednosti, saj so bolniki, ki ne nosijo za celiakijo značilnega zapisa, izredno redki (33, 77).

Hitri test za dokazovanje protiteles proti tkivni transglutaminazi

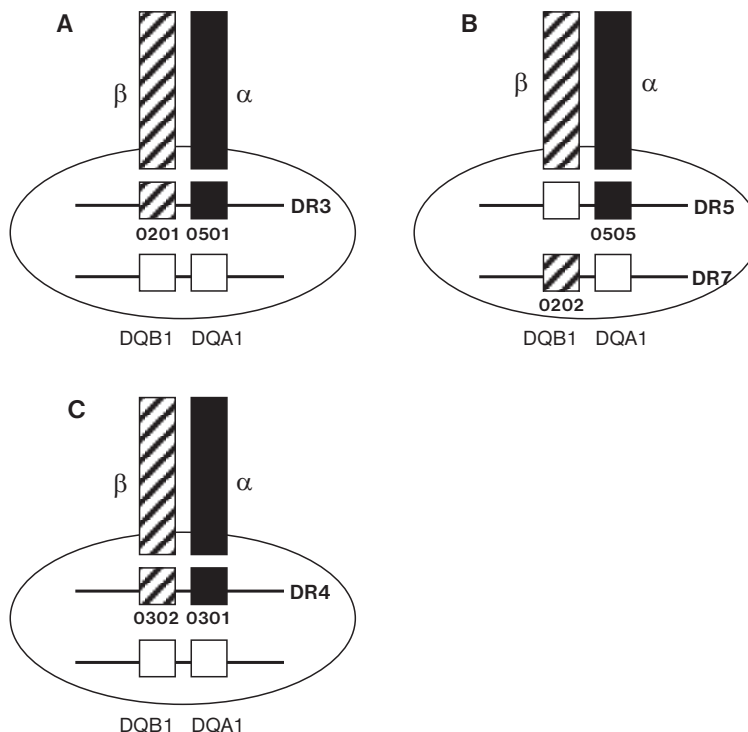
V letu 2005 so prvič objavili podatke o hitrem testu, ki omogoča dokazovanje protiteles proti tkivni transglutaminazi. S to metodo izkoriščamo tkivno transglutaminazo v eritrocitih za odkrivanje protiteles razreda IgA v kapilarnem vzorcu krvi (34). Test opravimo ob postelji bolnika, rezultate pa odčitamo v petih do desetih minutah. Na ta način lahko indikacijo za biopsijo postavimo že ob prvem obisku in se s tem izognemo nepotrebemu čakanju na izvide seroloških testov. Naše izkušnje s testom so odlične.

Zaključki

Diagnostika celiakije temelji na klinični sliki, določanju seroloških označevalcev za celiakijo, genetskih preiskavah in biopsiji sluznice tankega črevesa z dokazom okvare črevesne sluznice. Sodobna diagnostika še vedno upošteva revidirana merila ESPGHAN, vendar pa vse več raziskav kaže na to, da je spekter genetske preobčutljivosti na gluten veliko širši in lahko prizadene številne organske sisteme. V teh primerih lahko že leta pred izbruhom črevesnih pojavov odkrijemo patološke vrednosti seroloških testov, hkrati pa lahko pri teh bolnikih dokažemo značilno genetsko predispozicijo za razvoj bolezni. Prav zaradi tega se vse pogosteje pojavljajo pobude za ponovno revizijo diagnostičnih meril, ki bi v večji meri upoštevala imunološke spremembe. Do takrat pa v veljavi ostajajo merila, ki upoštevajo biopsijo sluznice tankega črevesa kot zlati standard v diagnostiki.

Literatura

1. Gee SJ. On the coeliac affection. *St Bart Hosp Rep* 1888; 24: 17-20.
2. Dicke WK. Coeliac disease. Investigation of harmful effects of certain types of cereal on patients with coeliac disease [thesis]. Utrecht: University of Utrecht; 1950.
3. Greco L, Mäki M, Di Donato F, Visakorpi JK. Epidemiology of coeliac disease in Europe and the Mediterranean area. In: Auricchio S, Visakorpi JK, eds. *Common food intolerances 1: Epidemiology of coeliac disease*. Basel: Karger; 1992. p. 25-44.
4. Unsworth DJ, Brown DL. Serological screening suggests that adult coeliac disease is underdiagnosed in the UK and increases the incidence by up to 12%. *Gut* 1994; 35: 61-4.
5. Cerf-Bensussan N, Cellier C, Heyman M, Brouse N, Schmitz J. Coeliac disease: An update on facts and questions based on the 10th International symposium on coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 412-21.
6. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of coeliac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003; 348: 2517-24.
7. Fassano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of coeliac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med* 2003; 163: 286-92.



Sl. 5. Za celiakijo značilen genetski zapis HLA-DQ2 ali HLA-DQ8. Na sliki A vidimo shematski prikaz zapisa za HLA-DQ2, ki je zapisan v cis. Na sliki B je prikaz zapisa za HLA-DQ2 zapisan v trans. Na sliki C je prikazan zapis za HLA-DQ8.

Figure 5. Typical genetic predisposition in celiac disease. Figure A represents HLA-DQ2 encoded in cis, figure B HLA-DQ2 encoded in trans, and figure C represents HLA-DQ8 heterodimer.

8. Ivarsson A, Persson LA, Nystrom L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr* 2000; 89: 165-71.
9. Mičetić-Turk D. Zaključno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta: Celiakija v otroški dobi; L3-9093-1997-1998, L3-9207-1999.
10. Kaukinen K, Collin P, Mykkänen AH, Partanen J, Mäki M, Salmi J. Celiac disease and autoimmune endocrinologic disorders. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1428-33.
11. Sategna-Guidetti C, Bruno M, Mazza E, Carlino A, Predebon S, Tagliabue M, Brossa C. Autoimmune thyroid disease and coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10: 927-31.
12. Mody RJ, Brown PL, Wechsler DS. Refractory iron deficiency anemia as the primary clinical manifestation of coeliac disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 169-72.
13. Marsh MN. Bone disease and gluten sensitivity: time to act, to treat, and to prevent. *Am J Gastroenterol* 1993; 89: 2105-7.
14. Aine L, Mäki M, Collin P, Keyrilainen O. Dental enamel defects in coeliac disease. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 241-5.
15. Collin P, Reunala T. Recognition and management of the cutaneous manifestations of coeliac disease: a guide for dermatologists. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 13-20.
16. Meloni GF, Dessole S, Vargiu N, Tomasi PA, Musumeci S. The prevalence of coeliac disease in infertility. *Hum Reprod* 1999; 14: 2759-61.
17. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Chattopadhyay AK, Davies-Jones GAB, Gibson A, Jarrat JA, et al. Clinical, radiological, neurophysiological, and neuropathological characteristic of gluten ataxia. *Lancet* 1998; 352: 1582-5.
18. Hallert C, Derefeldt T. Psychic disturbances in adult coeliac disease. I. Clinical observations. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17: 17-9.

19. Volta U, Granito A, De Franceschi L, Petrolini N, Bianchi FB. Anti tissue transglutaminase antibodies as predictors of silent coeliac disease in patients with hypertransaminasaemia of unknown origin. *Dig Liver Dis* 2001; 33: 420-5.
20. Katoh A, Ahshima K, Kanda M, Haraoka S, Sugihara M, Suzumiya J, et al. Gastrointestinal T cell lymphoma: Predominant cytotoxic phenotypes, including alpha/beta, gamma/delta T cell and natural killer cells. *Leukem Lymphom* 2000; 39: 97-111.
21. Holmes GK. Coeliac disease and malignancy. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 229-37.
22. Mičetić-Turk D, Krajnc O, Dolinšek J, Berger T. Maligne bolezni pri sorodnikih otrok s celiakijo. *Slov Pediatr* 2000; 7: 83-6.
23. Walker Smith JA, Guandalini S, Shmitz J, Schmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. *Arch Dis Child* 1990; 65: 909-11.
24. Weijers HA, Lindquist B, Anderson ChM, Rey J, Schmerling DH, Visakorpi JK, et al. Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1970; 59: 461-3.
25. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg EJ, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 1-19.
26. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 647-55.
27. Troncone R, Ferguson A. Anti-gliadin antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 12: 150-8.
28. Chorzelski TP, Beutner EA, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA antiendomysium antibody: a new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 1984; 111: 395-402.
29. Dietrich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. *Nat Med* 1997; 3: 797-801.
30. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, Marzari R, Tommasini A, Bradbury A, et al. Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1253-7.
31. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease - active, silent, latent, potential. *Gut* 1993; 34: 150-1.
32. Troncone R, Greco L, Mayer M, Paparo F, Caputo N, Micillio M, et al. Latent and potential coeliac disease. *Acta Paediatr Suppl* 1996; 412: 10-14.
33. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, 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.
34. Korponay-Syabo IR, Raivio T, Laurila K, Opre J, Kiraly R, Kovacs JB, et al. Coeliac disease case finding and the diet monitoring by point-of-care testing. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 729-37.
35. Savilahti E, Viander M, Perkkio M, Vaino E, Kalimi K, Reunala T. IgA antigliadin antibodies. A marker of mucosal damage in childhood coeliac disease. *Lancet* 1983; 1: 320-2.
36. Bürgin-Wolff A, Dahlblom I, Hadziselimovic F, Petersson CJ. Antibodies against human tissue transglutaminase and endomysium in diagnosing and monitoring coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2002; 2002; 37: 685-91.
37. Sulkanen S, Haltunen T, Laurila K, Kolho K-L, Korponay-Szabo I, Sarnesto A, et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 1322-8.
38. Mäki M. Coeliac disease and autoimmunity due to unmasking of cryptic epitopes? *Lancet*. 1996; 348: 1046-7.
39. Sollid LM, Jabri B. Is celiac disease an autoimmune disorder? *Curr Opin Immunol* 2005 Dec; 17: 595-600.
40. Taylor KB, Truelove SC, Thomson DL, Wright R. An immunological study of coeliac disease and idiopathic steatorrhoea. Serological reaction to gluten and milk proteins. *Br Med J* 1961; 2: 1727-31.
41. Bodé S, Gudman-Hryer E. Evaluation of the gliadin antibody test for diagnosing coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 148-52.
42. Pittschieler K, Ladinsler B. Coeliac disease: screened by a new strategy. *Acta Paediatr Suppl* 1996; 412: 42-5.
43. Bodé S, Weile B, Krasilnikoff PA, Gudman-Hryer E. The diagnostic value of the gliadin antibody test in celiac disease in children: A prospective study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 17: 260-4.
44. Sjöberg K, Alm R, Ivarsson A, Lindström C, Eriksson S. Prevalence and clinical significance of gliadin antibodies in healthy children and adults. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 248-54.
45. Chan KN, Phillips AD, Mirakion R, Walker Smith JA. Endomysial antibody screening in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 18: 316-20.
46. Volta U, Molinaro N, De Franceschi L, Fratangelo D, Bianchi B. IgA antiendomysial antibodies on human umbilical cord tissue for coeliac disease screening. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1902-5.
47. Bürgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, Huber H, Lentze MJ, Nussle D, Reymond-Berthet C. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child* 1991; 66: 941-7.
48. Ferreira M, Lloyd Davies S, Butler M, Scott D, Clark M, Kumar P. Endomysial antibody: is it the best screening test for coeliac disease? *Gut* 1992; 33: 1633-7.
49. Rittmeyer C, Rhoeds MJM. IgA deficiency causes false negative endomysial results in Celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 23: 504-6.
50. Dolinšek J. Celiakija - nove diagnostične metode: protitelesa proti tkivni transglutaminazi. *Glasiilo Slovenskega društva za celiakijo* 1999; 6-7.
51. Brusco G, Izzi L, Corazza GR. Tissue transglutaminase antibodies for coeliac disease screening. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30: 496-7.
52. Collin P. Serologic screening for coeliac disease-time for tissue transglutaminase test? *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30: 498-9.
53. Shiner M. Small intestinal biopsies by the oral route. *J Mt Sinai Hosp* 1957; 24: 273-7.
54. Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *Br Med J* 1988; 297: 1646-9.
55. Thaysen THEH. Non-tropical sprue. Oxford: Oxford University Press 1932.
56. Ferguson A, Murray D. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human jejunum. *Gut* 1971; 12: 988-94.
57. Mičetić-Turk D, Vio PMA, Sinkovič K. Peroralna biopsija tankega črevesja pri otrocih. *Zdrav Vest* 1979; 48: 13-6.
58. Kuitunen P, Kosnai I, Savilahti E. Morphometric study of the jejunal mucosa in various childhood enteropathies with special reference to intraepithelial lymphocytes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1982; 1: 525-31.
59. Calvin RT, Klish WJ, Nichols BL. Disaccharidase activities, jejunal morphology and carbohydrate tolerance in children with chronic diarrhoea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1985; 4: 949-53.
60. Mäki M, Holm K, Collin P, Savilahti E. Increase of gamma/delta T cell receptor bearing lymphocytes in normal small bowel mucosa in latent coeliac disease. *Gut* 1991; 32: 1412-4.
61. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992; 102: 330-54.
62. Weizman Z, Ben-Zion YZ, Binsztok M, Maor E, Porath A. Correlation of clinical characteristics and small bowel histopathology in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24: 555-8.
63. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardised report scheme for pathologist. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1185-94.
64. Marsh MN. The mucosal pathology of gluten sensitivity. In: Marsh MN ed. *Coeliac disease*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1992: 136-91.
65. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *J Clin Pathol* 2005; 58: 573-4.
66. Kutlu T, Brousse N, Rambaud C, Le Deist F, Schmitz J, Cerf-Bennussan N. Numbers of T cell receptor (TCR) alpha beta+ but not of TCR gamma delta+ intraepithelial lymphocytes correlate with the grade of villous atrophy in coeliac patients on a long term normal diet. *Gut* 1993; 34: 208-14.
67. Ilanen S, Holm K, Ashorn M, Ruuska T, Laippala P, Mäki M. Changing jejunal gd T cell receptor (TCR)-bearing intraepithelial lymphocyte density in coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 51-5.

68. Ilтанen S, Holm K, Partanen J, Laippala P, Mäki M. Increased density of jejunal gammadelta+ T cells in patients having normal mucosa—marker of operative autoimmune mechanisms? *Autoimmunity* 1999; 29: 179–87.
 69. Cairo C, Arabito E, Landi F, Casati A, Brunetti E, Mancino G, Galli E. Analysis of circulating gammadelta T cells in children affected by IgE-associated and non-IgE-associated allergic atopic eczema/dermatitis syndrome. *Clin Exp Immunol* 2005; 141: 116–21.
 70. Kokkonen J, Holm K, Karttunen TJ, Mäki M. Enhanced local immune response in children with prolonged gastrointestinal symptoms. *Acta Paediatr* 2004; 93: 1601–7.
 71. Rolles CJ, Kyaw-Myint To, Wai-Kee S, Anderson CM. Family study of coeliac disease. *Gut* 1974; 15: 827.
 72. Stenhammar L, Brandt A, Wagemark J. A family study of coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1982; 71: 625–8.
 73. Dolinšek J, Urlep D, Karel K, Partanen J, Mičetić-Turk D. The prevalence of celiac disease among family members of celiac disease patients. *Wien Klin Wochenschr* 2004; 116: 8–12.
 74. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002; 50: 624–8.
 75. Mäki M, Holm K, Lipsanen V, Hällström O, Viander M, Collin P, et al. Serological markers and HLA genes among healthy first-degree relatives of patients with coeliac disease. *Lancet* 1991; 338: 1350–3.
 76. Liu J, Juo SH, Holpainen P, Terwilliger J, Tong X, Grunn A, et al. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 51–9.
 77. Sollid LM, Lie BA. Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 843–51.
 78. van Heel DA, Hunt K, Greco L, Wijmenga C. Genetics in coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 323–39.
 79. Sollid LM, Lundin KEA, Sjöström H, Molberg Ø, Thorsby E. HLA-DQ molecules, peptides and T-cells in coeliac disease. In: Mäki M, Collin P, Visakorpi JK, eds. *Coeliac disease*. Tampere: Coeliac Disease Study group; 1997. p. 265–74.
 80. Vidan-Jeras B, Jurca B, Dolžan V, Jeras M, Breskvar K, Bohinjec M. Slovenian Caucasian normal. In: Terasaki PI, Gjerston DW, eds. *HLA 1998*. Lenexa: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics; 1998. p. 180–1.
-