

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ÇÖLYAK HASTALARI VE KARDEŞLERİNDE IL-15 GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Yalçın KARA

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2015**

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ÇÖLYAK HASTALARI VE KARDEŞLERİNDE IL-15 GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Yalçın KARA

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI
Doç. Dr. Makbule EREN**

**ESKİŞEHİR
2015**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Yalçın KARA'ya “ Çölyak Hastaları ve Kardeşlerinde IL-15 Gen Polimorfizminin Araştırılması ” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:01/09/2015

Jüri Başkanı Prof. Dr. Birsen UÇAR
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. İnci Nur SALTİK TEMİZEL
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Makbule EREN
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCİ
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bana değerli bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren tüm hocalarıma, tezimin gerçekleşmesinde bana destek veren tez danışman hocam Doç. Dr. Makbule EREN'e teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen ve değerli katkılarda bulunan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda görev yapan Yrd. Doç. Dr. Oğuz ÇİLİNGİR ve doktora öğrencisi Serap ARSLAN'a teşekkür ederim.

ÖZET

Kara Y. Çölyak Hastaları ve Kardeşlerinde IL-15 Gen Polimorfizmi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2015. Çölyak hastalığı (ÇH) genetik olarak yatkın bireylerde, gluten içeren gıdaların alınması ile ortaya çıkan, kalıcı intolerans ile karakterize, immün mekanizma ile oluşan bir enteropatidir. IL-15, çölyak hastalığında, gluten ile tetiklenen immün reaksiyondan sorumlu, anahtar proinflamatuvar sitokindir. Bu durumdan yola çıkarak, IL-15 genindeki bazı genetik değişikliklerin, çölyak hastalığının riskini arttırdığını düşündük. Bu çalışmada birincil amaç olarak, IL-15 gen polimorfizminin, çölyak hastaları ve sağlıklı kardeşlerinde hastalık oluşturma etkisi araştırılmıştır. İkincil olarak da, IL-15 gen polimorfizminin, çölyak hastalığının prezentasyonuna etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmaya 90 çölyak hastası (49K/41E, median yaş:11) 38 çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleri (20K/18E, median yaş:8) ve 99 sağlıklı kontrol (66K/33E, median yaş:13) dahil edilmiştir. Çalışmaya katılanların, demografik özellikleri, tanı anındaki belirti ve bulguları, eşlik eden hastalık, ailede çölyak hastalığı öyküsü, histopatolojik evreleme, serolojik belirteçleri ve HLA doku tipleri kaydedilmiştir. Önceden belirlenmiş olan, IL-15'in rs2857261, rs10519613, rs1057972 polimorfizmleri PCR yöntemiyle çalışılmıştır. rs2857972 polimorfizminde GG genotipi, rs1057972 polimorfizminde TT genotipi, çölyak ailelerde kontrol grubuna oranla yüksek tespit edilmiştir [sırasıyla, % 41-%23 (p=0008), %36-%11 (p=0,001)]. Çölyak hastalarının 75'inin (%83), çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin 23'ünün (%61) HLADQ2'si pozitif saptanmıştır. Gruplar HLA-DQ2 durumlarına göre karşılaştırıldığında, homozigot HLA-DQ2 pozitif olanlarda, rs2857972 polimorfizminde GG genotipini odds oranı, çölyak hastalarında, sağlıklı kardeşlerden 1,5 kat daha yüksek tespit edilmiştir. Heterozigotlarda ise, rs1057972 polimorfizminde TT genotipinin odds oranı, sağlıklı kardeşlerde kontrol grubuna oranla 2,5 kat yüksek olduğu görülmüştür. Hastalık prezentasyonu ile IL-15 gen polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Sonuç olarak, bazı özel IL-15 gen polimorfizmleri, çölyak hastalarında, kontrol grubuna oranla yüksek tespit edilmiştir. IL-15'in çölyak hastalığındaki etkisinin, HLA-DQ2 pozitifliğine bağlı olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: çölyak hastalığı, IL-15, gen polimorfizmi

ABSTRACT

Kara Y. IL-15 gene polymorphism in celiac disease patient and their siblings, Eskişehir Osmangazi University Medical Faculty Department of Pediatrics, Eskişehir, 2015. Celiac disease is an immune mediated enteropathy which is triggered by gluten consumption in genetically susceptible individuals and characterized with lifelong gluten intolerance. Interleukin-15 (IL-15) is a potent proinflammatory cytokine that is considered a key component in the immune reaction triggered by gluten. In light of these findings we hypothesized that variations in the gene encoding IL-15, may influence the risk of celiac disease. The primary aim of this study was to evaluate the influence of IL-15 gene polymorphisms on celiac disease development, in celiac patients and their siblings. Our secondary aim was to evaluate the effect of possible IL-15 polymorphisms on clinical presentation of celiac disease. The study was enrolled-with 90 celiac disease patient (49 female/ 41 male, median years of age:11), their 38 siblings (20 female/18 male, median years of age:8) and 99 healthy controls (66 female/33 male, median years of age:13). Their demographic findings, initial symptoms and signs, the presence of celiac disease in their family, histopathological grade-serological markers and HLA types were recorded. Previously defined IL-15 gene polymorphisms rs2857261, rs10519613, rs1057972 were analysed through PCR. There was a significantly higher frequency of GG genotype in rs2857972 polymorphisms and TT genotype in rs1057972 polymorphism in celiac families compared to control groups [% 41 vs %23 (p=0008), %36 vs %11 (p=0,001) respectively] .75 (%83) of celiac disease patient and 23 (%61) of siblings were HLADQ2 pozitiv. When stratified according to their HLADQ2 status, rs2857972 GG polymorphism was found to be 1,5 times prominent in celiac patients compared to their siblings at homozygous state, whereas rs1057972 TT genotype was found to be 2,5 times prominent in celiac siblings at heterozygous state. There was no association between IL-15 gene polymorphisms and clinical presentation of celiac disease. As a result, some special IL-15 polymorphisms are more prominent in celiac families than healthy controls. However the impact of IL-15 gene polymorphism on celiac disease development is dependent on HLADQ2 status.

Key Words: celiac disease, IL-15, gene polymorphisms

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Çölyak Hastalığı	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3. Epidemiyoloji	4
2.1.4. Patogenez	10
2.1.5. Klinik Bulgular	19
2.1.6. Tanı	27
2.1.7. Ayırıcı Tanı	37
2.1.8. Komplikasyonlar	38
2.1.9. Tedavi	40
2.1.10. Prognoz	42
2.1.11. Korunma	42

	Sayfa
2.2. İnterlökin 15 (IL-15)	42
2.3. Polimorfizm	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
4. BULGULAR	57
5.TARTIŞMA	74
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR	84
EKLER	106
EK 1. KATILIMCI BİLGİ VE ONAM FORMU	106

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGA	Antigliadin Antikoru
ARA	Antiretikülin Antikoru
CH	Crohn Hastalığı
ÇH	Çölyak Hastalığı
DEA	Demir Eksikliği Anemisi
DGP	Deamide Gliadin Peptid
DM	Diabetes Mellitus
DTG	Doku Transglutaminazı
ELISA	Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
EMA	Endomisyum Antikoru
GİS	Gastrointestinal Sistem
GÖRH	Gastroözofajial Reflü Hastalığı
GWAS	Genom-Wide Association Studies
Hb	Hemoglobin
HLA	Human Leucocyte Antigen (İnsan lökosit antijeni)
IEL	İntraepitelyal Lenfosit
IL	İnterlökin
İBH	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
İBS	İrritabil Bağırsak Sendromu
İFN	İnterferon
MFH	Mononükleer Fagositik Hücreler
MHC	Majör Histokompatibilite Kompleks
NK	Natural Killer
NKG2A	Natural Killer Grup 2A
NKG2D	Natural Killer Grup 2D
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RA	Romatoid Artrit
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
ÜK	Ülseratif Kolit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Çölyak Hastalığı Patogenezi	10
2.2. Çölyak Hastalığının İmmünolojik ve Genetik Mekanizması	13
2.3. Çölyak Hastalığının Patolojisi ve IL-15	14
2.4. IL-15' in Çölyak Hastalığındaki Rolü	16
2.5. Çölyak Hastalığında Genetik Gelişmeler	19
2.6. Çölyak Hastalığı Buz Dağı Modeli	20
2.7. Sempotomatik Hastalarda Tanı Algoritması	27
2.8. Aseptomatik Hastalarda Tanı Algoritması	28
4.1. Çölyak Hastalarının Başvuru Belirti ve Bulguları	58

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Dünyadaki Çölyak Hastalığı Prevalansı	7
2.2. Ülkemizde Çölyak Hastalığı Prevalansı	9
2.3. Risk Gruplarında Çölyak Hastalığı Prevalansı	9
2.4. Tahılların Prolamin İçerikleri ve Toksisiteleri	11
2.5. Çölyak Hastalığının Klinik Tipleri	21
2.6. Çölyak Hastalığı Atipik Bulguları ve Eşlik Eden Hastalıklar	25
2.7. Serolojik Testler ve Özellikleri	31
2.8. Marsh Sınıflaması	33
2.9. Marsh-Oberhuber Sınıflaması	34
2.10. İntraepitelyal Lenfositöz (İEL) Yapan Sebepler	35
2.11. Villöz Atrofi, Düzleşme Yapan Sebepler	36
2.12. Çölyak Hastalığı İçin Skorlama Sistemi	37
2.13. Çölyak Hastalığı Ayırıcı Tanısında Düşünülmeli Gerekenler	38
2.14. Çölyak Hastalığında Görülen Komplikasyonlar	39
2.15. Çölyak Hastalığında Yeni Tedavi Modelleri	41
4.1. Grupların Demografik Özellikleri	57
4.2. Çölyak Hastaları ve Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşlerinin HLA Değerleri	59
4.3. Tüm Olguların IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Dağılımı	61
4.4. Çölyak ve Kontrol Grubunun IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Dağılımı	62
4.5. Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşlerinin ve Kontrol Gruplarının IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	63
4.6. Çölyak Hastaları ve Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşlerinin IL-15 Gen Polimorfizmlerini Karşılaştırılması	64

4.7. HLA Pozitif Çölyak Hastaları ve Sağlıklı Kardeşlerinin IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	65
4.8. Homozigot HLA Pozitif Çölyak Hastaları ve Sağlıklı Kardeşlerinin IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	66
4.9. Heterozigot HLA Pozitif Çölyak Hastaları ve Sağlıklı Kardeşlerinin IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	67
4.10. Erken Yaşta Tanı Alan Çölyak Hastalarının (≤ 2) IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	68
4.11. Tanı Yaşı ≤ 5 yaş Olan Hastaların IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	69
4.12. rs2857261 Polimorfizminin GG Genotipi ile Tanı Anındaki Belirti ve Bulgular Yönünden Karşılaştırılması	70
4.13. rs1057972 Polimorfizminin TT Genotipi ile Tanı Anındaki Belirti ve Bulguların Karşılaştırılması	71
4.14. Klasik ve Atipik Çölyak Hastalarının IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	72
4.15. Çölyak Hastalarının rs2857261 GG ve rs1057972 TT Polimorfizmlerinin Histopatolojik Evre Yönünden Karşılaştırılması (Marsh)	73

1.GİRİŞ

Çölyak hastalığı (ÇH), genetik olarak yatkınlığı olan bireylerde, gluten alımı ile ortaya çıkan, ince bağırsağın kronik inflamasyonu ile karakterize, çevresel ve genetik etkenler varlığında, immünolojik mekanizma ile gelişen otoimmün bir enteropatidir (1). Gluten buğday, arpa ve çavdar gibi tahıllarda bulunur ve çölyak hastalığının patolojisinden sorumlu bir dizi inflamatuvar sürecin ilk tetikleyicisidir (2).

Çölyak hastalığı, asemptomatik hastalıktan, çölyak krizine kadar çok geniş bir klinik yelpazeye sahiptir. ÇH, belirti ve bulguların prezentasyonuna göre, aşikar çölyak hastalığı, sessiz çölyak hastalığı, potansiyel çölyak hastalığı gibi gruplara ayrılır. Aşikar çölyak hastalığı ise, klasik çölyak hastalığı ve atipik çölyak hastalığı olarak iki gruba ayrılır. Klasik çölyak hastalığında, ishal, karın şişliği, büyüme geriliği gibi malabsorpsiyona bağlı gastrointestinal belirtiler ön plandadır ve daha küçük yaşlarda ortaya çıkar. Atipik çölyak hastalığı; boy kısalığı, tedaviye dirençli demir eksikliği anemisi, osteoporoz, puberte bozuklukları, dermatitis herpetiformis gibi daha çok gastrointestinal sistem dışı belirtilerle ortaya çıkar ve daha ileri yaşlarda görülür. Sessiz çölyak hastalığı; herhangi bir belirti ve bulgu olmaksızın, sadece risk grubundaki bireylerin (ailede çölyak hastalığı varlığı, Tip-1 diyabetes mellitus, tiroidit, Sjögren gibi otoimmün hastalık bulunması, Turner sendromu, Down sendromu) taranması sonucu tespit edilir ve asıl buzdağının altında kalan tespit edilmesi zor, geniş bir hastalık grubudur. Potansiyel çölyak hastalığı; çölyak hastalığı ile ilgili belirti ve bulguya sahip olmadan, serolojik ve genetik olarak, çölyak hastalığı ile uyumlu olup, histopatolojisi normal olan hastalık grubudur (3). Klinik prezentasyonu hangi grup olursa olsun, kesin tanısı serolojik ve genetik belirteçlerle birlikte, ince bağırsak biyopsisi ile konur. Halen günümüzdeki tek tedavi yöntemi ömür boyu diyetten glutenin çıkarılmasıdır (4).

ÇH'nin fizyopatolojisinde genetik, immünolojik ve çevresel mekanizmalar birlikte rol alır. Besinlerle alınan, tetikleyici faktör olan, toksik gliadin peptitleri, ince bağırsak submukozasında bulunan, doku transglutaminaz-2 enzimi ile deamine edilir. Oluşan proteolize dirençli deamine peptitler, antijen sunan hücreler tarafından, HLA-DQ2/DQ8 moleküllerine bağlanırlar. Oluşan kompleks, T hücrelerine sunulur ve CD4+T hücre cevabı oluşur. Meydana gelen güçlü hücre cevabı, başta interlökin-15

(IL-15), interlökin-10 (IL-10), interferon gamma (IFN- γ) olmak üzere birçok proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır. Bu durum, çölyak hastalığındaki temel histopatolojik bulgulardan sorumlu intraepitelyal lenfosit artışı, kript hiperplazisi ve villöz atrofiden sorumlu hücre hasarına sebep olur (5,6). Yapılan genetik çalışmalarda, insan lökosit antijenlerinden HLA-DQ2 ve DQ8'in çölyak hastalarının yaklaşık %95'inde pozitif olduğu saptanmıştır. Normal popülasyonda HLA-DQ2/DQ8 pozitifliği, yaklaşık %35-40 iken, çölyak hastalığının sıklığı, toplum ve coğrafik özelliklerle değişmekle birlikte, sadece % 0,5-1 civarındadır (3,7). Bu nedenle, HLA DQ2/DQ8 pozitifliğinin, çölyak hastalığındaki genetik mekanizmaların sadece % 40'undan sorumlu olduğu düşünülmüştür. Son zamanlarda insan genom çalışmalarında kaydedilen ilerlemeler sayesinde, çölyak hastalığından sorumlu birçok non-HLA gen "*locusları*" ve ilgili sitokinlerdeki özel "*single nükleotid polimorfizm*" (SNP) bölgeleri saptanmıştır (8,9). IL-15, çölyak hastalığındaki hücre hasarından sorumlu, hem doğal, hem de kazanılmış immünitede rol alan anahtar sitokindir. Çölyak hastalarında klinik ve histopatolojik olarak, hastalığın şiddetiyle korele olarak, hem serum IL-15 düzeyinin, hem de ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (10). Son dönemde yapılan bazı çalışmalarda ise, çölyak hastalığı ile ilişkisi bilinen, romatoid artrit, psöriazis gibi bazı otoimmün hastalıklarda, hastalığa özgü IL-15 polimorfizm bölgeleri bulunmuştur (11, 12).

Bu verilerden yola çıkarak, çölyak hastalarındaki artmış IL-15 aktivitesinin, hastalığa özgü gen polimorfizmlerinden kaynaklanabileceğini düşündük. Bu düşünceden yola çıkarak, çölyak hastalarında IL-15 gen polimorfizmlerini belirlemek, çölyak hastaları ile sağlıklı kontrol grubu ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleri arasındaki IL-15 gen polimorfizm farklılıklarını tespit etmek, ayrıca bu polimorfizmlerin, hastalığın prezentasyonuna, klinik belirti ve bulgularına, tanı yaşına, ince bağırsak hasarının derecesine etkisini araştırmak amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çölyak Hastalığı

2.1.1. Tanım

Çölyak hastalığı (ÇH), genetik olarak yatkınlığı olan bireylerde, gluten alımı ile ortaya çıkan, ince bağırsağın kronik enflamasyonu ile karakterize, patogenezinde immünolojik, genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu, otoimmün bir enteropatidir (1). Gluten buğday, arpa ve çavdar gibi tahıllarda bulunur ve çölyak hastalığının patolojisinden sorumlu bir dizi inflamatuvar sürecin ilk tetikleyicisidir (2). Bu hastalıkta, glutene karşı kalıcı intolerans olup, bu intolerans yaşam boyu devam etmektedir. Glutenin diyetten çıkarılması ile tam bir klinik ve histopatolojik düzelme olur. Çölyak hastalığı, birincil olarak ince bağırsağı etkilese de, birçok organ ve sistemi tutabilen, multisistemik ve multifaktöriyel bir hastalıktır (13). Çölyak hastalığı için, gluten sensitif enteropati, gluten enteropatisi, çölyak sprue terimleri de eş anlamlı olarak kullanılmaktadır (14).

2.1.2. Tarihçe

Çölyak hastalığının tarihçesinde, ülkemizin de içerisinde bulunduğu Orta Doğu ve Anadolu coğrafyası önemli bir yer tutmaktadır. Çölyak hastalığı, yaklaşık 10.000 yıl önce Mezopotamya'da tarım devrimi ile birlikte, tahılların insan diyetine girmesi sonucu ortaya çıkmış olan bir hastalıktır (15,16). Tarihte bilinen en eski tarım toplumu M.Ö 9500 yıllarında, Güney Anadolu'da Konya ovasına nazır buğday alanları ile, arkeolojik bir şehir olan ve 2012 yılı itibariyle, UNESCO'nun Dünya Miras Listesi'ne dahil edilen Çatalhöyük'tür (17,18). Çatalhöyük'teki kalıntılarda tahıl kullanımı ve ÇH ile ilişkili bulgulara rastlanılmıştır (19). Kapodokyalı bir fizikçi ve hekim olan Arateus ilk defa M.S. 1. yüzyılda, çölyak hastalığından bahsetmiştir. Arateus'un Yunanca eserinin, 1856'da Francis Adams tarafından İngilizceye, "The Extant Works of Arateus, The Cappadocian" adı ile çevrilmesiyle, literatürdeki yerini almıştır (20). Aynı eserin "On The Coeliac Affection" kısmında

bu hastalıktan, Yunanca'da karınla ilgili anlamına gelen, "koelia" kelimesinden türemiş ve genel belirtilerini, kronik ishal, karın şişliği ve ilerleyen aşırı zayıflık olarak nitelendirmiştir. Hastalığın bağırsak kaynaklı olduğunu belirten şekilde, "koiliakos" (bağırsakların zarara uğraması) olarak adlandırmıştır (21). Bununla birlikte çölyak hastalığının ilk modern klinik tanımını, 1888 yılında İngiliz pediatrist Samuel Jones Gee yapmıştır (22). 1908 yılında Amerikalı Doktor Christian Archibald Herter hastalığı, "intestinal infantilism" ismiyle, tanımlayıp bir kitap yazmıştır (23). 1924 yılında ise, pediatrist Sydney V. Haas muz diyetinin faydalarını göstermiştir (23). İkinci Dünya Savaşı döneminde, kıtlık sebebiyle fazla bulunmayan buğday, arpa ve çavdarın diyetle alınamaması ile çölyak hastası çocukların, sağlığında iyileşmeler olduğunu farkederek, Hollandalı pediatrist Willem Karel Dicke 1950'li yıllarda, hastalığın patogeneğinde, gluten isimli proteinin rolünü tanımlamıştır (16). 1954'de John W. Paulley ise bağırsaktaki, hastalıkla ilişkili, histopatolojik değişiklikleri, geniş düz villuslar ve ince bağırsak mukozasında, yoğun kronik lenfoepitelyal hücre infiltrasyonu olarak tanımlamıştır (24). Bu yeniliklerle birlikte, hastalığın tanı kriterleri ilk olarak, 1969 yılında Avrupa Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği (ESPGHAN) tarafından oluşturulmuştur. Bu kriterler 1990 yılında modifiye edilmiş ve son olarak 2012 yılında tekrar yenilenmiştir (27). Günümüzde ise ÇH ile ilgili çalışmalar, heryönüyle artarak, yoğun bir şekilde devam etmektedir. Mukozal hasarın derecelendirilmesi ise ilk defa Marsh tarafından yapılmıştır (24,25). 1986'da Howell ve arkadaşları, ÇH'nin spesifik HLA-DQ2 haplotipleri ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (26). 1990'lı yıllarda ise Dieterich çölyak tanısında, doku transglutaminaz enzimi üzerine dikkatleri çekmiştir.

2.1.3. Epidemiyoloji

Çölyak hastalığının etiopatogeneğinde, genetik, immünolojik ve çevresel etkenler birlikte rol aldığı için, hastalığın sıklığı, ülkeler, toplumlar, ırklar hatta aynı ülkedeki bölgeler arasında bile farklılıklar göstermektedir. Özellikle buğday tüketiminin yaygın olduğu, Ortadoğu, Avrupa, Avustralya ve Amerika'da ÇH daha sık görülürken, Çin, Japonya gibi buğday tüketiminin yaygın olmadığı Uzak Doğu

lkelerinde daha az sıklıkta görülmektedir (28,29). Her ne kadar bazı çalışmalarda, hastalık dağılımlında, cinsiyet arasında farklılık bulunmasa da, yapılan birçok çalışmada, kızlarda erkeklere oranla daha sık olduğu belirtilmiştir (29).

Çölyak hastalığının gerçek prevalansı, önceden tahmin edilenden çok daha yüksektir. Bunun sebebi önceleri serolojik ve genetik taramaların yapılamaması ve bu nedenle birçok vakaya tanı konamamasıdır. Son dönemde yoğun bir şekilde yapılan, H'nin patogenezi ve genetik mekanizması hakkındaki çalışmalar neticesinde, hastalığın tanı ve takibine yönelik, anti doku transglutaminaz antikorları (DTG IgA ve IgG), anti endomisyum antikorunu (EMA) ve HLA-DQ2/DQ8 gibi, yüksek özgüllüğe ve duyarlılığa sahip, serolojik ve genetik belirteçlerin kullanımı yaygınlaşmış, böylece daha önceden tanı konamayan, bir çok atipik ve sessiz lyak hastalarına tanı konabilir hale gelmiştir (30). Tüm dünyada ve ülkemizde, son dönemde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, H sıklığının, daha önceden bilinenden çok daha yüksek olduğu grlmştir (31).

Rutz ve arkadaşları İsviçre'de, 12-18 yaş arası 1450 sağlıklı öğrencide, H sıklığını, 1/132 gibi yüksek bir değerde bulmuştur. 20 yıl önce aynı bölgeden bildirilen verilere oranla, hastalığın sıklığı 20 kat daha yüksektir (32). Maki ve arkadaşları, Finlandiya'da 7-16 yaş arası sağlıklı 3654 ğrenci üzerinde yaptığı bir çalışmada, biyopsi ile kesin tanısı konan H sıklığını 1/99 olarak bildirmişlerdir (33). İtalya da ise 1996 yılında, 15 merkezli, 6-15 yaş grubunda 17201 ğrenci üzerinde yapılan çalışmada, H sıklığı, 1/210 olarak bildirilmiştir (34). Amerika da ise 2012 yılında, 7798 altı yaş üstü çocuklar ve erişkinlerle yapılan bir çalışmada, H sıklığının 1/142 olduğu gösterilmiştir (35). Tablo 2.1 'de tüm dünyada, H ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalar özetlenmiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda da, H sıklığının giderek arttığı bildirilmiştir. Demirçeken ve arkadaşlarının, Ankara'da hastaneye başvuran, sağlıklı 2-18 yaş arası, 1000 ocuk üzerinde yaptığı çalışmada, H sıklığını 1/111 olarak bildirmişlerdir (36). Ertekin ve arkadaşları, Erzurum da 6-17 yaş arası, 1263 okul ağı çocuğunda yaptıkları çalışmada, H sıklığını 1/115 olarak bulmuşlardır (37). Ülkemizde H ile ilgili, en geniş epidemiyolojik çalışma, 2011 yılında, Dalgıç ve arkadaşları tarafından, ülke genelinde 63 il ve 139 okulun katılımıyla, 6-17 yaş arası 20190 okul ağı çocuğunda yapılmıştır. Bu çalışmada biyopsi ile tanı konan lyak

hastalığı sıklığı, 1/212 olarak bildirilmiştir (38). Tablo 2.2’de ülkemizde ÇH ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalar özetlenmiştir.

Tüm dünyada farklı ülke ve toplumlarda yapılan çalışmalarda, risk grubu dışında hastalığın prevalansı yaklaşık % 0,5-1,3 olarak bulunmuştur (39-42). Fakat bu oran ÇH için risk taşıyan gruplarda çok daha fazladır. Çölyak hastalarının 1. dereceden yakınlarında prevalans yaklaşık %10, dizigotik ikizlerde %20, monozigotik ikizlerde % 86’ dır (40,43). Tip-1 diabetes mellitus, hipotiroidi, Ig-A eksikliği, Down Sendromu ve Turner Sendromu gibi, ÇH ile birlikteliği bilinen riskli hastalık gruplarında ise, hastalık prevalansı yaklaşık %10 olarak bildirilmiştir (40,44). Risk grubunda ÇH sıklığı ile ilgili yapılmış, epidemiyolojik çalışmalar, Tablo 2.3’ te özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Dünyadaki Çölyak Hastalığı Prevalansı

Ülke	Yıl	Çalışma Grubu	Sayı	Sıklık	Kaynak
ABD	2012	Çocuk-Erişkin	7798	1/141	35
Brezilya	2012	Erişkin (Kan vericiler)	4000	1/286	45
Belçika	2012	Çocuk-Adult(1-19yaş)	1159	1/114	46
İran	2012	Çocuk (Okul çağı)	634	1/200	47
Hindistan	2012	Erişkin (Kan vericiler)	1610	1/179	48
K. Amerika	2011	Erişkin	3850	1/126	49
Libya	2011	Çocuk (Okul çağı)	2920	1/127	50
Avrupa	2010	Çocuk-Erişkin	29212	1/100	51
İran	2010	Erişkin (Kan vericiler)	1600	1/114	52
Yunanistan	2007	Erişkin	2230	1/558	53
Tunus	2007	Çocuk (6-12 yaş)	6286	1/157	54
İran	2006	Erişkin	2799	1/104	55
Meksika	2006	Erişkin (Kan vericiler)	1009	1/137	56
Tunus	2006	Erişkin (Kan vericiler)	2500	1/355	57
Rusya	2006	Erişkin (Kan vericiler)	1740	1/142	58
Brezilya	2006	Erişkin (Kan vericiler)	3000	1/273	59
Portekiz	2006	Sağlıklı çocuklar	536	1/134	60

Tablo 2.1. “Devam” Dünyadaki Çölyak Hastalığı Prevelansı

İtalya	2006	13-90 yaş	1002	1/100	61
Finlandiya	2003	Çocuklar	3654	1/99	33
İngiltere	2003	Erişkin	7550	1/83	62
İsrail	2002	Erişkin (Kan vericiler)	1571	1/157	63
İsviçre	2002	Çocuk (11-18 yaş)	2000	1/132	32
İspanya	2002	Çocuk (Okul çağı)	3378	1/281	64
Avustralya	2001	Erişkin	3011	1/251	65
Danimarka	2001	Erişkin (Kan vericiler)	1573	1/394	66
İsveç	2001	Erişkin (Kan vericiler)	1866	1/373	66
Almanya	2001	Çocuk (5-12 yaş)	3004	1/500	67
Arjantin	2001	Erişkin	2000	1/167	68
İspanya	2000	Erişkin	1170	1/389	69
Macaristan	1999	Çocuk (3-6 yaş)	427	1/85	70
Sahra	1999	Çocuk	989	1/18	71
Norveç	1999	Erişkin (Kan vericiler)	2096	1/340	72
Hollanda	1999	Erişkin (Kan vericiler)	1000	1/333	73
Finlandiya	1998	Erişkin	1070	1/130	74
İtalya	1996	Çocuk	17201	1/210	34

Tablo 2.2. Ülkemizde Çölyak Hastalığı Prevelansı

Araştırmacı	Yer	Yıl	Grup	Sayı	Prevelans	Kaynak
Dalgıç ve ark.	Türkiye	2011	Sağlıklı okul çocukları	20190	1/212	38
Ertekin ve ark.	Erzurum	2005	Sağlıklı okul çocukları	1263	1/158	37
Demirçeken ve ark.	Ankara	2003	Sağlıklı çocuklar	1000	1/100	36
Karaaslan ve ark.	Ankara	2003	Kan vericiler	5054	1/140	75
Gürsoy ve ark.	Kayseri	2005	Sağlıklı çocuklar	906	1/100	76

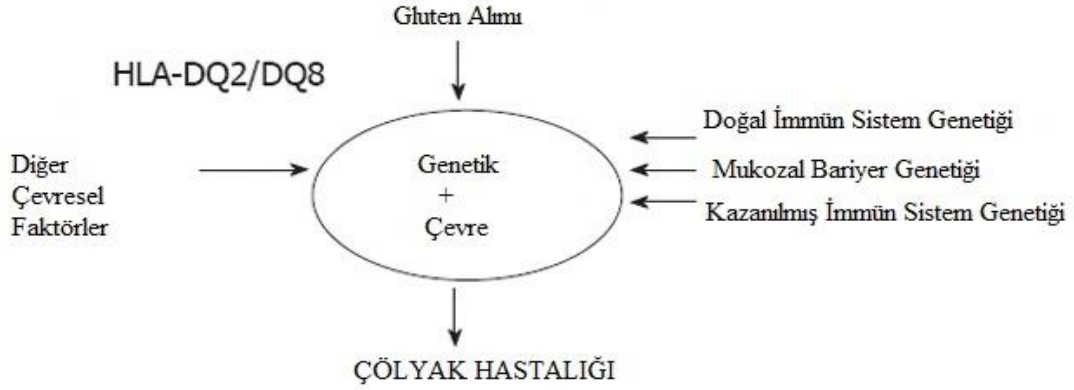
Tablo 2.3. Risk Gruplarında Çölyak Hastalığı Prevalansı

Araştırmacı	Yer	Yıl	Grup	Sayı	Prevelans	Kaynak
Sarı ve ark.	Ankara	2009	Tiroidit	102	54,9/100	77
Dalgıç ve ark.	Ankara	2006	Epilepsi	70	4,7/100	78
Kalaycı ve ark.	Samsun	2006	DEA	135	4,4/100	79
Ertekin ve ark.	Erzurum	2005	Tip-1 Diabet Mellit	74	13,5/100	37
Cogulu ve ark.	İzmir	2003	Down Sendromu	47	10,6/100	80
Altuntaş B ve ark	Ankara	1998	Boy Kısıklığı	47	55,3/100	81

DEA: Demir Eksikliği Anemisi

2.1.4. Patogenez

Çölyak hastalığı, patogenezinde genetik, immünolojik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldığı, multifaktöriyel ve multisistemik otoimmün bir hastalıktır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Çölyak Hastalığı Patogenezi

Çevresel Faktörler

Gluten; çölyak hastalığındaki, patolojiden sorumlu en önemli çevresel faktör ve bir dizi otoinflamatuar sürecin ilk tetikleyicisidir. Gluten buğday, arpa, çavdar gibi tahılların içerisinde bulunur. Gluten, gliadin ve glutenin olmak üzere iki kısımdan oluşur. Çölyak hastalığındaki enflamasyondan asıl sorumlu kısım, suda az çözünen bir prolamin olan, gliadindir. Arpada, hordein, çavdarda sekalin, yulaftaki avenin diğer prolamindir (82,83). Bu bileşiklerin toksiteleri içerdikleri, glutamin ve prolin oranlarına göre değişmektedir. Buğdayda bulunan gliadin, alkolde çözülebilen, glutamin ve prolinden zengin, peptit sekanslarının varlığı sebebiyle, en toksik prolamindir. Pirinç, mısır, karabuğday ve darı toksik değildir (83). Yulaf ise halen tartışmalıdır (84,85). Bazı çalışmalara göre güvenli, bazılarında ise toksiktir (85,87). Bazı çalışmalarda ise yulaftaki toksisitenin, üretim ve dağıtım aşamasında diğer tahıllarla olan kontaminasyondan kaynaklandığı belirtilmiştir (86,87). Bazı tahılların, prolamin içerikleri ve toksisiteleri Tablo 2.4' te verilmiştir (88).

Tablo 2.4. Tahılların Prolamin İçerikleri ve Toksisiteleri

Tahıl	Prolamin	İçerik	Toksisite
Buğday	Gliadin	%36 G, %17-23 P	+++
Arpa	Hordein	%36 G, %17-23 P	++
Çavdar	Sekalin	%36 G, %17-23 P	++
Yulaf	Avenin	Yüksek G, Düşük P	+
Mısır	Zein	Düşük G, P -	
Pirinç	Orzenin	Düşük G, P -	

G: Glutamin, P: Prolamin

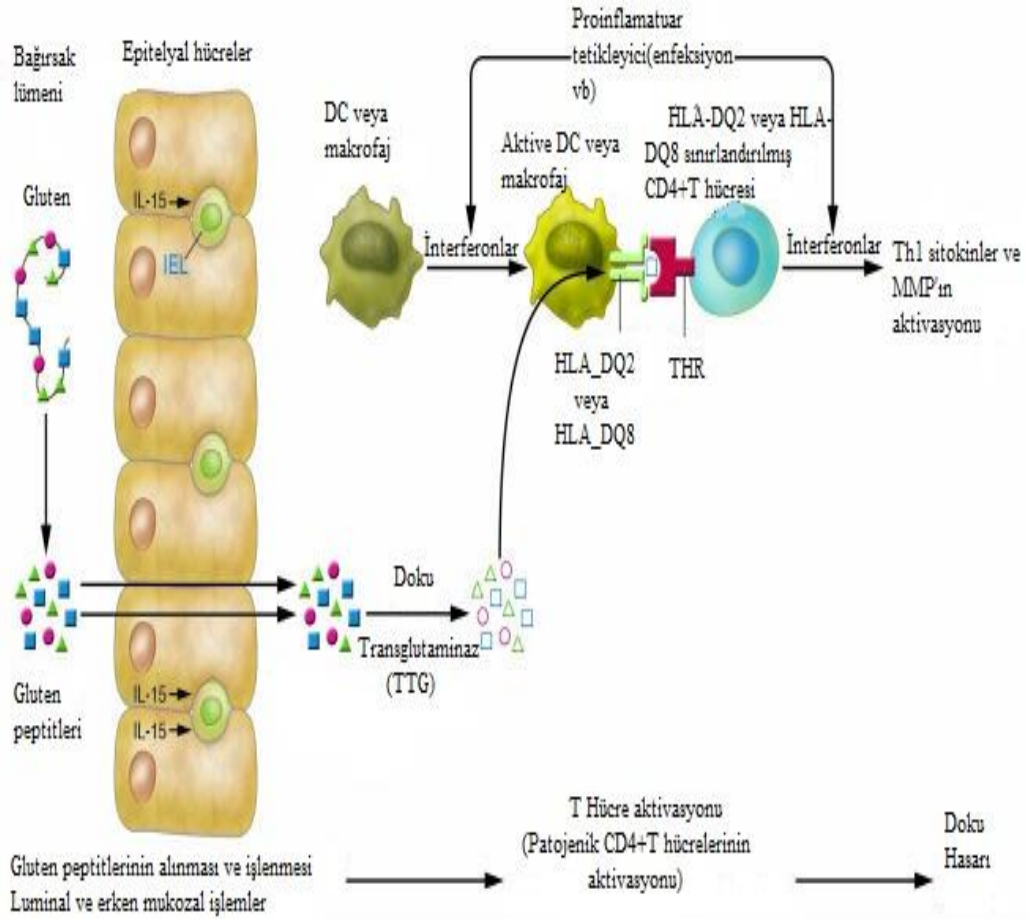
Çölyak hastalığının patogenezinde gluten dışında, viral enfeksiyonlar, intestinal mikrobiyota, gebelik, stres, emzirme süresi, glutenle ilk tanışma zamanı gibi çevresel faktörlerin de etkili olabileceği belirtilmiştir. Enfektif etkenlerden özellikle rotavirüs, adenovirüs tip-7 ve herpes virüs tip-1'in, gliadine benzeyen aminoasit dizilimine sahip olması sebebiyle, ÇH için tetikleyici faktör olabileceği vurgulanmıştır (89,90). Son dönemde yapılan mikrobiyota çalışmalarında, diyet altındaki çölyak hastaları ve kontrol grubunun, gaita ve duodenal biyopsi örneklerinde intestinal floraları karşılaştırılmış, özellikle, Bifidobacterium, Bacteroides, Staphylococcus, Clostridium, Lactobacillus, ve Escherichia coli suşlarının, farklı dağılımlar gösterdiği görülmüştür. Bu da intestinal mikrobiyotanın, hastalık oluşumunda etkili olabileceğini düşündürmüştür (91-94). Bazı çalışmalarda ise gebelik süresinin, şeklinin, özellikle sezeryan doğumların ÇH'da etkili olduğu öne sürülmüştür. Fakat bu hipotezin, daha geniş çalışmalara ve meta analizlere ihtiyaç duyduğu belirtilmiştir (95). Anne sütünün, emzirme süresinin ve gluten ile tanışma zamanının, çölyak hastalığı üzerine etkileri hakkında, birçok çalışma ve farklı görüşler mevcuttur (96). Norris ve arkadaşları, 2005 yılında yaptıkları prospektif çalışmada, 3 aydan önce glutenle karşılaşanların, 4-6. aylar arasında karşılaşanlara göre, ÇH risklerinin, 5 kat daha yüksek olduğunu ve 12 aydan daha uzun emzirmenin etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (97). Ivarsson ve arkadaşları, 2013 de yaptıkları literatür tarama çalışmasında, anne sütü ve erken gluten ile karşılaşmanın, ÇH'den koruyucu olabileceğini vurgulamışlardır (98). 2014 yılında, Walender ve arkadaşları, prospektif kohort çalışmalarında, uzun dönem emzirmenin

ve glutenle karşılaşma zamanının, ÇH üzerine etkisinin olmadığını, belirtmişlerdir (99). Bu çalışmalar ışığında "ESPGHAN" , glutenle ilk tanışmanın, 17. haftadan daha önce ve 26. haftadan daha sonra olmaması gerektiğini, 4 ve 7. aylar arasında olması gerektiğini, anne sütüne devam etmekle birlikte, uzun süre emzirmenin, koruyucu etkisinin olmadığını belirtmiştir (96,100).

İmmünolojik Faktörler

Çölyak hastalığının patogeneğinde, genetik faktörler, doğal ve kazanılmış immün faktörler, iç içe girmiş olup birbirini tamamlayan yollar şeklinde, birlikte yer almaktadır(5). İntestinal epitel, normal koşullarda, hücrelerarası sıkı bağlantılarıyla, gluten proteinleri gibi makromoleküllerin geçişinin önündeki temel koruyucu bariyerdir. Çölyak hastalarında, paraselüler geçirgenlik artmakta ve hücreler arası sıkı bağlantılarda çözülme olmaktadır. Zonulin ise, bir intestinal peptid olup, çölyak hastalığındaki, artmış geçirgenlikten sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bu artmış geçirgenlik sayesinde, gluten submukozaya geçer (101). Burada bulunan, doku transglutaminazı-2 (DTG-2) enzimi, gluten peptitlerini deamidasyona uğratarak, negatif yüklü glutamik asit kalıntılarına çevirir. Bu deamide peptidler doğal gluten peptidlerinden daha antijeniktir ve daha yüksek bir afinite ile HLA-DQ2 ve HLADQ8'in bağlanma kısımlarına yapışırlar(87). HLA-DQ2/8 ile birleşen deamine peptitler, antijen sunan hücreler tarafından, CD4+T lenfositlere sunulur ve güçlü bir inflamatuvar cevap oluşturulur. Bu immün cevap sırasında, anti-DTG ve antiendomiyal antikor formundaki otoantikorlar üretilir (76). Bu antikorların varlığı, ÇH'nin özel bir göstergesidir. Daha sonra CD4+T lenfositler, lamina propriyayı işgal ederler ve interferon- γ (IFN - γ) gibi Th-1 sitokinlerinin salınımına sebep olurlar. Salınan sitokinler (IL-2, IL-6, IL-10, TNF- α), lamina propriyadaki mononükleer hücrelerden matrix metalloproteinazların salınmasına neden olarak, çölyak hastalığındaki karakteristik villoz atrofi ve kript hiperplaziden sorumlu, hücre hasarını meydana getirirler (87). Eş zamanlı olarak, CD4+T lenfositler, Th-2 sitokinlerinin salınımını da arttırarak, B hücre aktivasyonuna sebep olurlar. Aktive olan B hücreleri, plazma hücrelerine dönüşürler. Bu hücrelerden antigliadin ve antidoku transglutaminaz antikorları salınır. Oluşan bu antikorlar, ekstraselüler

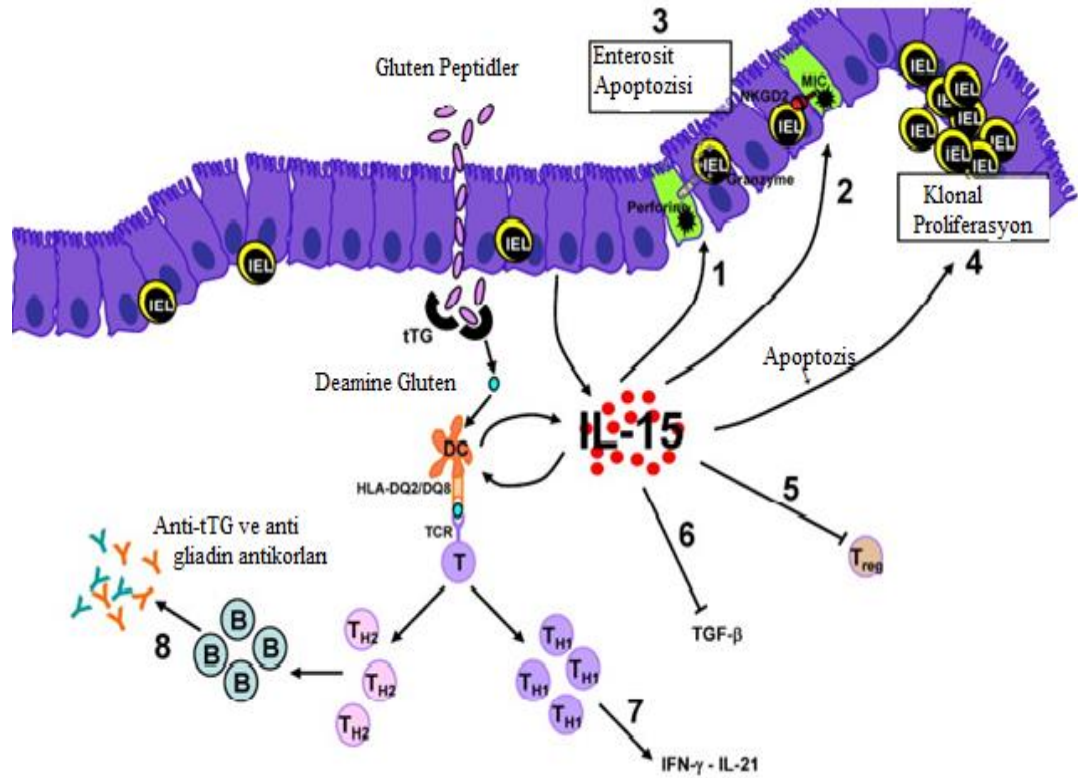
mebrana bağlı bulunan doku transglutaminazlarla birleşir. Oluşan kompleks bazal membrana çöker, böylece enterositin iskelet yapısı değişir ve epitelyal hasar oluşur. Bu da çölyak hastalığının diğer karakteristiği olan, CD8+T aracılı intraepitelyal lenfosit artışına sebep olur. Lamina propriyanın CD4+T lenfositler ve intestinal epitelin CD8+T lenfositler tarafından istila edilmesi, aktif ÇH'nin önemli bir özelliğidir. Görüldüğü üzere, çölyak hastalığının patogenezinde, hem HLA tipine spesifik olan kazanılmış immün yanıt, hem de HLA tipinden bağımsız olan doğal immün yanıt rol alır (Şekil 2.2) (102). IL-15 ise bu doğal ve kazanılmış immün yanıt arasındaki bağlantıyı sağlayan ve her ikisinde de görev alan anahtar sitokindir (103,104).



Şekil 2.2. Çölyak Hastalığının İmmünolojik ve Genetik Mekanizması (102)

IL-15'in, çölyak hastalarında hem intestinal epitelde, hem de lamina propriyada artmış olarak tespit edilmesi, hem kazanılmış, hem de doğal immün yanıtta rol alması, ince bağırsağın hemostazisinden sorumlu, temel sitokin olması sebebiyle, birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. IL-15'in ÇH'nin

patogenezindeki anahtar rolünün anlaşılmasından sonra, hem IL-15'in serum düzeyi, dokulardaki ekspresyonu, hem de mekanizması ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Hmıda ve arkadaşları, 2012'de yaptıkları çalışmalarında, aktif çölyak hastalarında, hem serum IL-15 seviyelerinin, hem de duodenal biyopsilerdeki IL-15 ekspresyonunun, kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (105). Tuomo ve arkadaşları ise 2012 yılında Finlandiya'da yaptıkları bir çalışmada, duodenum biyopsilerinde, IL-15 ve FasL ekspresyonunu ÇH'da yüksek olduğunu saptamışlardır (106). IL-15'in nasıl ve hangi yolları kullanarak, çölyak hastalığındaki patogenezden sorumlu olduğuna yönelik birçok mekanizma ve görüş mevcuttur (Şekil 2.3). Bu mekanizmalar şu şekilde özetlenmiştir:



Şekil 2.3. Çölyak Hastalığının Patolojisi ve IL-15 (105)

- 1-) Lamina propriadaki artmış IL-15 ekspresyonu, inflamatuvar T hücreler aracılığıyla, dendritik hücrelerin glutene olan toleransını bozmakta ve glutene olan antijenik cevabı arttırmaktadır (10).
- 2-) IL-15, Foxp3+T hücrelerin regülasyonunu ve reseptörler arasındaki sinyal iletimini düzenler. Çölyak hastalığında ise artmış IL-15 ekspresyonu, enterositlerde

Foxp3+T regulasyonunu arttırarak, CD8+T hücreleri aracılığıyla, inflamasyon cevabının artmasına sebep olur (10).

3-) Artmış IL-15 üretimi, CD8+T lenfositlerin yüzeyindeki “*naturel killer*” (NK) resöptörlerini aktive ederek, T hücrelerine NK benzer özellik kazandırır ve bağırsak hasarına sebep olur (10,87).

4-) IL-15, IL-2 ile birlikte, “*lymphokine-Activated Killer Cells*” (LAK) olarak bilinir. Çölyak hastalarında, naturel killer grup-2A (NKG2A), naturel killer grup-2D (NKG2D), ve naturel killer grup-2C (NKG2C) isimli T hücre reseptör proteinlerinin transkripsiyonunu ve sinyalizasyonunu arttırarak, naturel killer hücrelerinin aktiflenmesini ve hücre hasarını oluştururlar (10, 108, 109).

5-) Aynı zamanda IL-15, “*human major histocompatibility complex class-I chain-related gene-A*” (MICA) ekspresyonunu arttırarak, sitotoksik T hücrelerdeki, NKG2D ve MICA arasındaki regülasyonu arttırır (Şekil 2.4)(10, 108).

6-) Çölyak hastalarının intestinal mukozalarında artmış olan IL-15 ekspresyonu, “*transforming growth faktörü-β*” (TGF-β) ‘nın mukozal T hücre sinyal iletimini bozar, bu sinyal iletiminin bozulması ise kontrol dışı, sürekli olan bağırsak enflamasyonuna sebep olur (10).

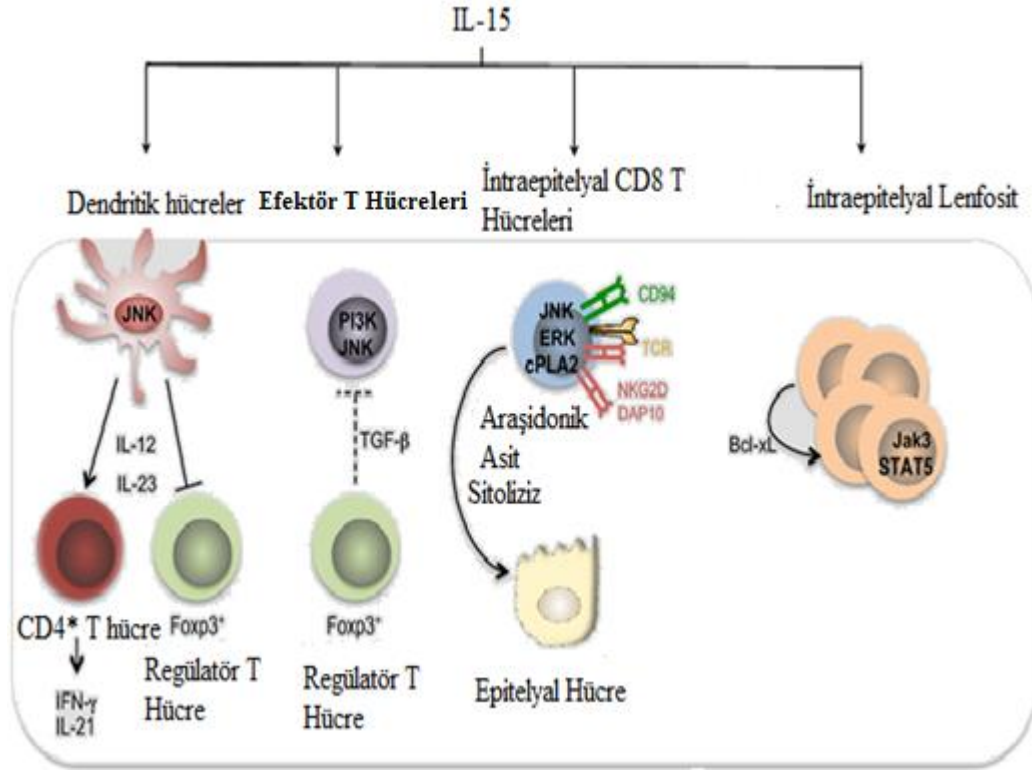
7-) İntraepitelyal lenfositlerde artmış olan IL-15, buradaki CD-94 ekspresyonunu indükler, ayrıca enterositlerdeki ölüm reseptörlerinin prototipi olan FAS ekspresyonunu uyararak enterosit apoptozisini başlatır (10).

8-) Refrakter çölyak hastalarında, IL-15’in çok yüksek seviyelerde eksprese edildiği görülmüştür. İntestinal epitel ve intraepitelyal lenfositlerdeki, çok yüksek IL-15 düzeyleri, JAK3 ve STAT5 fosforilasyonunu artırarak, anti-apoptotik kaskadı aktive eder ve çölyak hastalarında en çok korkulan komplikasyon olan lenfoma gelişimine sebep olur (110, 111).

9-) Günümüzde halen çölyak hastalarında, IL-15’ in ekspresyonundan sorumlu, genetik mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır. Çölyak hastalarında IL-15 ile beraber rol alan ve yapı bakımından benzerlik gösteren IL-2 ve IL-21’i eksprese eden özel gen lokusları ve SNP bölgeleri gösterilmiştir. Bu da çölyak hastalarında IL-15’i eksprese eden özel genetik “*locusların*” olabileceğini düşündürmektedir (112) .

10-) Ayrıca 2006 yılından sonra, dünyada artan genom çalışmaları sayesinde, ÇH ve birçok otoimmün hastalık arasında, içlerinde IL-15’in ekspresyonundan sorumlu

genlerin de dahil olduğu, birçok ortak gen bölgesi bildirilmiştir. Bu da IL-15 ile ilgili daha fazla genetik çalışma yapılmasına öncülük etmiştir (113).



Şekil 2.4. IL-15'in Çölyak Hastalığındaki Rolü (10)

Genetik Faktörler

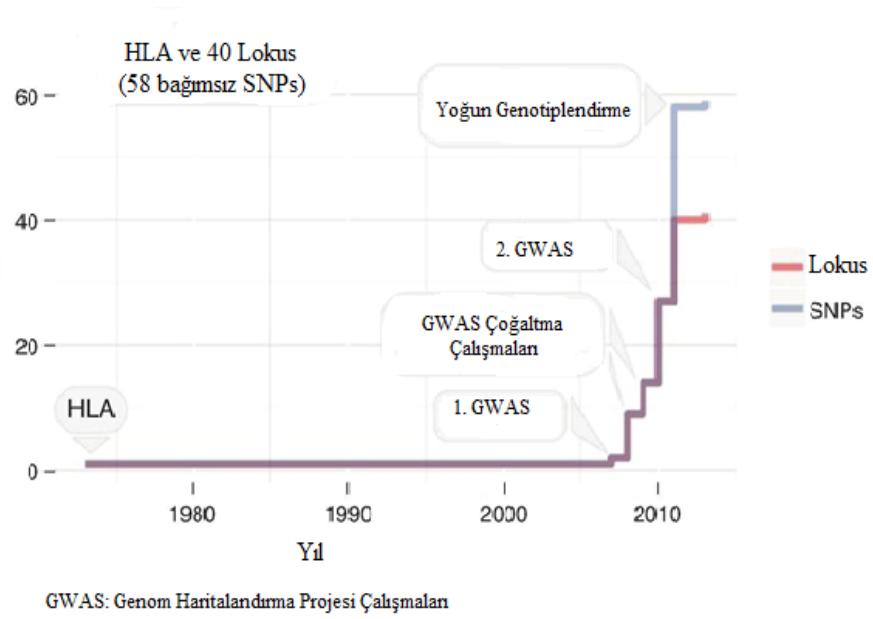
Çölyak hastalığı, genetik kalıtımında birçok faktörün rol aldığı, multigenik bir hastalıktır. Sınıf-II HLA molekülleri genetik yatkınlığın %40'ını oluşturur. HLA proteinlerinin varlığı hastalığın gelişimi için gereklidir ancak yeterli değildir. HLA olmayan çeşitli genler de ÇH için genetik riske ilave katkıda bulunurlar (114). ÇH bulunan kişilerin yaklaşık %90'ı HLA-DQ2, yaklaşık %5'i ise, HLA-DQ8 olarak adlandırılan genetik bulguya sahiptir. HLA kompleksinin, yüksek derecede polimorfik kromozom 6p21'in 4Mb bölgesinde 200'den fazla gen ve 3000'den fazla bilinen alleli mevcuttur (115). HLA sınıf-II molekülleri, ekzojen peptid antijenlerinin T hücrelerine sunulmasında görev alırlar (116,117). HLA-DQ2 kompleksi basit tek bir yapı olmayıp, birçok heterodimer bölgelerinin çeşitli kombinasyonlarıyla oluşur.

Yapılan çalışmalar DQ2 molekülleri arasında, özellikle HLA-DQ2(A1*0501,B1*0201) heterodimerini kodlayan HLA-DQA1*0501 ve DQB1*0201'in kombinasyonunun, ÇH için en yüksek riske sahip kombinasyon olduğunu göstermiştir (118). Bu heterodimer cis (bir altünite maternal, biri de paternal haplotiplerden gelir) veya trans (aleller aynı haplotip üzerindedir) olarak kodlanabilir (119). Vader ve ark. tarafından yapılan in vitro çalışmada, proliferasyon düzeyi ve gluten-reaktif T hücre klonlarının sitokin cevaplarının, DQ tipine ve gen dozuna bağlı olduğu görülmüştür (120). Bu araştırma, T hücre cevabının DQ2-5 homozigotları için en yüksek, DQ2-5/2-2 için orta derecede, DQ2-5/x heterozigotlar için düşük ve DQ2-2 için en düşük olduğunu göstermiştir. HLA-DQ2-5 molekülü cis veya trans formunda kodlanır.

Çölyak Hastalığı ve HLA Polimorfizmleri

HLA genlerinin hastalığa yatkınlıkta önemi açıkça kanıtlanmış olup, HLA tiplemesinin hastalığın belirli klinik durumlarda belirlenmesi için faydalı bir test olduğu kabul edilmektedir. Çölyak hastalarının yaklaşık %95'i serolojik olarak, çeşitli heterodimer ve allel kombinasyonuna sahip DQ2 pozitifliğine sahiptir. DQ2'nin yapısındaki farklı heterodimer kombinasyonlarının, klinik ve fenotip olarak farklı çölyak hastalığı tipleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. (DQA1*05:01, DQB1*02:01) kombinasyonu, DQ2-5 olarak adlandırılır ve ÇH için en yüksek riske sahip HLA-DQ2 heterodimeridir. DQA1*0201 ve DQB1*0202 tarafından oluşturulan HLA-DQ2 molekülü HLA-DQ2-2 olarak ifade edilir ve HLA-DQ2-5'e göre daha düşük çölyak hastalığı riskine sahiptir (121). Gen dozu ve aralarındaki cis, trans bağlantı şekli de ÇH'ye yatkınlığı etkiler. Örnek olarak HLA-DQ2 için homozigotluk varlığında, heterozigotluktan en az beş kat daha yüksek riskle hastalık gelişir. Homozigotlardan DQB1*02 ve DQA1*05'i her iki kromozomda cis formunda bulunduran veya ikinci bir DQB1*02 aleli diğer haplotipte taşıyanlar hastalık için daha büyük risk taşırlar (122). Hastalığa yatkınlığın yanında, belirli HLA alellerinin varlığı, hastalığın klinik fenotipini de belirler. Mesela HLADQB1*0201 homozigotluğu ciddi intestinal hasara neden olur (123,124). DQ2 homozigotluğu da bir kişide ÇH'nin erken yaşta gelişmesinin sebebidir (46,47). HLA-DQ2

homozigotluğu ile inatçı ÇH ve tip-II enteropati ilişkili T-hücre lenfoma gelişimi arasında yakın ilişki vardır. HLA-DQ2 homozigotluğunun erken yaşta belirlenmesi, bu tip ciddi komplikasyonların gelişmesini önler (125). Tüm bu bilgilere rağmen, HLA risk faktörleri, hastalığa genetik yatkınlıktan tamamen sorumlu değildir. Sadece iki molekül (DQ2 ve DQ8) içeren yatkınlık modeli tüm gözlemleri açıklayamaz ve daha karmaşık bir model önerir. HLA açısından birbirinin aynısı kardeşlerde hastalık uyumu sadece %30'dur ve bu da monozigotik ikizlerde görülenden çok daha azdır. HLA genleri bu yüzden önemlidir ancak ÇH'ye yatkınlığa neden olma açısından yeterli değildir. ÇH için, DQ2 ve DQ8 molekülleri, yüksek derecede duyarlılığa, fakat zayıf özgüllüğe sahiptir ve bu yüzden pozitiflik durumu daha az önem taşımaktadır. HLA tiplendirmesi ÇH için riski belirlemede iyi bir yoldur, fakat hastalığın gerçek/gelecek derecesini belirlemede yeterli değildir. Genel popülasyonda HLA-DQ2/DQ8 prevalansı yaklaşık %30-40 oranında olmasına karşın, ÇH prevalansı, bunun çok çok altında olup, yaklaşık %0,5-1,4'tür. Bu da çölyak hastalığında HLA dışında mevcut olan, non-HLA genetik faktörlerin varlığını zorunlu kılmıştır. Özellikle 2006 yılından sonra, genom çalışmalarındaki "(genom-wide association studies)"(GWAS) gelişmelerden sonra, birçok otoimmün hastalıkta olduğu gibi, ÇH ile ilgili birçok genetik çalışma yapılmıştır. 2006 yılından önce daha çok, HLA genleri üzerinde durulurken, genom haritalama çalışmalarıyla birlikte, non-HLA gen bölgeleri ve "single nükleotit polimorfizmler" (SNP) üzerindeki çalışmalar artmıştır. Çölyak hastalığı ile ilgili, ilk GWAS çalışması, 2007 yılında Van Heel ve arkadaşları tarafından, 778 çölyak hastası ve 1422 kontrol hastası üzerinde yapılmış ve ÇH ile ilişkili 13 non-HLA gen "locusu" ve SNP tanımlanmıştır (126). 2009 yılında Dubois ve arkadaşlarının, 4500 çölyak hastası ve 11000 kontrol grubu arasında yaptıkları çok merkezli çalışmada ise, ÇH ile ilgili, yeni 13 gen "locusu" daha tanımlanmış, non-HLA "locus" sayısı 26'ya çıkarılmıştır (127). 2012 yılında Trynca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, ÇH ile ilgili 40 non-HLA "locus" ve 59 özel SNP tespit edilmiştir (Şekil 2.5) (87,128). Eş zamanlı olarak bulunan bu yeni non-HLA gen "locuslarının", romatoid artrit, Tip-1 DM, otoimmün hipotiroidi, psöriazis, SLE, multiple skleroz gibi birçok otoimmün hastalıkta da ortak rol aldıkları görülmüştür (128).



Şekil 2.5. Çölyak Hastalığında Genetik Gelişmeler

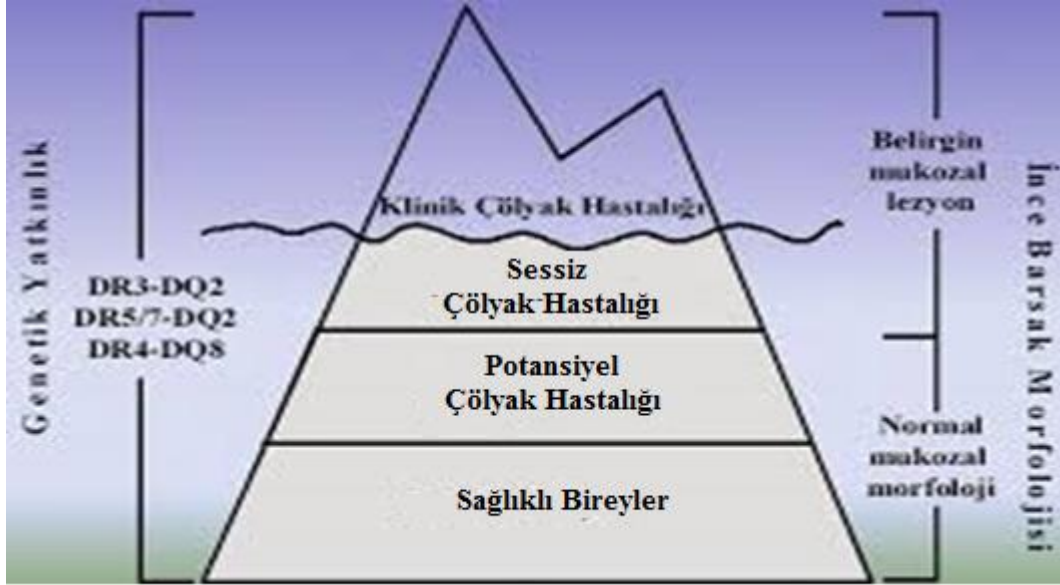
Çölyak ile ilgili yeni bulunan non-HLA genlerin bazıları şunlardır: "*CELIAC2, CELIAC3 (CTLA4, CD28 VE ICOS), CELIAC4 (MYO9B), CELIAC5, CELIAC6 (IL2, IL21), CELIAC7 (RGS1), CELIAC8 (IL18R1, RAGAP), CELIAC9 (CCR1, CCR2, CCR3 VE CCR5), CELIAC10 (IL12A), CELIAC11 (LPP), CELIAC12 (TAGAP), CELIAC13 (SH2B3)*" .

Yapılan yeni çalışmalarda, ÇH patogenezinin sorumlu olan, IL-2, IL-2A, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- γ , gibi sitokinlerle ilişkili, hem özel genetik "*locuslar*", hem de özel SNP yapıları gösterilmiştir. Çölyak hastalığının patogenezinde anahtar rol oynayan IL-15 ile ilgili, diğer otoimmün hastalıklarla ortak özel gen "*locusları*" tespit edilmiştir (128,129).

2.1.5. Klinik Bulgular

Çölyak hastalığı, multisistemik tutulum gösteren bir otoimmün hastalık olması sebebiyle, asemptomatik sessiz hastalıktan, çölyak krizine kadar değişebilen, çok geniş bir klinik yelpazeye sahiptir. İshal, karın şişliği, karın ağrısı gibi tipik hastalık bulgularının yanında, boy kısalığı, dirençli anemi, döküntü gibi atipik hastalık bulgular da bu klinik yelpazenin içinde yer alır. Son dönemde, tipik bulgulardan daha çok, atipik bulgularla prezente olan hasta sayısında artış

görülmektedir. Çölyak hastalığının patogenezinin daha iyi anlaşılması, ÇH ile ilgili serolojik ve genetik testlerin güvenilirlik ve yaygınlığının artması, hafif bulguları olan hastaların tanı alabilmesi ve toplum taramaları ile asemptomatik olguların saptanması sonucu hastalık, klinik olarak çok farklı gruplara ayrılmıştır. Bu gruplar bir ‘buz dağı’ modeline benzetilmiştir (Şekil 2.6) (130-132).



Şekil 2.6. Çölyak Hastalığı Buz Dağı Modeli (130)

Birçok epidemiyolojik çalışma göstermiştir ki; daha az klinik bulgu veren durumlar (sessiz, potansiyel ve gizli çölyak) kliniği aşikar olanlardan çok daha fazladır (133). Buna göre ÇH'nin klinik spektrumu 4 farklı formda incelenebilir (Tablo 2.5) (131,133,134).

Tablo 2.5. Çölyak Hastalığının Klinik Tipleri (131,133-134)

Grup	Tanım ve Özellikler
Aşıkır Çölyak Klasik Çölyak Atipik Çölyak	Klinik: Tipik hastalık belirtileri (+) Seroloji: (+) Genetik: HLA-DQ2/DQ8 (+) Histopatoloji: Tipik histolojik bulgular (+) Klinik: Atipik hastalık belirtileri (+) Seroloji: (+) Genetik: HLA-DQ2/DQ8 (+) Histopatoloji: Tipik histolojik bulgular (+)
Sessiz Çölyak	Klinik: Belirti ve bulgu yok Taramada saptanırlar. Seroloji: (+) Genetik: HLA-DQ2/DQ8 (+) Histopatoloji: Tipik histolojik bulgular (+)
Potansiyel/ Gizli Çölyak	Klinik: Belirti ve bulgu yok Seroloji: (+)Genetik: HLA-DQ2/DQ8 (+) Histopatoloji: (-)

Aşikar Çölyak Hastalığı

Klasik Çölyak Hastalığı

Yaşamın daha çok erken çocukluk döneminde ortaya çıkan, gastrointestinal sistem belirtileriyle karakterize, çölyak formudur. Hastalar kronik ishal, iştahsızlık, karın şişliği, karın ağrısı, kusma, büyüme geriliği, kas zayıflığı ve huzursuzluk belirtileri ile gelirler. Tanı gecikir ve gluten alımı devam ederse ciddi malnütrisyon, hatta kaşeksi gelişebilir. Daha çok anne sütünün kesilip, glutenin diyeteye girmeye başladığı, 6-18 aylarda belirti vermeye başlar ve en sık tanısı, 1-5 yaşlarında konur. Daha büyük çocuklar kronik ishal yanı sıra bulantı, kusma, karın ağrısı, karında gaz, kilo kaybı, kabızlık ve aftöz stomatit gibi belirtilerle başvurabilirler. Çölyaklı infant ve çocuklarda içine kapanıklık, huzursuzluk, huysuzluk ve mutsuzluk gibi davranış değişiklikleri sık görülür. Çölyaklı çocukların %25'i rikets bulguları ile başvurabilir. Çok ciddi şekilde etkilenmiş infantlarda çölyak krizi gelişebilir. Günümüzde çok nadir görülen bu akut sendrom patlayıcı tarzda sulu ishal, belirgin karın distansiyonu, dehidratasyon bulguları, hipotansiyon, letarji ve tehlikeli potasyum düşüklüğünü içeren ciddi elektrolit dengesizliği şeklinde bulgu verir (133-136).

Atipik Çölyak Hastalığı

Genellikle büyük çocuk ve yetişkinlerde görülen atipik ÇH, tipik gastrointestinal belirti ve bulguları göstermez. Boy kısalığı, dirençli demir eksikliği anemisi, osteoporoz, gecikmiş puberte, karaciğer fonksiyonlarında bozukluk, dermatitis herpetiformis, artrit, kardiyomiyopati, nörolojik ve psikiyatrik bozukluklar, infertilite ve tekrarlayan spontan düşüklükler de atipik ÇH'nin GİS dışı belirti ve bulgularını oluştururlar. Hastalar tekrarlayan karın ağrısı, bulantı, kusma, karında gaz, irritable bağırsak hastalığını (İBS) düşündüren dispeptik yakınmalar, gastroözofajial reflü (GÖR), diş mine tabakası bozuklukları ve tekrarlayan aftöz stomatit gibi olağan dışı gastrointestinal sistem belirti ve bulgularıyla gelebilirler (130,133-136). Bunlar Tablo 2.6'da özetlenmiştir (137). Özellikle oral demir tedavisine dirençli demir eksikliği anemisi, ÇH'nin en sık görülen GİS dışı bulgusudur (101,130,132,135). Bazı çalışmalarda, subklinik çölyak hastalarının

%46'sında demir eksikliği anemisi (DEA) olduğu ve yetişkinlerde çocuklardan daha yüksek prevalansta olduğu gösterilmiştir (136). Demir proksimal ince bağırsaktan emilir. Emilim sağlam mukozal yüzey ve intestinal asiditeyi içeren çeşitli faktörlere bağlıdır (101,135). ÇH'deki demir eksikliği, primer olarak bozulmuş emilimden kaynaklanır, ancak GİS'den gizli kan kaybı da bir diğer neden olabilir (137,138).

Oral demir tedavisine dirençli DEA, özellikle çocuk hastalarda ÇH'nin tek bulgusu olarak karşımıza çıkabilir. Dirençli DEA olan hastalarda ÇH prevalansı %20 ile yüksek bulunmuştur (138). Ertekin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DEA ile başvuran çocuk hastaların %21,3'ünde ÇH tespit edilmiştir (142). ÇH ile birlikte olan DEA'nın tedavisi glutensiz diyetle birlikte demir depoları dolana kadar demir desteği yapmaktır. Bu süreç bir yıl kadar sürebilir (138). Folik asit primer olarak jejunumdan emilmektedir ve ince bağırsağı tutan hastalıklarda sıklıkla emilimi bozulur. Ciddi folik asit eksikliği lökopeni, trombositopeni hatta ciddi pansitopeni ile sonuçlanabilir. Çölyaklı çocuklarda sık görülen folik asit eksikliği genellikle anemi ile sonuçlanmaz. Bu hastaların tedavisinde glutensiz diyetle birlikte folik asit desteği önerilmektedir (138). Vitamin B12'nin ana emilim yeri distal ileumdur. Vitamin B12'nin küçük bir oranı ise tüm ince bağırsak boyunca pasif olarak emilir. ÇH'de sık görülen vitamin B12 eksikliği genellikle anemi ile sonuçlanır. ÇH'de görülen vitamin B12 eksikliğinin sebebi bilinmemektedir, ancak gastrik asiditede azalma, bakteriyel aşırı çoğalma, otoimmün gastrit, transfer faktörleri ile birleşimin azalması, belki de distal ince bağırsakta gizli bir disfonksiyon bu eksikliği açıklayabilir. Hematolojik ve nörolojik problemleri olan tüm çölyak hastalarında vitamin B12 eksikliği düşünülmelidir. Tedavi parenteral vitamin B12 ile yapılmalıdır (138).

Sessiz Çölyak Hastalığı

Bu grup hastalar, belirgin yakınma ve bulgusu olmayıp, birinci derece akrabalarında ÇH saptanan ya da ÇH için risk grubunda olan (Otoimmün tiroit, Tip-1 DM, Down sendromu, Turner sendromu) hastaların taranması sırasında tespit edilir (101,134). Son yıllarda sessiz çölyak hastalarının gözden kaçabilecek hafif hastalık bulgularına sahip olduğu gösterilmiştir (130). Bu kişilerde yaygın görülen özellikler; huzursuzluk ve okul performansında düşüklük gibi davranış bozuklukları, fiziksel sağlığın bozulması, kronik halsizlik, demir eksikliğinin varlığı, azalmış kemik mineral yoğunluğudur (101).

Potansiyel/Gizli Çölyak Hastalığı

Endomisyum antikoru (EMA) ve/veya anti-DTG antikoru pozitif olduğu halde ince bağırsak biyopsileri normal veya minimal değişiklik (örneğin; artmış İEL sayısı-tip1 lezyon, subepitelyal alanda anti-DTG IgA depolanmaları) gösteren olgulardır. Bu olguların genotipleri de HLA DQ2 ya da DQ8 gibi çölyakla uyumlu doku gruplarındandır. Bu hastalar zamanla ince bağırsakta düz bir mukoza geliştirebilirler, yani tipik çölyak hastası olma riskini taşırlar (101,130).

Tablo 2.6. Çölyak Hastalığının Atipik Bulguları ve Eşlik Eden Hastalıklar (137)

<p>HEMATOLOJİK BULGULAR</p> <p>Demir eksikliği anemisi</p> <p>Makrositik anemi</p> <p>Lökopeni, Trombositopeni</p> <p>Splenik hipofonksiyon</p> <p>Trombositoz</p> <p>Venöztromboz(Hiperhomosisteinemi)</p> <p>Koagulopati (Vitamin K eksikliği)</p> <p>Selektif IgA eksikliği</p> <p>SİNİR SİSTEMİ BULGULARI</p> <p>Periferik nöropati</p> <p>Serebellar ataksi</p> <p>Oksipital kalsifikasyon</p> <p>Nöbetler</p> <p>Baş ağrısı</p> <p>Miyopati</p> <p>Nöropsikolojik bozukluklar</p> <p>KARACİĞER BULGULARI</p> <p>İzole hipertransaminazemi</p> <p>Primer bilyer siroz</p> <p>Primer sklerozan kolanjit</p> <p>Hemokromatozis</p> <p>Masif hepatik steatoz Siroz</p> <p>ENDOKRİNOLOJİK BULGULAR</p> <p>Boy Kısalığı</p> <p>Tip 1 Diabetes mellitus</p>	<p>KAS-İSKELET BULGULAR</p> <p>Osteomalazi</p> <p>Osteoporoz</p> <p>Artrit, Miyopati</p> <p>DERMATOLOJİK BULGULAR</p> <p>Dermatitis herpetiformis</p> <p>Psöriazis, Transvers lökoniş</p> <p>Eritema, Elevatum diutinum</p> <p>Kserozis</p> <p>Alopesi areata</p> <p>Dermatomiyozit</p> <p>Kutanöz vaskülit</p> <p>Ürtiker, Atopik dermatit</p> <p>Prurigo nodularis</p> <p>Kronik ülseratif stomatit</p> <p>Lineer IgA dermatozis</p> <p>Vitiligo, İktiyozis</p> <p>Lupus eritematozus</p> <p>Liken skleroz</p> <p>Palmoplantar püstüloz</p> <p>Keratozis pilaris</p> <p>Eritroderma</p> <p>Nekrolitik migratuar eritem</p> <p>Kutanöz amiloidoz</p> <p>Anular eritem</p> <p>Parsiyel lipodistrofi</p>
--	---

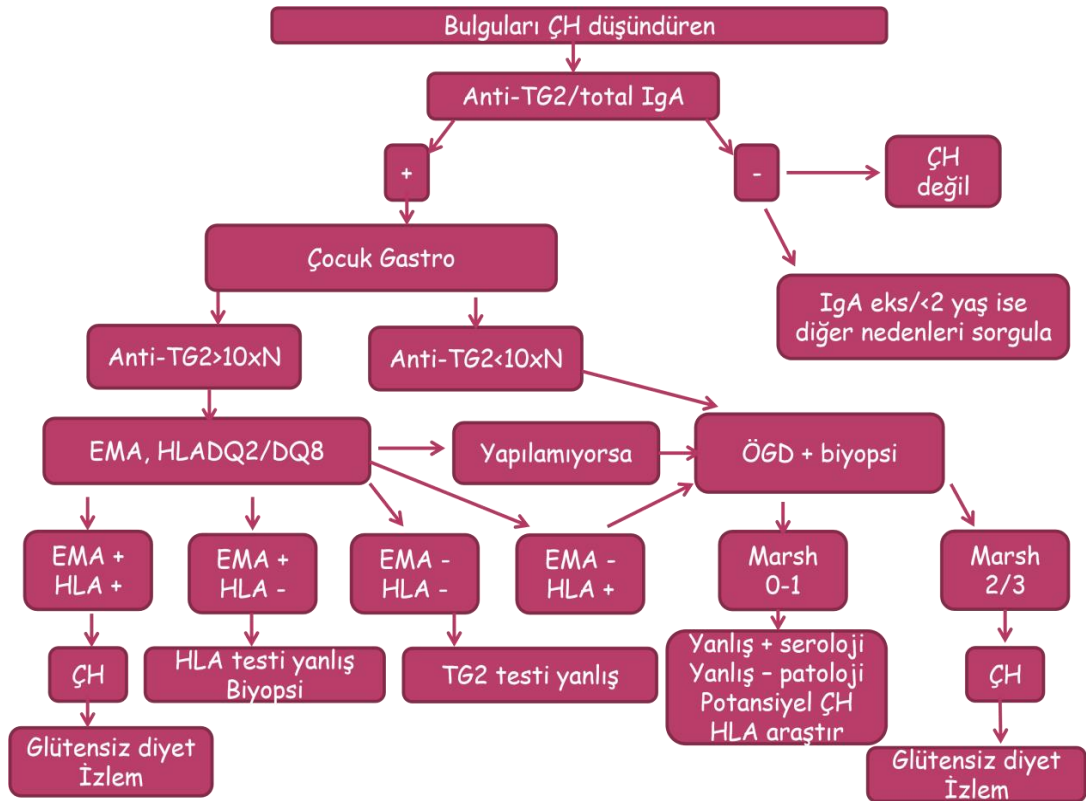
Tablo 2.6. “Devam” Çölyak Hastalığı Atipik Bulguları ve Eşlik Eden

Hastalıklar

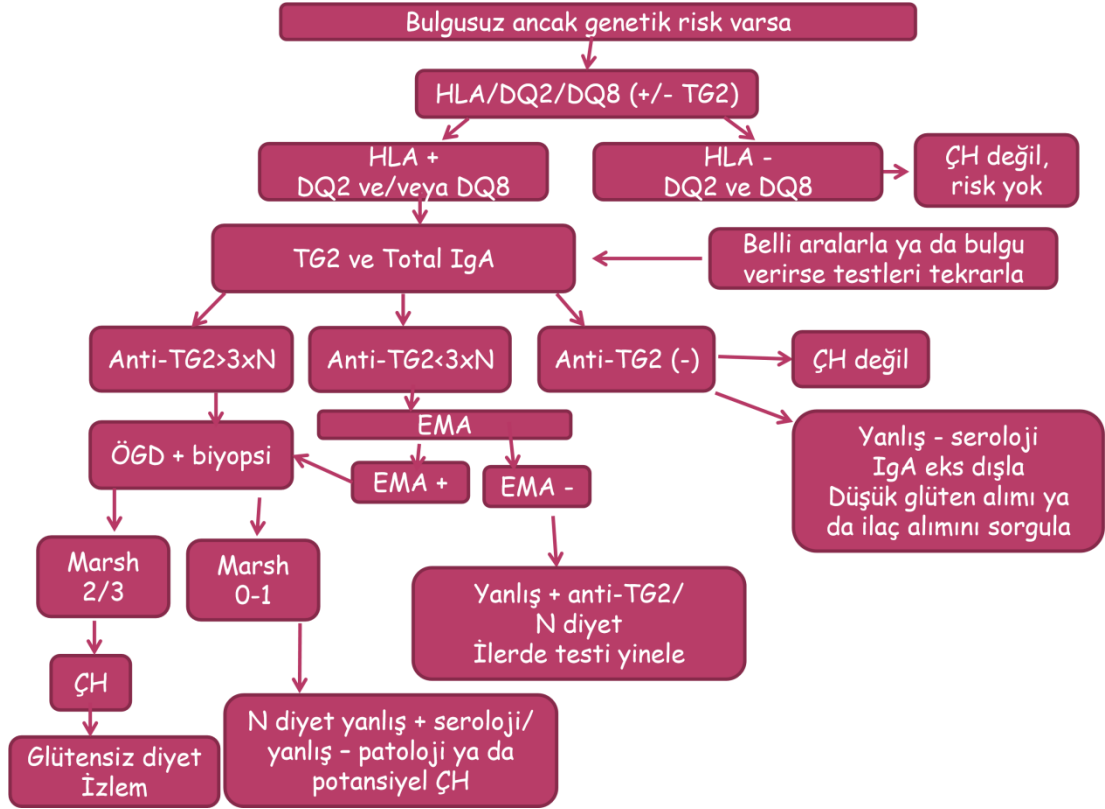
RENAL BULGULAR	ÜREME SİSTEMİ BULGULARI
IgA nefropatisi	Hipogonadizm
Kronik glomerulonefrit	İmpotans
Renal yetmezlik	İmmatür sekonder seks karakterleri
ONKOLOJİK HASTALIKLAR	Azalmış semen kalitesi
NonHodgkin lenfoma	Değişen spermatik motilite
İnce bağırsak adenokarsinomu	Gecikmiş menarş
Özofagus ve orofaringeal karsinomlar	Amenore
PULMONER SİSTEM BULGULARI	Tekrarlayan düşükler
İdiyopatik pulmoner hemosideroz	Azalmış hamilelik oranı
PSİKIYATRİK BOZUKLUKLAR	Erken menapoz
Şizofrenik belirtiler	Libido kaybı
Major depresyon	İnfertilite
Afektif bozukluklar	
Sosyal fobi	

2.1.6. Tanı

Çölyak hastalığının tanısı, klinik, serolojik, genetik ve histopatolojik bulguların birlikte kullanılmasıyla konulur. Son dönemde çölyak hastalığı ile ilgili serolojik ve genetik belirteçlerin yaygınlaşması, özgüllük ve duyarlılıkların artması ile birlikte, çölyak hastalığı tanısı koyma ihtimali artmıştır. Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji-Hepatoloji ve Beslenme Derneğinin (ESPGHAN), 1969 da belirlenen, 1990'da yenilenen çölyak hastalığı ile ilgili kriterleri, 2009 yılında tekrar güncellenmiş ve 2012 yılında yeni ESPGHAN kılavuzu yayınlanmıştır. Bu kılavuzla özellikle, serolojik belirteçlerin kullanımı, standardizasyonu, HLA-DQ2/DQ8'in kullanımı, "challenge" testi ve duodenal biyopsi kriterleri hakkında yeni önerilerde bulunulmuştur. Semptomatik ve asemptomatik çölyak hastaları ile ilgili yeni tanı algoritmaları ve skorlama sistemi geliştirilmiştir (Şekil-2.7,2.8) (3). Bu kılavuz çölyak hastalarının tanı ve takibinde büyük kolaylıklar sağlasa da, ülkemizde ve dünyanın birçok merkezinde, halen altın standart tanı yöntemi olarak intestinal biyopsi kullanılmaktadır (3,143).



Şekil 2.7. Semptomatik Hastalarda Tanı Algoritması (3)



Şekil 2.8: Asemptomatik Hastalarda Tanı Algoritması (3)

Serum Otoantikolar

Çölyak hastalarının tanısında, sınıflamasında, hastalık şiddetinin belirlenmesinde ve tedavi yanıtının takibinde en sık kullanılan tetkikler, kandaki otoantikor düzeyleridir. Son dönemdeki gelişmeler sayesinde, bu otoantikoların özgüllük ve duyarlılıkları artmıştır. Fakat dünyanın her yerinde, çok farklı kitlerin kullanılması, her kitin "cut-off" değerinin kendine özgü farklılıklar içermesi sebebiyle, standardizasyona ihtiyaç duyulmuştur. 2012 yılında yayınlanan ESPGHAN'ın çölyak raporunda da, bu serolojik testleri çalışan laboratuvarların, düzenli olarak, ulusal ve uluslararası denetim programlarına tabi tutulması, her testin belirlenmiş olan standart referans değerine %95'den fazla uyum göstermesi, "cut-off" ve normalin üst değer sınırlarının, uluslararası ölçeklere uygun olarak düzenlenmesi gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca bu değerler yorumlanırken, total IgA düzeyleri, hastanın yaşı, gluten kullanım süresi, miktarı ve immunsupresif ilaç kullanımı gibi faktörlere de dikkat edilmelidir. IgA düzeylerinin normal olduğu hastalarda, daha

çok IgA sınıfı antikorlar, IgA düzeyi düşük hastalarda ise IgG sınıfı antikorlar kullanılmalıdır. Antigliadin IgA ve IgG, antiendomisyum (EMA) IgA ve antitransglutaminaz-2 (DTG) IgA ve IgG oldukça sık olarak kullanılan serolojik testlerdir. Son zamanlarda geliştirilen bir test antideamide gliadin IgA'dır (DGP)(144).

Antigliadin antikor (AGA) IgA ve IgG : Çok değişkenlik ve düşük spesifite (özgünlük) ve sensitivite (duyarlılık) göstermeleri nedeniyle günümüzde artık giderek daha az kullanılmaktadırlar. İki yaşın altındaki hastalarda kullanımı daha yaygındır. ÇH dışında GİS şikayetleri olan (özefajit, gastrit, gastroenterit, inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), kistik fibrozis ve inek sütü protein intoleransı) ve çölyak genetiği taşımayan sağlıklı kişilerde de AGA seviyelerinde yükseklik rapor edilmiştir (136,145). Ancak AGA antikorlarının minimal diyet kaçağında dahi daha çabuk serumda saptanabilmeleri diyete uyumu göstermede hastaların monitorizasyonunda kullanılabilir (133). AGA IgA'nın sensitivitesi %52-100 ve spesifitesi %92-97 olup, AGA IgG'nin sensitivitesi AGA IgA'ya benzer iken spesifitesi %50 ile oldukça düşüktür. Bu da ÇH olmayan birçok kişinin AGA IgG(+) olabileceğini göstermektedir (135). ESPGHAN'ın son rehberinde ise AGA antikorlarından hiç bahsedilmemiştir (3).

Endomisyum antikor (EMA): Lamina propriada CD4+ T lenfosit aktivasyonu ve "*mukozal remodeling*" sonucu ortaya çıkmaktadır. Çölyak hastalığı tanısında ve mukozal hasarın belirlenmesinde, en yüksek özgüllük ve duyarlılığa (%95-100) sahip testlerdendir. Mukozal hasarın ılımlı olduğu durumlarda EMA'nın doğruluk oranı düşmektedir (146). EMA, immunfloresan yöntemle yapılan, zahmetli, pahalı ve testi yapanın deneyimine dayalı bir testtir. Duyarlılık ve özgüllüğü 2 yaş altı çocuklarda düşüktür (133-135).

Antiretikülin antikor (ARA) da immunfloresan yöntemiyle çalışılan, yine testi yapanın deneyimine bağlı ve EMA gibi %90 civarında özgüllük ve duyarlılığa sahip, fakat günümüzde sık kullanılmayan bir testtir (145).

Doku transglutaminazı (DTG): EMA'nın antijenik bir determinantıdır (146). ELISA yöntemiyle yapılır. Bu nedenle yapımı kolay, ucuz ve kolayca yorumlanabilen bir testtir (134). Doku transglutaminaz enzimi, doku hasarı sonucunda ekstraselüler olarak salınan sitoplazmik bir enzimdir. Glutenin deaminasyonundan sorumludur. Günümüzde artık insan kaynaklı DTG kullanımı sonrası, bu testin özgüllük ve duyarlılığı artmıştır. Duyarlılığı %69-93 ve özgüllüğü %96-100'dür. 2 yaşından önce tanı alan yaklaşık %10 hastada DTG IgA (-)'tir (147). Özgüllük ve duyarlılık 3 yaş altındaki çocuklarda düşüktür (134).

Antideamide gliadin peptid antikorı (a-DGP): Konvansiyonel AGA ile karşılaştırıldığında daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (147,148). Sentetik gliadin peptitleri, DTG ile modifiye olmuş gliadinleri taklit ederek, deamine gliadin peptitlerine karşı antikor oluşturur. DGP IgA'nın duyarlılığı, %91, özgüllüğü %98, DTG IgA ile birlikte kullanıldığında ise, duyarlılığı %95, özgüllüğü ise % 96 olarak bulunmuştur (149). Selektif IgA eksikliği olanlarda ve 3 yaş altı çocuklarda, IgG sınıfı DGP'lerin, DTG ve EMA ile karşılaştırıldığında, daha iyi bir performansa sahip olduğu söylenebilir (150).

ESPGHAN'ın raporunda, çölyak hastalığı serolojisi üzerine bir damla kanda DTG antikor olarak bakılan hızlı test kitlerinin (POCT) duyarlılığının %96,4 ve özgüllüğünün ise %97,7 olduğu, ancak DTG IgA ve EMA'nın daha iyi bir performansa sahip olduğu belirtilmiştir (3). ÇH'de kullanılan testlerin duyarlılık ve özgüllükleri Tablo 2.7'de verilmiştir (3,135,145,147,149).

Tablo 2.7. Serolojik Testler ve Özellikleri

Test	Duyarlılık	Özgüllük	Pozitif Öngörü	Negatif Öngörü
AGA IgA	57-78	71-87	0,2-0,9	0,4-0,9
AGA IgG	55-100	71-100	0,3-1,0	0,7-1,0
ARA IgA	78-97	98-100	-	-
EMA IgA	86-100	98-100	0,98-1,0	0,8-0,95
DTG IgA	77-100	91-100	>0,9	>0,95
DGP IgA	79-98	80-95	-	-
DTG IgA ve EMA IgA	98-100	98-100	>0,9	<0,95
POCT	80-98	91-100	-	-

Çölyaklı kişileri belirlemede EMA ve DTG yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Semptomatik kişilerde EMA ve DTG'nin pozitif prediktif değeri yaklaşık % 100'dür (135). DTG antikorlarının düşük seviyedeki pozitifliği otoimmün diğer hastalıklar, infeksiyonlar, tümörler, miyokardiyal hasar, karaciğer hastalıkları ve psöriazis gibi ÇH ile ilişkili olmayan birçok durumda tanımlanmıştır. Ancak bu durumlardaki DTG antikorlarının EMA reaksiyonu ile birlikteliği yoktur, bu da EMA'nın ÇH tanısında neden yüksek oranda güvenilir olduğunu açıklar (3). Çeşitli çalışmalar DTG antikorlarının yüksek konsantrasyonlarının düşük veya sınırdaki değerlere göre villöz atrofiyi daha iyi yansıttığını göstermiştir. Yine bu çalışmalarda yüksek DTG antikor seviyesi, kullanılan kite göre üst sınır değerinin 10 kat üstü olarak tanımlanmıştır (3). DTG, ÇH'yi saptamada kullanılacak ilk test olarak önerilmektedir (3,135). İki yaşından küçük çocuklarda EMA ve DTG'nin yüksek oranda negatif olması nedeniyle bu yaş grubunda en çok AGA'nın ve DGP'nin ölçülmesi önerilmektedir (147,151,152). Ancak bu yaş grubunda özgüllük ve duyarlılık düşmekte ve klinik pratikte kullanımı yararlı görülmemektedir (146). Bu nedenle serolojisi negatif dahi olsa, ÇH'yi destekleyen ciddi belirtileri olan erken yaşta çocuklarda ince bağırsak biyopsisi yapılması önerilmektedir (3,135). Düşük yaşta serolojinin negatif olması anne sütü alımı, düşük IgA seviyeleri ve immun sistemin henüz gelişmemiş olmasına bağlanmaktadır (152).

Serum total IgA seviyesinin ölçülerek selektif IgA eksikliğinin dışlanması önemlidir. IgA eksikliği olan çocuklarda, IgG sınıfı testler temel alınarak değerlendirme yapılmalıdır. ÇH olan tüm hastalarda kanda çölyak antikorları saptanamayabilir, ancak seronegatif olan bu hastalarda DTG antikorları ince bağırsak dokusunda ve diğer dokularda bulunabilir (3).

İntestinal Otoantikorlar

İmmunelektron mikroskobu ile çölyaklı hastalarda, yüzey epitelyal hücrelerinin bazal membranında, kript epiteline, subepitelyal fibroblastların çevresinde ve intestinal mukoza kan damarı duvarında yoğun IgA birikimleri görülür. Bu bulgular sağlıklı kişilerden çok farklıdır. Bu IgA'lar ortama dışardan eklenen DTG'ya bağlanırlar. Yani dokuda saptanan bu IgA birikimleri ince bağırsak mukozal DTG'sını hedefleyen otoantikorlardır ve ÇH'nin tanısai çalışmaları da yoğun bir şekilde kullanılmaktadırlar. Seronegatif hastalar da dahil olmak üzere tüm çölyak hastalarında bu birikimler vardır. Bu birikimler mukozal morfolojinin henüz bozulmadığı hastalığın erken evresinde de görülür. IgA eksikliği olan hastalarda ise bu mukozal antikor birikimleri IgM sınıfındandır (145).

Histopatoloji

Günümüzde serolojik testlerin özgülük ve duyarlılığı, hastalık ile korelasyonu artsa da, halen ÇH tanısında altın standart histopatolojik incelemedir (135). Buna göre ÇH tanısında ince bağırsak biyopsisinin yapılmasının gerekleri şöyle özetlenebilir (134):

1. ÇH bir enteropati olup, histopatolojik bulgular görülmelidir.
2. Seroloji, teknik nedenlerle ya da IgA eksikliği nedeniyle negatif olabilir ya da hasta seroloji negatif bir hastadır.
3. Histopatolojik bulguları normal olan bireylerde glutensiz beslenmeye gerek yoktur.
4. Endoskopi güvenilir bir işlemdir.

5. Biyopsi yapılmadan glutensiz beslenme başlandığında, ÇH tanısını desteklemek ya da dışlamak zorlaşır.

İlk histopatolojik skorlama, 1992 yılında Marsh tarafından yapılmıştır. Günümüze kadar ise ÇH histopatolojisi ile ilgili birçok araştırmacı tarafından, farklı sınıflama yöntemleri geliştirilmiştir. En çok kullanılanlar ise Marsh ve 1999 yılında yenilenen modifiye Marsh-Oberhuber sınıflamasıdır (Tablo 2.8-2.9).

Tablo 2.8. Marsh Sınıflaması (153)

Tip	Histolojik Lezyon
Tip 0: (Preinfiltratif Evre)	Normal ince bağırsak mukozası
Tip 1: (İnfiltratif Evre)	İEL sayısında artış (>25/100 epitelyal hücre) Normal villus yapısı (villus/kript: 3/1)
Tip 2: (Hiperplastik Lezyon)	İEL sayısında artış (>25/100 epitelyal hücre) Normal villus yapısı Kript hiperplazisi
Tip 3: (Destrüktif Lezyon)	İEL sayısında artış (>25/100 epitelyal hücre) Kript hiperplazisi Değişik derecede villöz atrofi
Tip 4: (Hipoplastik Lezyon)	Normal İEL sayısı Villöz atrofi Kript hipoplazisi ve atrofisi

İEL: İntraepitelyal Lenfositöz

Tablo 2.9: Marsh-Oberhuber Sınıflaması(154)

Tip	Histolojik Lezyon
Evre 0: (Preinfiltratif Evre)	Normal ince bağırsak mukozası
Evre 1: (İnfiltratif Evre)	İEL sayısında artış
Evre 2: (Hiperplastik Lezyon)	Evre 1 + hiperplastik kriptler
Evre 3: (Destruktif Lezyon)	3a: Parsiyel villöz atrofi 3b: Subtotal villöz atrofi 3c: Total villöz atrofi
Evre 4: (Hipoplastik Lezyon)	Total villöz atrofi + kript hipoplazisi

ESPGHAN son rehberinde biyopsisiz yaklaşım için kriterler belirlemiştir. Buna göre eğer hasta, semptomatik bir hasta ise, DTG IgA seviyesi üst limitin 10 katından fazla ise, EMA pozitif ise, HLA DQ2 ve/veya DQ8 pozitif ise bu hastada histolojik değerlendirmenin atlanarak glutensiz diyetle geçilebileceği, ancak sonraki takiplerinde anlamlı semptomatik düzelme ve çölyak antikörlerinin normale gelmesi gerektiği belirtilmektedir (3). ÇH için tanımlanan duodenal villöz atrofünün endoskopik özellikleri duodenum kıvrımlarının kaybı, kıvrımlarda taraklanma, submukozal damarların görünür olması ve kıvrımlar arasındaki mukozanın mozaik paternidir. Bu özellikler sadece subtotal ve total villöz atrofi olan vakalarda (Marsh 3b ve 3c) güvenilir olabilir. Hatta parsiyel villöz atrofi (Marsh 3a) olan vakalarda endoskopik görünüm normal olabilir (135). ÇH’de mukozal değişiklikler yamalı bir patern gösterebilir. Aynı bölgede dahi farklı derecelerde etkilenme görülebilir. Bir bölgeden alınan biyopsi total villöz atrofiyi gösterirken, bunun hemen yanından alınan diğer biyopsi hafif lenfosit ve plazma infiltrasyonu gösterebilir ya da normal olabilir (3,135). ÇH’nin tanısı ince bağırsak mukozasında karakteristik histolojik değişikliklerin gösterilmesini gerektirir. Histolojik anormallikler artmış İEL sayısı (Her 100 enterosite karşı 25’ten fazla lenfosit olması), İEL mitotik indeksinin %0,2’den fazla olması, kriptlerde mitotik indeksin artmış olması, epitelyal hücre boyunun azalması (kolumnar epitelin kuboid ya da düz epitele değişmesi), epitelyal hücrelerin psödostratifiye olması ile nükleer polarite kaybı, goblet hücrelerinin sayısında azalma, fırçamsı kenarların yokluğu, kript boylarının uzaması, villöz atrofi görülmesi

(parsiyelden totale), villus/kript oranının azalması (normali distal duodenumda 3:1, bulbusta 2:1'dir), lamina propriyada plazma hücreleri, lenfositler, mast hücreleri ve eozinofillerden oluşan infiltrasyondan oluşmaktadır (3,135). Bu histolojik özelliklerin hiçbirisi ÇH için patognomonik değildir. ÇH tanısı, klinik ve serolojik testlerin desteği ile bu histolojik özelliklere dayanılarak konulur (3,135,155).

İntraepitelyal lenfositlerin ÇH'de gözlenen epitelyal hasardan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çoğu İEL'ler yüzeylelerinde $\alpha\beta$ -TCR taşıyan sitotoksik T hücreleridir (156). ÇH'nin tanısında bugün için en önemli problem İEL'lerde patolojik artışla birlikte normal villus yapısı gösteren erken evre lezyonlardır (155). Erken evre lezyon (Marsh 1) ÇH'ye özgün olmayıp, birçok durumda da görülebilmektedir. Bunlar Tablo 2.10'da özetlenmiştir (156,157). Tip 1 lezyonu ÇH'ye özgün olmadığından, klinik bulgular ÇH'yi düşündürüyorsa, seroloji ve biyopsinin tekrarı ve HLA doku tiplendirmesi yapılmalıdır.

Tablo 2.10. İntraepitelyal Lenfositoz (İEL) Yapan Sebepler

Gluten sensitivitesi	Bakteriyel aşırı çoğalma
Gluten dışı gıda alerjileri (tahıl, inek sütü, soya, balık, pirinç, tavuk)	İmmün bozukluklar (Hashimoto tiroiditi, romatoid artrit, SLE, otoimmün enteropati)
İnfeksiyonlar (viral enterit, Giardia, Cryptosporidia, H. Pylori)	İmmün yetmezlikler (Selektif IgA eksikliği, kombine immün yetmezlik)
İlaçlar (nonsteroid anti-inflamatuarlar)	İnflamatuar bağırsak hastalığı
Lenfositik ve kollejenaz kolit	İnce bağırsak allograft reaksiyonu

Çölyak hastalığının bir diğer histopatolojik bulgusu olan villöz atrofi ve villüslerde kısalmanın da, ÇH dışında birçok sebebi vardır. Bu sebepler Tablo 2.11' de özetlenmiştir. Bu sebeple, ister intraepitelyal lenfositoz, ister villöz atrofi olsun, hiçbir histopatolojik bulgu, ÇH için yüzde yüz patognomonik değildir. ÇH tanısı, öykü, belirti, serolojik ve genetik testler, gluten maruziyeti, ilaç kullanımı, eşlik eden hastalık varlığı gibi birçok faktör birlikte kombine edilerek, konmalıdır.

Tablo 2.11. Villöz Atrofi, Düzleşme Yapan Sebepler

İnek sütü alerjisi	Radyasyon/Kemoterapi enteriti
Soya proteini enteropatisi	Graft versus host hastalığı
Gluten dışı gıda alerjileri	Kronik iskemi
Gastroenteritler	Crohn hastalığı
Eozinofilik gastroenterit	Refrakter sprue
Giardiyazis	Kollejenaz sprue
Bakteriyel aşırı çoğalma	Malnutrisyon/nutrisyonel eksiklikler
HIV enteropatisi	Kombine immün yetmezlik
Otoimmün enteropati	Zollinger-Ellison hastalığı
Tropikal sprue	Enteropati ile ilişkili T-hücreli lenfoma

ESPGHAN'ın 2012 rehberinde ÇH tanısı için basit bir skorlama sistemi geliştirilmiştir. Bu skorlama sisteminin amacı ilk değerlendirmede doğru tanıya yönlendirmek, geçmişte biyopsi yapılmış vakalarda tanıyı doğrulamak, aşikar bulguları olan hastalarda tanıyı basitleştirmek ve nonspesifik bulguları olan hastalarda gereksiz tanı konulmasının önüne geçmektir. Bu sistemde belirtiler, serum antikorları, HLA ve biyopsi bulguları değerlendirilmektedir. ÇH tanısı için toplam 4 puan yeterlidir (Tablo 2.12) (3).

Tablo 2.12. Çölyak Hastalığı İçin Skorlama Sistemi

Belirtiler	Puan
-Malabsorpsiyon belirtileri mevcut	2
-Atipik çölyak belirtileri mevcut veya Tip-1 DM veya 1. Derece yakında çölyak öyküsü mevcut	1
-Asemptomatik	0
Serum Antikorları	
-EMA pozitif ve/veya yüksek pozitif DTG (>10 kat)	2
-Düşük pozitif DTG veya izole anti-DGP pozitifliği	1
-Seroloji bakılmamış	0
-Seroloji bakılmış fakat tüm çölyak antikorları negatif	-1
HLA	
-Homozigot HLA DQ2 veya DQ8 mevcut	1
-HLA bakılmadı veya heterozigot HLA DQ2 mevcut	0
-HLA DQ2 ve DQ8 negatif	-1
Histoloji	
-Marsh 3b veya 3c	2
-Marsh 2 veya 3b veya Marsh 0-1 ve pozitif intestinal DTG antikorları	1
-Marsh 0-1 veya biyopsi yapılmadı	0

2.1.7. Ayırıcı Tanı

Çölyak hastalığı multisistemik ve multifaktöriyel bir hastalık olması sebebiyle, hem klinik hemde histopatolojik bulguları birçok hastalıkla, benzerlik göstermektedir. ÇH tedavisi ömür boyu glutensiz diyeti gerektirdiğinden, çölyak

tanısı konmadan önce, dikkatli bir şekilde bu hastalıklarla ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Ayırıcı tanı yapılması gereken durumlar Tablo 2.13'te özetlenmiştir.

Tablo 2.13. Çölyak Hastalığı Ayırıcı Tanısında Düşünülmesi Gerekenler

İnek sütü alerjisi/ protein intoleransı	İlaçlar
Soya alerjisi	Radyoterapi
Bakteriyal ve viral enteritler	Diğer malabsorpsiyon sendromları
Giardiyazis	Tropikal Sprue
Crohn ve Ülseratif Kolit	HIV enteropatisi
İrritabil bağırsak sendromu (İBS)	Graft versus host hastalığı
Eozinofilik gastroenterit	Mikroskopik kolit
İmmün yetmezlik durumları	Ekzokrin pankreas yetmezliği
Bakteriyal aşırı çoğalma	Laktoz ve fruktoz intoleransı

2.1.8. Komplikasyonlar

Çölyak hastalığı birden çok sistemi ilgilendiren kronik bir enteropati olması sebebiyle, kliniğinde olduğu gibi komplikasyonları da geniş bir yelpazeye sahiptir. Uzun süre tanı almayan veya glutensiz diyetle uymayan hastalarda görülen en önemli komplikasyonlar, otoimmün hastalıklar, osteoporoz ve T hücreli lenfoma gibi malignitelerin ortaya çıkmasıdır. Komplikasyonlar tipik olarak, yıllar sonra genellikle adolesan ya da erişkin dönemde ortaya çıkar. Çölyak hastalarında, intestinal lenfomanın yanısıra, gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde adenokarsinom gelişme riski de artmıştır. ÇH'de görülen komplikasyonlar Tablo 2.14'te özetlenmiştir.

Tablo 2.14. Çölyak Hastalığında Görülen Komplikasyonlar

Vitamin ve mineral eksiklikleri (demir, folik asit, vitamin B12, vitamin E, çinko, karnitin, selenyum)	Malignensi (T Hücreli lenfoma, Adenokarsinom, özefagus ve orofarenks skuamöz hücreli kanseri)
Kemik mineral yoğunluğunda azalma	Sepsis
Ergenlikte gecikme, kısırlık, tekrarlayan düşükler, düşük doğum ağırlığı, erken doğum	Nörolojik durumlar (gluten ataksisi, periferik nöropati, akseleredemans, oksipital lob epilepsisi)
Çölyak krizi	Otoimmün hastalıklar
Refrakter çölyak	Obezite
Kollajenöz sprue	GÖRH
Ülseratif jejunoileit	Uyku ve davranış bozuklukları

Çölyak hastalığı, başta Non Hodgkin Lenfoma (NHL) olmak üzere ince bağırsak adenokarsinomu, farenks ve özefagus adenokarsinomu gibi bazı malignensilerle ilişkilidir. Özellikle üst GİS yerleşimli yüksek evreli T-hücreli NHL ile çölyak hastalığının birlikteliği tipiktir. Geç tanı alan ve glutensiz diyetle uyumsuz hastalarda, T hücreli lenfoma riskinin 40-100 kat arttığı bildirilmiştir (133-135,155,156,158-161).

Refrakter Çölyak Hastalığı, 12 ay düzenli glutensiz diyet tedavisine rağmen, hem klinik hem de serolojik olarak düzelme olmayan ve histopatolojisinde, intraepitelyal lenfosit artışı ve villüslerde atrofi gibi bulguların devam ettiği, hastalıktır. Histopatolojideki İEL artışının tipine göre iki kısma ayrılır.

Tip-1: Normal intraepitelyal lenfosit artışı

Tip-2: Monoklonal ve poliklonal intraepitelyal lenfosit artışı

Tip-1'in prognozu daha iyidir. T hücreli lenfomaya ilerleme riski düşüktür. Sıkı glutensiz diyet, steroid ve immün supresif tedaviden fayda görür. Tip-2'nin prognozu

ise kötüdür. T hücreli lenfomaya ilerleme riski yüksektir. Tedavisinde "*cladribine*" ve kök hücre nakli etkilidir.

Çölyak krizi, günümüzde az görülen, ağır diyare, dehidratasyon ve elektrolit bozukluğu ile karakterize formdur. Bu hastalar yoğun bakım koşullarında takip edilmeli, hızla sıvı elektrolit dengesini sağlayacak replasman tedavileri düzenlenmeli, düzelmeyen hastalarda ise, steroid ve immün süpresif tedavi verilmelidir (162).

2.1.9. Tedavi

Çölyak hastalığının etyopatogenezi ile ilgili çalışmaların artmasına paralel olarak, tedavisine yönelik birçok yeni yöntem denenmekle birlikte, günümüzde ÇH'nin halen tek ve etkili tedavi yöntemi, ömür boyu glutensiz diyetdir (Tablo 2.15)(164-168). Buğday, arpa ve çavdar içeren ürünlerden sakınılmalıdır. Geçmişte çölyak hastaları için toksik olduğu düşünülen yulafın kontamine olmamış şeklinin son çalışmalarda güvenli olmasının yanında çölyak ve dermatitis herpetiformisli çoğu hastada diyet kalitesini arttırdığı gösterilmiştir (101). Son zamanlarda, buğday ununa alternatif olarak, mısır unu, soya unu, pirinç unu, mercimek unu üretilmiştir. Küçük miktarlardaki glutenin dahi mukozal hasara neden olduğu gösterilmiştir. "*Codex Alimentarius*"un rehberine göre, eğer ürün <20 ppm (<20 mg/kg) altında gluten içeriyorsa bunu "*gluten free-glutensiz*" olarak tanımlamıştır (135). Glutensiz diyet altında histolojik düzelmelerin genelde yavaş olduğu, yaklaşık %10 hastada tamamen düzelmeye olmadığı görülmüştür. Yine 5 yıl içinde hastaların %85'inde, 15 yıl içinde de %88'inde histolojik düzelmeye saptanmıştır. Çocuklardaki cevap ise daha yüksek olup 2 yıl içinde %95, uzun dönem takiplerde ise %100'ünde histolojik düzelmeye görülür (158). Glutensiz diyetle tedavi tüm klasik vakalar yanında sessiz ve atipik vakalar için endikedir. Ancak potansiyel çölyak hastalarında ise aileyle konuşularak, glutensiz diyet kararı alınmaktadır (163).

Tablo 2.15. Çölyak Hastalığında Yeni Tedavi Modelleri

Mekanizması	Tedavi Adı	Çalışma Evresi
Glutenazlar(gluten peptitlerinin proteolizisi)	ALV003 AN-PEP, STAN1	Faz-2
Polimer bağlayıcılar (gliadin peptitlerini bağlayarak)	pHEMA-co-SS	Preklinik/ Faz-1
Gluten peptitlerini enzimatik parçalayarak	Prolin Endopeptidazlar	Preklinik/ Faz-1
Probiyotik preperatlar	Lactobasillus	Preklinik/ Faz-1
Zonulin antagonistleri (glutene karşı permeabilite inhibisyonu)	AT-1001	Faz-2
Mitojenik değişim (glutene karşı permeabilite inhibisyonu)	R-spondin-1	Faz-3
HLA-DQ2 blokörleri	Dimerik gluten ve azidoprolin peptit analogları	Preklinik/ Faz-1
d-transglutaminaz inhibitörleri	KCC009, L-682777, ZED-101	Preklinik
Anti enflamatuar etki	Budenosid	Preklinik
Anti-IL-15 (sitokin blokajı)	AMG714	Preklinik
Anti TNF-alfa (sitokin blokajı)	İnflksimap	Preklinik
Anti $\alpha4\beta7$ /MAdCAM-1 blokajı(adezyon blokajı)	Natalizumap	Preklinik
Anti CCR9/CCL25 (lenfosit edezyon blokajı)	Ccx282-B, CCX025	Preklinik
Glutene karşı aşılama	Nexvax2	Faz-1

ÇH tanısı konulan çocukların periyodik kontrollerle belirtiler, büyüme, fizik muayene ve glutensiz diyetle uyum yönünden izlenmesi önerilmektedir. *"The Celiac Disease Guideline Committe"* , glutensiz diyet tedavisinden 6 ay sonra DTG'nin ölçülmesini önermektedir. Böylece DTG antikor titresindeki düşüş diyetle uyum ve

iyileşmenin indirekt bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Glutensiz diyet başlandıktan sonra herhangi bir zamanda belirtileri devam eden veya tekrar ortaya çıkan hastalarda DTG antikor seviyesindeki artış diyete uyumsuzluğu gösterir. Asemptomatik hastalarda ise bir yıl veya daha uzun süreli periyotlarla DTG ölçümü yapılarak diyete uyum monitorize edilmelidir (135).

2.1.10. Prognoz

Hastalığın prognozu, doğrudan glutensiz diyete uyumla ilişkilidir. Glutensiz diyet tedavisine hayat boyu uyan hastalarda yaşam süresi sağlıklı bireyler kadardır. Diyet tedavisine uyumsuz hastalarda, erken yaşta başlayan osteoporoz, infertilite, malnütrisyon gibi sorunlar görülmektedir. Ayrıca diyete uyumsuz hastalarda başta intestinal lenfoma olmak üzere özefagus, mide kanserleri riskinin genel popülasyona göre 10–15 kat arttığı bildirilmektedir (169).

2.1.11. Korunma

En önemli koruyucu stratejiler, anne sütünün teşvik edilmesi ve anne sütü alırken 4-7. aylar arasında küçük miktarda glutenin diyete eklenmesidir. Ayrıca gastrointestinal infeksiyonlardan (özellikle Rotavirus) korunma (Rotavirus aşısı gibi), diğer önemli bir korunma stratejisidir (170). ESPGHAN'ın önerisi çocuk halen anne sütü ile beslenirken 4. aydan önce olmamak ve 7. aydan sonra da kalmamak koşulu ile yavaş yavaş az miktarlarda glutenin diyete eklenmesidir (161).

2.2. İnterlökin 15 (IL-15)

IL-15, 1994 yılında Waldmann ve ark. tarafından klonlanmış ve dizilenmiştir. Aktiflenmiş monositler, dendritik hücreler ve fibroblastlar gibi çeşitli doku ve hücre tiplerinde mRNA düzeyinde eksprese edilir . Yapısal olarak IL-2'e benzer ve T hücre aktive edici faktör olarak geniş bir fonksiyona sahiptir (171-173). IL-15 geni, 4. kromozom üzerindeki, q25-35 bölgesinde bulunur. 9 ekson ve 8 intron içeren genomik dizisi 14,968 bp uzunluğundadır. cDNA'sı 486 bp'lik açık okuma parçası

(*open reading frame*) ve kodlanmayan 5' ve 3' bölgelerine sahiptir. IL-15 ekspresyonu, "*transkripsiyonel*" ve "*posttranskripsiyonel*" olarak düzenlenmektedir. İmmün yanıtın doğuştan ve sonradan kazanılan fazlarında düzenleyici fonksiyon gösterir. Bağırsak epitel hücrelerinden ekspre edilen IL-15, bu hücreler tarafından inhibe edilebilir. IL-15'in immünostimülatör etki aralığının geniş olması, bu sitokinin üretimindeki bir artışın, çeşitli dokularda değiştirilmiş bir immün cevaba neden olabileceğini göstermektedir (174-176). Çölyak hastalarında intraepitelyal lenfositlerde, romatoid artritde sinovyal membran hücrelerinde, aktif sarkoidozda alveolar makrofajlarda, kronik hepatit C ve aktif ülseratif kolitte periferik kan mononükleer hücrelerinde IL-15 düzeyleri yüksek bulunmuştur (177,178).

IL-15 üretimi, bakteriyel faktörler ve inflamatuvar mediatörler tarafından indüklendiği için, kronik inflamatuvar bozukluklarda önemli bir patojenik faktör olabilir. T hücreleri için güçlü bir büyüme faktörü ve "*kemoatraktant*" olduğu kanıtlanan IL-15'in, son zamanlarda tanımlanan yeni bir mekanizma ile inflamasyon bölgeleri için aktiflenmiş hafıza T hücrelerinin güçlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (175). IL-15, T hücre toplanması ve sitokin sekresyonundaki rolünün yanında birçok otoimmün hastalıkta da önemi olan anjiogenik aktiviteye sahiptir. Genom çalışmalarındaki gelişmelerden sonra, IL-15 ile birçok otoimmün hastalığın doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle, ÇH, romatoid artrit, Tip-1 DM, otoimmün tiroitit, psöriazis gibi birçok hastalıkta, IL-15'i eksprese eden ortak gen bölgeleri ve özel SNP bölgeleri tespit edilmiştir. IL-15, ÇH etiopatogenezinde, hem doğal, hem de kazanılmış immünite de yer alır ve anahtar sitokin olarak rol oynar. IL-15'in ÇH etiopatogenezindeki rolü, şu şekilde sıralanabilir:

- 1-) Lamina propriyadaki artmış IL-15 ekspresyonu, inflamatuvar T hücreler aracılığıyla, dendritik hücrelerin glutene olan toleransını bozmakta ve glutene olan antijenik cevabı arttırmaktadır (10).
- 2-) IL-15, Foxp3+T hücrelerin regulasyonunu ve reseptörler arasındaki sinyal iletimini düzenler. Çölyak hastalığında ise artmış, IL-15 ekspresyonu, enterositlerde, Foxp3+T regülasyonunu arttırarak, CD8+T hücreleri aracılığıyla, enflamasyon cevabının artmasına sebep olur (10).

- 3-) Artmış IL-15 üretimi, CD8+T lenfositlerin yüzeyindeki naturel killer (NK) resöptörlerini aktive ederek, T hücrelerine NK benzer özellik kazandırır ve bağırsak hasarını oluşturur (10,87).
- 4-) IL-15, IL-2 ile birlikte, "*lymphokine-Activated Killer Cells*" (LAK) olarak bilinir ve çölyak hastalarında, naturel killer grup-2A (NKG2A), naturel killer grup-2D (NKG2D), naturel killer grup-2C (NKG2C) isimli T hücre resöptör proteinlerinin transkripsiyonu ve sinyalizasyonunu arttırarak, sitotoksik T hücre cevabını, natural killer hücrelerinin aktiflenmesini sağlayarak, hücre hasarını oluştururlar (10, 108, 109).
- 5-) Aynı zamanda IL-15, "*human major histocompatibility complex class-I chain-related gene-A*" (MICA) ekspresyonunu arttırarak, sitotoksik T hücrelerdeki, NKG2D ve MICA arasındaki regülasyonu arttırır (Şekil 4)(10, 108).
- 6-) Çölyak hastalarının intestinal mukozalarında artmış olan IL-15 ekspresyonu, "*transforming büyüme faktörü- β* " (TGF- β) 'nın mukozal T hücre sinyal iletimini bozar, bu sinyal iletiminin bozulması ise kontrol dışı, sürekli olan bağırsak inflamasyonuna sebep olur (10).
- 7-) İntraepitelyal lenfositlerde artmış olan IL-15, buradaki CD-94 ekspresyonunu indükler, ayrıca enterositlerdeki ölüm resöptörlerinin prototipi olan FAS ekspresyonunu uyararak enterosit apoptozisini başlatır (10).
- 8-) Refrakter çölyak hastalarında, IL-15'in çok yüksek seviyelerde eksprese edildiği görülmüştür. İntestinal epitel ve intraepitelyal lenfositlerdeki, çok yüksek IL-15 düzeyleri, JAK3 ve STAT5 fosforilazasyonunu arttırarak, anti-apoptotik kaskadı aktive eder ve çölyak hastalarında en çok korkulan komplikasyon olan lenfoma gelişimine sebep olur (110, 111).
- 9-) Günümüzde halen çölyak hastalarında, IL-15' in ekspresyonundan sorumlu, genetik mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır. Çölyak hastalarında IL-15 ile beraber rol alan ve yapı bakımından benzerlik gösteren IL-2 ve IL-21'i eksprese eden özel gen bölgeleri ve SNP bölgeleri gösterilmiştir. Bu da çölyak hastalarında IL-15'i eksprese eden özel genetik "locusların" olabileceğini düşündürmektedir (112) .
- 10-) Ayrıca 2006 yılından sonra, dünyada artan genom çalışmaları sayesinde, ÇH ve birçok otoimmün hastalık arasında, içlerinde IL-15'in ekspresyonundan sorumlu

genlerinde dahil olduğu, birçok ortak gen bölgesi bildirilmiştir. Bu da IL-15 ile ilgili daha fazla genetik çalışma yapılmasına öncülük etmiştir (113).

2.3. Polimorfizm

Tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır. Genetik hastalıklar, DNA'daki bir değişiklik sonucu genin, mRNA ya da protein ürününün niteliğinin ya da niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır. İnsan genom proje çalışmalarıyla tüm genomdaki genlerin ve nükleotit dizilerinin belirlenmesinden sonra, genlerin ifade edilme düzeyleri ve ifade edilen gen ürünlerinin yapı ve işlevindeki farklılıklarını belirleme çalışmaları hız kazanmıştır (179).

Bir popülasyonda %1'den fazla gözlenen genetik değişikliğe polimorfizm denir. Bu doğal farklılıklar kuşaktan kuşağa Mendel yasalarına göre aktarılırlar. İnsan genomunda tek baz değişiklikleri çok siktir. Bazılarına göre bu sıklık her 100 baz çiftinde bir olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nükleotid değişikliklerinin büyük çoğunluğu zararsızdır (179).

Polimorfizm analizi, geleneksel olarak polimeraz zincir reaksiyonu-bağlantılı restriksiyon fragment polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile yapılmaktadır. Bu yöntem, polimorfizmi ortaya çıkaran baz değişiminin bir restriksiyon enzimi için yeni bir kesim yeri ortaya çıkarması veya mevcut olan bir kesim yerini ortadan kaldırmasına bağlı olarak, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan fragmentin enzim kesimi sonucunda normal durum ile polimorfik allel arasında uzunluk farklılıklarının (veya polimorfizminin) izlenmesi esasına dayanır. DNA, bu enzimlerle kesildiğinde farklı uzunlukta parçalar oluşur ve analizlerde değişik pozisyonlarda görülürler. Enzim kesim yöntemi ile kesim sonucu oluşan parçalar agaroz jel üzerinde elektroforez edilir ve moleküler boyutlarına göre bandlara ayrılır (179).

Genetik polimorfizmler heterojen immün cevaplar oluşmasına neden olur. İmmün cevaplarda ortaya çıkan heterojenlik genellikle sitokinler, HLA ve hücre yüzey reseptör genlerinden kaynaklanır ve bazı durumlarda hastalıklara yatkınlığa sebep olurken bazen de koruyucu nitelik taşırlar (178-179).

IL-15, birçok otoimmün hastalığın patogeneğinde yer alan, hem kazanılmış hem de doğal immünite de rol olan proenflamatuar bir sitokindir. Yapılan çalışmalarda, IL-15'in bazı özel polimorfik bölgelerinin romatoid artrit, psöriazis, ülseratif kolit ve crohn gibi birçok otoimmün hastalık riskini arttırdığı ve hastalık prezentasyonu üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (104). Hmida ve arkadaşları ile Kokkonen ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, aktif çölyak hastalarının, hem kan hem de dudenum biyopsilerinde IL-15 düzeylerini ve ekspresyonunu anlamlı derecede yüksek saptamışlardır (105-106). Biz de bu verilerden yola çıkarak, IL-15'in bazı özel polimorfizmlerinin ÇH üzerine etkili olabileceğini düşündük. Bu amaçla çalışmamızda, çölyak hastalarının, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin ve sağlıklı kontrol grubunun IL-15 gen polimorfizmlerini araştırdık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Haziran 2013-Temmuz 2015 yılları arasında yapılmıştır. Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Gastroenteroloji ve Hepatoloji Bilim Dalı'nda, Ağustos 2007-Temmuz 2015 tarihleri arasında tanı almış, çölyak (aşıkâr+sessiz çölyak) hastaları, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleri ve çölyak hastası olmayan kontrol grubu olarak alınan çocuklar ile yapıldı.

ÇH tanısı klinik, serolojik/genetik ve histopatolojik korelasyon ile konuldu. Daha önce HLA-DQ2/8 çalışılmayan çölyak hastalarının, HLA doku grupları çalışıldı. Hastaları klinik, serolojik/genetik ve histopatolojik bulgularına göre, çölyak hastaları ve potansiyel çölyak olmak üzere iki gruba ayrıldı. Biyopsi ile histopatolojik olarak ÇH ile uyumlu olan hastalar çölyak hastası olarak değerlendirildi. Seroloji ve/veya genetiği pozitif olup, histopatolojisi ÇH ile uyumlu olmayan hastalara, 3-6 ay ara ile 2. kez biyopsi yapıldı. Tekrarlayan histopatolojik değerlendirmesi normal olan hastalar, potansiyel çölyak olarak gruplandırıldı ve bu hastalar çölyak hastası kardeşi değilse çalışma dışı bırakıldı. ÇH tanısı almış olan hastaların, 2 yaş üstü kardeşleri DTG IgA, DTG IgG ve HLA-DQ2/8 ile, 2 yaş altı kardeşleri bu testlere ek olarak, anti gliadin antikor (AGA) ve anti endomisyum antikor (EMA) IgA ile tarandı. Testlerin tamamı negatif olan veya HLA-DQ2/8 pozitif olup, kliniği ÇH ile uyumlu olmayan kardeşler, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleri grubuna alındı. Serolojisi tekrarlayan kontrollerde pozitif olan kardeşlere, klinik ve genetiğe bakılmaksızın, endoskopik ince bağırsak biyopsisi yapıldı. Klinik, serolojik ve/veya histopatolojisi ÇH ile uyumlu olanlar çölyak hastası olarak değerlendirildi. Histopatolojisi ÇH ile uyumlu olmayanlara, 3-6 ay arayla tekrar biyopsi yapıldı. Tekrarlayan biyopsilerde, histopatolojisi ÇH ile uyumlu olmayanlar sağlıklı kardeş grubuna alındı.

Kontrol grubuna, gastrointestinal sistem (GİS) bulguları ile Çocuk Gastroenteroloji ve Hepatoloji Polikliniğine başvurmuş, endoskopisi yapılmış, herhangi bir gastrointestinal sistem içi (inflamatuvar bağırsak hastalığı, kronik hepatit, otoimmün hepatit, siroz gibi) ve gastrointestinal sistem dışı (romatoit artrit, kronik renal yetmezlik, serebral palsi gibi) kronik hastalığı olmayan, çölyak

serolojisi negatif, endoskopik muayene ve histopatolojik incelemesi normal olan, çocuklar alındı. Endoskopik muayene, "Olympus-Evis Lucera 260 (Tokyo)" sistemle, yaşa uyumlu 9.0 ve 5.0 fleksibil skopla yapıldı. Duodenumdan en az 4 biyopsi (2 proksimal, 2 distal), antrumdan 2, korpusdan 2, özefagusdan 2 biyopsi alınarak, histopatolojik olarak değerlendirildi. ÇH ile uyumlu olanlar, Marsh kriterlerine göre evrelendirildi.

Etik kurul onamı alındıktan sonra, tüm gruplardaki olguların aileleri, çalışma ve olası sonuçları hakkında bilgilendirildi. Ailelere/olgulara, daha önce tarafımızdan hazırlanan, çalışma hakkındaki bilgileri içeren "gönüllü onam formu" okunup imzalatıldı. Ayrıca tüm hasta grupları için, çalışma takip formu oluşturuldu. Çölyak hastalarının yaş, cinsiyet, tanı yaşı, boy ve vücut ağırlığı ölçümleri, bu ölçümlerin yaşa göre persentil değerleri, boya göre vücut ağırlığı, tanı anındaki şikayet, öykü ve fizik muayene bulguları, kronik hastalık öyküsü, ailede ÇH varlığı, tanı anındaki serolojik antikor değerleri, HLA DQ2/DQ8 değerleri, kemik mineral dansitometre (KMD) değerleri, endoskopik muayene bulguları, histopatolojik inceleme bulguları, bu forma işlendi ve elektronik ortama aktarıldı.

Karın ağrısı ve/veya ishal, karın şişliği gibi klasik gastrointestinal sistem bulgularıyla başvuranlar, klasik çölyak hastası olarak değerlendirildi. Bu klasik belirtiler dışında, belirti ve bulgularla başvuranlar ise atipik çölyak hastası olarak alındı. Tanı yaşı ≤ 2 yaş olanlar erken çölyak hastası olarak değerlendirildi. Boya göre vücut ağırlığı (BGVA) %90'nın altında olanlar protein enerji malnütrisyonu (PEM), %120'nin üstünde olanlar ise obez olarak değerlendirildi. Boy persentilinin $< 3p$ olması boy kısalığı olarak kabul edildi. Anemi ise, o yaş için belirlenen, hemoglobin (Hb) alt sınır değerinin altında olması olarak kabul edildi (Amerikan Pediatri Akademisi Beslenme Komitesi ve Türk Hematoloji Derneği tarafından önerilen normal ve sınır değerler kullanıldı). Beş yaş üstü olan hastalara KMD yapıldı. Lumbal 2-4. vertebraların KMD değerlerinin Z skoru, -2 ve -2,5 arasında olanlar osteopeni, -2,5 değerinin altında olanlar osteoporoz olarak değerlendirildi.

Tanı veya tarama sırasında HLA'sı çalışılmamış olan hastaların, HLA-DQ2/8 değerleri çalışıldı. Tüm gruplardan, IL-15 geninin rs2857261, rs10519613, rs10557972 polimorfizmleri çalışılmak üzere 4 ml EDTA'lı tüpe venöz kan örnekleri alınarak, -20 derecede saklandı. Bu örneklerin DNA izolasyonu ve polimorfizm

çalışmaları, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı tarafından yapıldı. Çalışma tek merkezli, kontrollü, retroprospektif ve prospektif olarak yürütüldü. Öncelikle Çölyak ailelerde, kontrollere göre farklı olan polimorfizm varlığının tespiti amacıyla önce tüm grupların, daha sonra çölyak hastaları ve kontrol grubunun, daha sonra da çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleri ve kontrol grubunun IL-15 geninin rs2857261, rs10519613, rs10557972 polimorfizmleri karşılaştırıldı. Çölyak ailelerde farklı olan polimorfizmler bulunduktan sonra bu polimorfizmlerin çölyak hastaları ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerindeki hastalık yapıcı etkilerini araştırmak amacıyla IL-15 gen polimorfizmleri bu iki grup arasında karşılaştırıldı. Daha sonra gruplar arasında genetik riski eşitleyerek önce, HLA-DQ2'si pozitif olan çölyak hastaları ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırıldı. Daha sonra, gruplar arasında daha sağlıklı karşılaştırma yapabilmek için, homozigot ve heterozigot HLA-DQ2 pozitif olgular kendi içlerinde tespit edilerek IL-15 gen polimorfizmleri açısından karşılaştırıldı. Ayrıca çölyak ailelerde farklı tespit edilmiş olan IL-15 gen polimorfizmi ile hastalık prezentasyonu, tanı yaşı, histopatolojik hasar evrelemesi arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı.

Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Tüm gruplardan, venöz kan örnekleri çocuk ve/veya ailelerden onamları alındıktan sonra, lokal saha temizliği yapıp, görevli hemşire/hekim tarafından, 4 ml EDTA'lı tüpe alındı ve -20 derecede saklanarak uygun koşullarda, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırıldı.

DNA Elde Edilmesi ve Genetik Çalışma Protokolü

Kullanılan Malzemeler

- ✓ 20-100-200 µl'lik pipetler ve pipet uçları
- ✓ 2.5 µl'lik ependorf tüpler
- ✓ PCR tüpleri
- ✓ Magna Pure Compact DNA Ekstraksiyon Robotu (Roche)
- ✓ Thermal cycler (PE GeneAmp PCR System 9700)
- ✓ Vorteks (Heidolph)
- ✓ Deep-freeze (Arçelik)
- ✓ Buzdolabı (Arçelik)
- ✓ UV transsimülatör(SYNGENE)
- ✓ Mikrodalga Fırın(Arçelik)
- ✓ Mikrosantrifüj (Eppendorf)

Kullanılan Kimyasallar

- ✓ Buffer S
- ✓ dNTP
- ✓ Taq DNA Polimeraz
- ✓ Distile su
- ✓ 10x buffer
- ✓ MboII enzimi
- ✓ 10x buffer tango
- ✓ DraI enzimi
- ✓ 10x cutsmart buffer
- ✓ DdeI enzimi
- ✓ TAE buffer
- ✓ Etidyum bromür
- ✓ DNA İzolasyon Kiti (MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I)

1.DNA Ekstraksiyonu Aşaması

Çalışmamızda olgu ve kontrol grubu periferik kan örneklerinden DNA elde edilmesinde robotik DNA ekstraksiyon sistemi "*MagNA Pure Compact*" ekstraksiyon robotu ve "*MagNA pure Compact Nucleic Acid Isolation*" kitleri kullanıldı. Kan örnekleri için robotik sistemdeki üretici firmanın protokolü aynen uygulandı ve örnekler doğrudan robotik sisteme yüklendi. "*Sample volume*" 400 µl, "*Elution volume*" 200 µl ve "*DNA isolation blood*" protokolü seçildi. Örnek tüplerine kan örnekleri doldurularak robot sistemine yüklendi. Robotik sistemde proteinaz K, yıkama solüsyonları ve DNA'yı tutmak için manyetik boncukların ve pipetaj için boş kuyucukların bulunduğu bir kartuş sistemi, pipet uçlarının yerleştirilmesi için tip trayler, örnek ve elüsyon tüpleri için bir rak bulunmaktadır. Robotik sisteme kartuş ve pipet uçları yerleştirilip örnek ve elüsyon tüpleri koyulduktan sonra bütün işlemler otomatik gerçekleştirildi. İşlem yaklaşık 25 dakika sürdü. Cihazın işlemi bittikten sonra elde edilen DNA örnekleri kullanılmaya kadar -20°C'de saklandı.

PCR Aşaması

Çalışmada 3 ayrı polimorfizme bakıldı. Bu polimorfizmler, rs2857261, rs10519613 ve rs1057972'dir. Bu polimorfizmlerin her biri için ayrı ayrı primerler ve bu primerlere uygun kesim enzimleri tarafımızdan belirlenerek ticari bir tedarikçiye sipariş verilerek temin edildi.

Kullanılan Primerler

rs2857261

F 5'-tcttcaataacttaaggatttac-3'

R 5'-aagaagagcctatcaagatg-3'

rs 10519613

F 5'-agtgtttctgttattaacaaac-3'

R 5'-cattattccacaaatgtac-3'

rs 1057972

F 5'-agttgcactgatattttacct-3'

R 5'-cagtagtcagtggtccactc-3'

Kullanılan Kesim Enzimleri

MboII- GAAGA(8/7)↓

DraI-TTT↓AAA

DdeI-C↓TNAG

Hasta ve kontrol grubu örneklerinin her birine aşağıdaki PCR protokolü uygulandı.

PCR PROTOKOLÜ

Buffer S 2.5µl

dNTP 0.25 µl

Taq 0.15 µl

F 2.5 µl

R 2.5 µl

Distile su 14.6 µl

DNA 2.5 µl

Toplam 25 µl hacim hazırlanarak aşağıdaki PCR koşullarına göre Thermal cycler cihazına yüklendi.

PCR Şartları

94° C	2 dk.	
94° C	30 sn.	35 döngü
50° C	30 sn.	
72° C	30 sn.	
72° C	7dk.	
4° C	∞	

PCR Koşullarının Optimizasyonu

Elde edilen PCR ürünleri PCR işleminin olup olmadığını kontrol etmek için agaroz jelde yürütüldü.

PCR olan ürünler restriksiyon kesim enzimi ile kesim işlemine tabi tutuldu.

MboII Kesim Enzimi Protokolü

PCR ürünü 10 µl

10x buffer 2 µl

Distile su 18 µl

MboII enzimi 1 µl,

-37 derecede 16 saat inkübasyon ve 65 derecede 20 dakika enzim inaktivasyonu yapıldı.

DraI Kesim Enzimi Protokolü

Pcr ürünü 10 µl

10x buffer tango 2 µl

Distile su 18 µl

DraI enzimi 1 µl,

-37 derecede 16 saat inkübasyon ve 65 derecede 20 dakika enzim inaktivasyonu yapıldı.

DdeI Kesim Enzim Protokolü

PCR ürünü 10 µl

10x cutsmart buffer 2.5 µl

Distile su 17.5 µl

DdeI enzimi 1 µl,

-37 derecede 16 saat inkübasyon ve 65 derecede 20 dakika enzim inaktivasyonu yapıldı.

PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroferezinde İncelenmesi

"*Overnight*" kesimden sonra, kesim ürünleri %3'lük agaroz jelde yürütülerek UV transsimülatör yardımıyla görüntülenerek analizi yapıldı.

Agaroz Jel Hazırlanması

Kullanılan jel tankının büyüklüğüne ve jel yüzdesine göre kullanılacak agaroz, TAE buffer ve etidyum bromür oranları hesaplandı. 3.37 g agaroz hassas terazide tartıldı. 112.5 ml TAE buffer içinde çözdürüldü ve mikrodalga fırında

kaynatıldı. Sonrasında alınan agarozun içine 8 µl etidyum bromür eklendi ve içinde tarakların yerleştirildiği jel tankına düzgün bir şekilde dökülmesi sağlandı. Jel donmaya bırakıldı. Donan jel dikkatli bir şekilde tarakları çıkarılarak tanktan alınıp, kullanılmıncaya kadar +4 derecede buzdolabında saklandı.

Sonuçların Analiz Edilmesi

MBOII- AA genotipi:250bp (wild)

GG genotipi:193,57 bp

GA genotipi:57bp

DRAI- CC genotipi:246bp(wild)

AA genotipi:182,64bp

CA genotipi:64bp

DDEI- AA genotipi:146bp(wild)

TT genotipi:126,20bp

AT genotipi:126bp

Bu çalışmada, IL-15 gen polimorfizminin çölyak ailelerindeki farklılıklarına, varsa tanı anındaki belirti ve bulgularına, tanı yaşına, histopatolojik hasara, hastalığın aşikar hale gelip gelmemesi üzerine etkisine bakılmıştır.

Etik Kurul Onamı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yerel Etik Kurulu'nun 01.07.2013 tarih ve 250 nolu kararı ile çalışmanın etik onayı alınmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme, SPSS 21.0 analiz programı kullanılarak yapıldı. Demografik değişkenler için, normal dağılım gösteren, sürekli değişkenler için, ortalama, standart sapma, normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenler için, medyan ve minimum-maksimum değerleri kullanılmıştır.

Sürekli değişkenlerde normal dağılıma uygunluk için Kolmogorov-Smirnov testi yapıldı. Normal dağılım göstermeyen, iki grup arası karşılaştırmalarda nonparametrik test olan Mann Whitney U testi, üç ve üzeri grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. Nominal değişkenlerin ve kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında, "Ki-Kare" veya "Fisher Exact Ki-Kare" testi kullanılmıştır. Lojistik regresyon analizi gruplar arası anlamlı fark gösteren verilere uygulanmıştır, "odds" oranı ve %95 güven aralıkları hesaplanarak elde edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık, $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

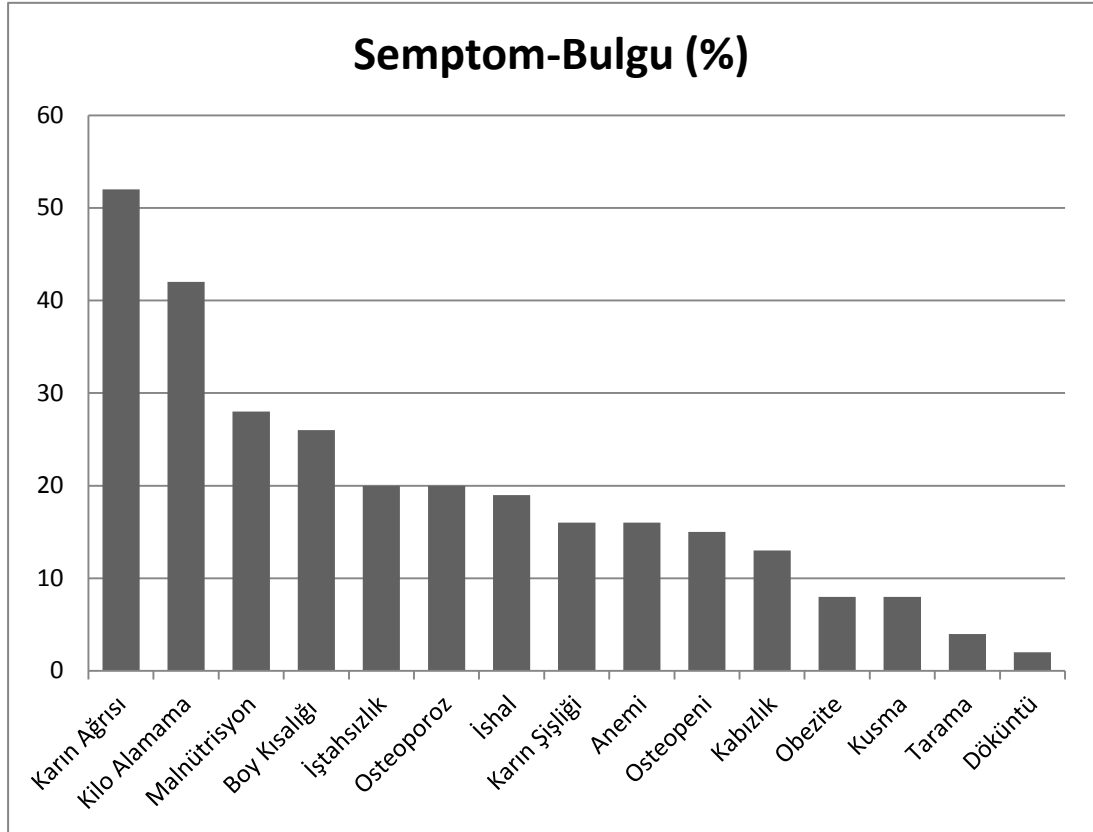
4. BULGULAR

Ağustos 2007- Temmuz 2015 tarihleri arasında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Gastroenteroloji ve Hepatoloji Bilim Dalı'nda tanı alan 110 çölyak hastasının olduğu görüldü. Bu hastaların 12'si 18 yaşını doldurduğu için (Erişkin Gastroenteroloji Bilim Dalı'na devredildi), 10 tanesi de takiplere düzenli gelmediği için çalışmadan çıkarıldı. Sonuç olarak, çalışma 90 çölyak hastası, bu hastaların 38 sağlıklı kardeşleri ve 99 kontrol olmak üzere toplam 3 grup ile tamamlandı. Çalışmaya alınan 90 çölyak hastasının 49'u kız (%55), 41'i erkek (%45), 38 çölyak hastalarının sağlıklı kardeşinin 20'si kız (%53), 18'i erkek (%47), 99 kontrol hastasının 66'sı kız (%66), 33'ü erkek (%33) idi (Tablo 4.1). Çölyak hastalarının yaş ortancaları, 11 (3-18) yıl , çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin 7 (1-17) yıl, kontrol grubunun 14 (5- 18) yıl idi (p=0,06). (Tablo 4.1). Çölyak hastalarının tanı yaşı ortalaması, $8 \pm 3,9$ (1,5 -16) yıl idi. İki yaşın altında tanı alan hasta sayısı 4, 5 yaşın altında tanı alan hasta sayısı ise 29' idi. Çölyak hastalarının 25'inin (%28) klasik çölyak, 65'inin (%72) atipik çölyak belirtileri ile başvurduğu görüldü.

Tablo 4.1. Grupların Demografik Özellikleri

	Çölyak Hastaları	Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşleri	Kontrol Grubu	P
Yaş	11 (3-18)	7 (1-17)	14 (5-18)	p=0,06
Cinsiyet (E/K)	41/49	18/20	33/66	p=0,08
PEM	25 (29)	4 (11)	12 (13)	p=0,04
Obezite	7 (7,8)	0 (0)	13 (13)	P=0,6

Çölyak grubunda, boy kısalığı olan 23 hasta varken, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde 1 olguda, kontrol grubunda 3 olguda boy kısalığı mevcuttu ($p=0,01$). Çölyak hastalarında 25 (%29) hastada PEM mevcutken, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde 4 (%11), kontrol grubunda 12 (%13) hastada PEM mevcuttu ($p=0,04$). Çölyak hastalarında 7 (%7,8), kontrol grubunda 13 (%13) hastada obezite varken, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde obezite yoktu ($p=0,6$)(Tablo.4.1).



Şekil 4.1. Çölyak Hastalarının Başvuru Belirti ve Bulguları

Tanı anında çölyak hastalarının, 47'sinde (%52,2) karın ağrısı, 38'inde (%42,2) kilo alamama, 25'inde (%27,8) PEM, 23'ünde (%25,6) boy kısalığı, 18'inde (%20) iştahsızlık, 17'sinde (%20) osteoporoz, 17'sinde (%20) ishal, 14'ünde (%15) karın şişliği, 14'ünde (%15) anemi, 11'inde (%14,6) osteopeni, 13'ünde (%13,3) kabızlık, 7'sinde (%7,8) obezite, 7'sinde (%7,8) kusma, 2'sinde (%2,2) döküntü olduğu görüldü, 4 (%4,4) hastada ise başvuru anında herhangi bir şikayet ve bulgu yoktu fakat sorgulandığında belirtisinin olduğu görüldü (Şekil 4.1).

DTG IgA'sı bakılan 89 çölyak hastasının 84'ünde (%94,4), DTG IgG'si bakılan 89 çölyak hastasının 66'sında (%74,4), EMA IgA'sı bakılan 79 çölyak hastasının 63'ünde (79,7), AGA IgA'sı bakılan 50 çölyak hastasının 36'sında (%72) bu serolojik testler pozitif saptandı.

KMD'si çekilen 55 çölyak hastasının, 17'si (%30) osteoporotik, 11'i (%20) osteopenik, 27'si (%49) ise normaldi.

HLA-DQ2 pozitifliğine bakıldığında, 90 çölyak hastasının 75'inde (%83) HLA-DQ2 pozitif , 15'inde (%17) HLA-DQ2 negatif olduğu görüldü. HLA-DQ8 pozitif olan hasta yoktu. HLA-DQ2 pozitif olan çölyak hastalarının 23'ünün (%25) homozigot, 52'sinin (%58) heterezigot olduğu görüldü. HLA-DQ2 çalışılan toplam, 38 çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin 23'ünde (%61) HLA-DQ2 pozitif, 15'inde (%40) HLA-DQ2 negatif olduğu görüldü. HLA-DQ2 pozitif olan çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin 8'inde (%21) homozigot, 15'inde (%40) heterezigot olduğu görüldü. Gruplar arasında HLA-DQ2 dağılımı homojendi (p=0,9) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Çölyak Hastaları ve Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşlerinin HLA Değerleri

	Çölyak Hastaları (n) (%)	Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşleri (n) (%)	P
Homozigot DQ2	23 (25)	8 (21)	P=0,9
Heterezigot DQ2	52 (58)	15 (40)	

Çölyak hastalarının, 12'sine (%13,3) Tip-1 DM, 6'sına (%6,7) otoimmün troidit, 2'sine (%2,2) ülseratif kolit, 1'ine (%1,1) epilepsi eşilik ediyordu. Çölyak

hastalarından 7'sinde (%7,8) ailesinin birinci derece akrabalarında ÇH öyküsü mevcuttu.

Çölyak hastalarının, 78'inde (%86) çölyak hastalığı ile uyumlu endoskopik görünüm mevcuttu. Duodenum mukozası, hastaların 42'sinde (% 53) mozaik, 25'inde (% 37) atrofik, 13'ünde (%17) ise nodüler olarak görüldü. Marsh sınıflamasına göre, çölyak hastalarının, 6'sında (%6,7) tip-1, 84'ünde tip-3 lezyon mevcuttu.

Çölyak hastaları, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleri ve kontrol grubunun tümünden, rs2857261, rs10519613, rs1057972 olmak üzere, üç IL-15 gen polimorfizmi çalışıldı. Tüm gruplar karşılaştırıldığında, rs2857261 polimorfizmi için, AA ve GG genotipinde, rs10519613 polimorfizminde CA genotipinde, rs1057972 polimorfizminde TT genotipinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece de fark saptandı [(p<0,05) (Tablo 4.3-4.4-4.5-4.6)]. Çölyak hastaları ve kontrol grubunun IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında; rs2857261 polimorfizminde AA genotipinin odds oranının, kontrol grubunda, çölyak hastalarına oranla 1,5 kat daha yüksek olduğu görüldü [OR:1,5(1,1-2,1) (p=0,004)]. rs2857261 polimorfizminde GG genotipinin odds oranı çölyak hastalarında kontrol grubuna oranla 2,3 kat daha yüksek saptandı [OR:2,3 (1,2-4,3) p=0,008]. Aynı şekilde, rs1057972 polimorfizminde TT genotipinin odds oranı da çölyak hastalarında, kontrol grubuna oranla 1,4 kat daha yüksek saptandı [OR:1,4(1,1-1,9) (p=0,04)]. Çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleri ile kontrol grubunun IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında, rs10519613 polimorfizminde CA genotipinin odds oranı, kontrol grubunda, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerine göre 1,4 kat yüksek saptandı [OR: 1,4 (1,1-1,6) (p=0,01)]. rs1057972 polimorfizminde ise TT genotipinin odds oranı, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde, kontrol grubuna oranla 4,6 kat yüksek saptandı [OR: 4,6 (1,8-11,5) (p=0,001)].

Tablo 4.3. Tüm Olguların IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Dağılımı

Polimorfizm	Genotip	Çölyak Hastaları n (%)	Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşleri n (%)	Kontrol Grubu n (%)	P
rs2857261 (MboII)	AA	43 (47)	21 (55)	68 (68)	0,013
	GG	37 (41)	11 (28)	23 (23)	0,028
	GA	10 (11)	6 (15)	8 (8)	0,5
rs10519613 (DraI)	CC	29 (32)	13 (34)	22 (22)	0,7
	AA	53 (58)	25 (65)	63 (63)	0,2
	CA	8 (9)	0 (0)	14 (14)	0,04
rs1057972 (DdeI)	AA	66 (73)	23 (60)	77 (77)	0,1
	TT	19 (21)	14 (36)	11 (11)	0,03
	AT	5 (5,6)	1 (2,6)	11 (11)	0,1

Tablo 4.4. Çölyak Hastaları ve Kontrol Grubunun IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Dağılımı

Polimorfizm	Genotip	Çölyak Hastaları n (%)	Kontrol Grubu n (%)	P
rs2857261 (MboII)	AA	43 (47)	68 (68)	0,004
	GG	37 (41)	23 (23)	0,008
	GA	10 (11)	8 (8)	0,41
rs10519613 (DraI)	CC	29 (32)	22 (22)	0,3
	AA	53 (58)	63 (63)	0,08
	CA	8 (9)	14 (14)	0,1
rs1057972 (DdeI)	AA	66 (73)	77 (77)	0,29
	TT	19 (21)	11 (11)	0,04
	AT	5 (5,6)	11 (11)	0,24

**Tablo 4.5. Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşleri ve Kontrol Gruplarının
IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması**

Polimorfizm	Genotip	Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşleri N (%)	Kontrol Grubu N (%)	P
rs2857261 (MboII)	AA	21 (55)	68 (68)	0,1
	GG	11 (28)	23 (23)	0,6
	GA	6 (15)	8 (8)	0,3
rs10519613 (DraI)	CC	13 (34)	22 (22)	0,9
	AA	25 (65)	63 (63)	0,2
	CA	0 (0)	14 (14)	0,01
rs1057972 (DdeI)	AA	23 (60)	77 (77)	0,06
	TT	14 (36)	11 (11)	0,001
	AT	1 (2,6)	11 (11)	0,08

**Tablo 4.6. Çölyak Hastaları ve Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşlerinin
IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması**

Polimorfizm	Genotip	Çölyak Hastaları N (%)	Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşleri N (%)	P
rs2857261 (MboII)	AA	43 (47)	21 (55)	0,4
	GG	37 (41)	11 (28)	0,2
	GA	10 (11)	6 (15)	0,4
rs10519613 (DraI)	CC	29 (32)	13 (34)	0,5
	AA	53 (58)	25 (65)	0,9
	CA	8 (9)	0 (0)	0,01
rs1057972 (DdeI)	AA	66 (73)	23 (60)	0,2
	TT	19 (21)	14 (36)	0,1
	AT	5 (5,6)	1 (2,6)	0,58

HLA-DQ2 pozitif olan çölyak hastaları ve HLA-DQ2 pozitif olan çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin, IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında, rs1057972 polimorfizminde TT genotipi, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde, çölyak hastalarına oranla yüksek saptandı ($p=0,02$) [OR: 2,4 (1,2-4,7)] (Tablo 4.7)

Tablo 4.7. HLA Pozitif Çölyak Hastaları ve Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşlerinin IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip	HLA Pozitif Çölyak n (%)	HLA Pozitif Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşleri n(%)	P
rs2857261 (MboII)	AA	39 (52)	14 (60,9)	0,6
	GG	29 (38,7)	6 (26,1)	0,3
	GA	7 (9,3)	3 (13,8)	0,6
rs10519613 (DraI)	CC	42 (56)	14 (60)	0,8
	AA	26 (34,7)	9 (39,1)	0,6
	CA	7 (9,3)	0 (0)	0,1
rs1057972 (DdeI)	AA	54 (72)	12 (52)	0,1
	TT	16 (21,3)	11 (47,8)	0,02
	AT	5 (6,7)	0 (0)	0,2

Homozigot HLA-DQ2 pozitif çölyak hastaları ve sağlıklı kardeşlerinin IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında, rs2857261 polimorfizminde, GG genotipi çölyak hastalarında, çölyak hastalarının sağlıklı kardeş grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,028$) [OR: 1,5 (1,1-1,9)](Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Homozigot HLA Pozitif Çölyak Hastaları ve Çölyak Hastalarının

Sağlıklı Kardeşlerinin IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip	HomozigotHLA Pozitif Çölyak Hastaları n (%)	Homozigot HLA Pozitif Çölyak Hastalarının SağlıklıKardeşleri n (%)	P
rs2857261 (MboII)	AA	14 (60,9)	6 (75)	0,6
	GG	7 (30)	0 (0)	0,028
	GA	2 (8,7)	2 (25)	0,2
rs10519613 (DraI)	CC	12 (52,2)	4 (50)	0,9
	AA	7 (30,4)	4 (50)	0,3
	CA	4 (17,4)	0 (0)	0,5
rs1057972 (DdeI)	AA	16 (69,6)	4 (50)	0,3
	TT	6 (26,1)	4 (50)	0,2
	AT	1 (4,3)	0 (0)	0,4

Heterezigot HLA-DQ2 pozitif çölyak hastaları ve sağlıklı kardeşlerinin IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında, rs1057972 polimorfizminde, TT genotipi çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde, çölyak hastalarına oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı (p=0,04) [OR: 2,5 (1,1-1,6)] (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Heterezigot HLA Pozitif Çölyak Hastaları ve Çölyak Hastalarının Sağlıklı Kardeşlerinin IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip	HeterezigotHLA Pozitif Çölyak Hastaları N (%)	HeterezigotHLA Pozitif Çölyak Hastalarının SağlıklıKardeşleri N (%)	P
rs2857261 (MboII)	AA	25 (48)	8 (53)	0,9
	GG	22 (42)	6 (40)	0,8
	GA	5 (9,6)	1 (6,7)	0,7
rs10519613 (DraI)	CC	30 (57,7)	10 (66,7)	0,7
	AA	19 (36,5)	5 (33,3)	0,8
	CA	3 (5,8)	0 (0)	0,4
rs1057972 (DdeI)	AA	38 (73,1)	8 (53,3)	0,2
	TT	10 (19,2)	7 (46,7)	0,04
	AT	4 (7,7)	0 (0)	0,5

İki yaş ve altında tanı alan çölyak hastalarının hiçbirisi, rs2857261 polimorfizminde GG genotipe sahip değilken, 1 hastanın rs1057972 polimorfizminde TT genotipe sahip olduğu görüldü [(sırasıyla p=0,1,p=0,8)(Tablo 4.10)].

Tablo 4.10. Erken Yaşta Tanı Alan Çölyak Hastalarının (≤ 2) IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip	Tanı yaşı ≤ 2 yaş		Tanı yaşı > 2 yaş		P
		n (4)	(%)	n (86)	(%)	
rs2857261 (MboII)	GG (+)	0	(0)	37	(43)	P=0,1
	GG (-)	4	(100)	49	(57)	
rs1057972 (DdeI)	TT (+)	1	(25)	18	(20,9)	P=0,8
	TT (-)	3	(75)	68	(79,1)	

Beş yaş ve altında tanı alanlar ile 5 yaşın üstünde tanı alan çölyak hastalarının, rs2857261 polimorfizminin GG genotipi ve rs105797 polimorfizminin TT genotipi karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı [(sırasıyla p=0,8, p=0,6)(Tablo 4.11)].

Tablo 4.11. Tanı Yaşı ≤5 yaş Olan Hastaların IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip	Tanı yaşı ≤5 yaş n (%)	Tanı yaşı > 5 yaş n (%)	P
rs2857261 (MboII)	GG (+)	10 (34,5)	27 (44,3)	P=0,5
	GG (-)	19 (65,5)	34 (55,7)	
rs1057972 (DdeI)	TT (+)	8 (27,6)	10 (18)	P=0,4
	TT (-)	21 (72,4)	50 (82)	

Çölyak hastaları, tanı anındaki belirti ve bulgular yönünden değerlendirildiğinde, rs2857261 polimorfizminde GG genotipi ile, tanı anındaki belirti ve bulgular arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.12). rs1057972 polimorfizminde TT genotipe sahip olanların olmayanlara göre, daha az sıklıkta karın ağrısı şikayetiyle başvurduğu görüldü [(p=0,01) (Tablo 4.13)].

Tablo 4.12. rs2857261 Polimorfizminin GG Genotipi ile Tanı Anındaki Belirti ve Bulgular Yönünden Karşılaştırılması

Belirti (n)	rs2857261 GG		P
	GG (+) (n) (%)	GG (-) (n) (%)	
Karın Ağrısı (47)	20 (42,6)	27 (57,4)	0,7
Kilo Alamama(38)	15 (39,5)	23 (60,5)	0,7
Malnütrisyon (PEM) (25)	12 (48)	13 (52)	0,8
Boy Kısalığı (23)	9 (39,1)	14 (60,9)	0,8
İştahsızlık (18)	8 (44,4)	10 (55,6)	0,9
İshal (17)	8 (47,1)	9 (52,9)	0,7
Osteoporoz (17)	8 (47)	9 (53)	0,9
Karın Şişliği (14)	6 (42,9)	8 (57,1)	0,8
Anemi (14)	4 (28,6)	10 (71,4)	0,4
Kabızlık (12)	4 (33,3)	8 (66,7)	0,7
Osteopeni (11)	5 (45)	6 (55)	0,5
Kusma (7)	2 (28,6)	5 (71,4)	0,6

Tablo 4.13. rs1057972 Polimorfizminin TT Genotipi ile Tanı Anındaki Belirti Ve Bulguların Karşılaştırılması

Belirti (n)	rs1057972 TT		P
	TT(+) (n) (%)	TT(-) (n) (%)	
Karın Ağrısı (47)	15 (31,9)	32 (68,1)	0,01
Kilo Alamama(38)	9 (23,7)	29 (76,3)	0,8
Malnutrisyon (PEM) (25)	4 (16)	21 (84)	0,6
Boy Kısalığı (23)	4 (17,4)	19 (82,6)	0,7
İştahsızlık (18)	4 (22,2)	14 (77,8)	0,5
İshal (17)	4 (23,5)	13 (76,5)	0,7
Osteoporoz (17)	3 (16,7)	14 (83,3)	0,7
Karın Şişliği (14)	5 (35,7)	9 (64,3)	0,1
Anemi (14)	3 (21,4)	11 (78,6)	0,7
Kabızlık (12)	3 (25)	9 (75)	0,7
Osteopeni (11)	2 (15,4)	9 (84,6)	0,6
Kusma (7)	1 (14,3)	6 (85,7)	0,5

Klasik çölyak hastaları ve atipik çölyak hastalarının, rs2857261 polimorfizminin GG genotipi ve rs1057972 polimorfizminin TT genotipi karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 4.14.)

Tablo 4.14. Klasik ve Atipik Çölyak Hastalarının IL-15 Gen Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip	Klasik Çölyak n (%)	Atipik Çölyak n (%)	P
rs2857261 (MboII)	GG	10 (40)	27 (41,5)	0,8
rs1057972 (DdeI)	TT	6 (24)	3 (20)	0,8

Çölyak hastalarının Marsh sınıflamasına göre histopatolojik hasar evrelemesi ile rs2857261 polimorfizminin GG genotipi ve rs1057972 polimorfizminin TT genotipi karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı [(p=0,2, p=0,3)(Tablo 4.15)].

Tablo 4.15.Çölyak Hastalarının rs2857261 GG ve rs1057972 TT Polimorfizimleri ile Histopatolojik Evre Yönünden Karşılaştırılması (Marsh)

	rs2857261 GG		rs1057972 TT		p
	GG (+) n (%)	GG (-) n (%)	TT (+) n (%)	TT (+) n (%)	
Tip-1	1 (16,7)	5 (83,3)	0 (0)	6 (100)	0,3
Tip-3	36 (42,9)	48 (57,1)	19 (22,6)	65 (77,4)	

5. TARTIŞMA

Çölyak hastalığı, genetik olarak yatkınlığı olan bireylerde, gluten alımı ile ortaya çıkan, ince bağırsağın kronik enflamasyonu ile karakterize, immünolojik, genetik ve çevresel mekanizmalar ile gelişen, otoimmün bir enteropatidir (1).

Daha önceleri çölyak hastaları, yaklaşık 2-5 yaşlar arasında tanı alırken, son dönemde, tanı yaşı 8-10 yaş şeklinde değişmiştir. Maki ve arkadaşlarının, yaptıkları çalışmada, tanı yaşının daha çok okul çağı ve adolesan döneme doğru kaydığı bildirilmiştir (184). Ülkemizde ise, Balamtekin ve arkadaşları, Hacettepe Üniversitesinde, 220 çölyak hastasında yaptıkları çalışmada, yaş ortalamasını 7 yıl olarak tespit etmişlerdir (31). Dalgıç ve çalışma grubu, yaptıkları çok merkezli çalışmada ise, ÇH tanısı konan hastaların yaş ortalamasını, 12 yıl olarak bildirmişlerdir (38). Bizim çalışmamızda da, son literatür bilgilerine benzer şekilde, çölyak hastalarının tanı yaşının 8 olduğu görülmüştür. Bu durum, son dönemde serolojik ve genetik tetkiklerin yaygınlaşmasıyla birlikte, daha önce tanı konamayan geç yaşlardaki çölyak hastalarının tanısının mümkün olmasıyla açıklanabilir.

Çölyak hastalığı, bazı çalışmalarda aksi gösterilse de, çoğu çalışmaya göre kız cinsiyette, erkeklerden daha sık görülür. Roma ve arkadaşları, kız/erkek oranını 2/1, Snyder ve arkadaşları 3/1 şeklinde bulurken, Akbari ve arkadaşları ile Bordella ve arkadaşları her iki cinsiyette eşit olduğunu bildirmişlerdir (185-188). Ülkemizde ise, Balamtekin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, çölyak tanılı hastaların %60,9'u kız, %39,1'i erkek olarak bildirilmiştir (31). Dalgıç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, yeni çölyak tanısı konan hastaların %64,2'si kız, %35,8'i erkek olarak bildirilmiştir (38). Bizim çalışmamızda ise, çölyak hastalarının %55'inin kız, %45'inin erkek olduğu görülmüştür. Literatür bilgilerine benzer şekilde, ÇH'nin, kızlarda erkeklerden daha sık olduğu saptanmıştır. Bu sonuç, çölyak hastalığının otoimmün bir hastalık olması ve bazı çalışmalarda gösterildiği gibi, patogeneizde etkili olan HLA-DQ2 pozitifliğinin toplumda kızlarda daha yaygın olması ile açıklanabilir (189).

Çölyak hastalarının birinci derece akrabalarında, Tip-1 DM, hipotiroidi, romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi sistemik otoimmün hastalığı olanlarda, ÇH gelişme riski daha yüksektir. Bu durum çölyak hastalarının birinci

derece akrabalarının, hastalarla benzer HLA ve non-HLA genetik "locuslarına" sahip olmasıyla açıklanabilir (188).

Fasono ve arkadaşları, çölyak hastalarının birinci derece akrabalarında, hastalık riskinin 1/39, ikinci derece akrabalarında 1/56 olduğunu göstermişlerdir (186). Gudjonsdottir ve arkadaşları ise, çölyak hastalarının birinci derece akrabalarında, ÇH görülme sıklığını %12,9 olduğunu tespit etmişlerdir (186,187). Colin ve arkadaşları yaptıkları literatür taramasında, çölyak hastalarında tip-1 DM (%5,4-7,4), tiroid hastalıkları (% 2-10), Addison hastalığı gibi otoimmün hastalık sıklığının artmış olduğunu bildirmişlerdir (188). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, çölyak tanıları hastaların; %6,4'ünde ailede ÇH öyküsünün mevcut olduğunu, %4,1'inde Tip-1 DM'nin, %3,2'sinde hipotroidinin, eşlik ettiği bildirilmiştir (191). Bizim çalışmamızda ise, çölyak hastalarının %7,8'inde birinci derece akrabalarında çölyak hastalığı öyküsü olduğu görülmüştür. Çölyak hastalarının % 13,3'ünde Tip-1 DM, %6,7'isinde hipotirodi, %2,2'sinde ülseratif kolit olduğu tespit edilmiştir. Tip-1 DM ve hipotirodi sıklığının, literatür bilgilerine oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durum, son yıllarda otoimmün hastalık sıklığının artmasına ve ÇH ile otoimmün hastalık beraberliğine olan bilincin artmasına bağlanabilir.

Çölyak hastalığı çok geniş ve değişken klinik belirti ve bulgulara sahiptir. Daha önceleri ishal, karın ağrısı, karın şişliği gibi klasik belirti ve bulguların sıklığı fazlayken, son dönemde atipik belirti ve bulgularla başvuru sıklığı giderek artmıştır. Snyder ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, çölyak hastalarının, klasik belirtilerin yanında, boy kısalığı (%6), anemi (%8), vitamin eksiklikleri (%5), osteoporoz (%6) gibi atipik gastrointestinal belirti ve bulgularla başvurduğunu göstermişlerdir (182). Ülkemizde Balamtekin ve arkadaşları ise, çölyak hastalarının %34,6'sının, boy kısalığı, artrit, anemi, kabızlık, alopesi, obezite, hipertransaminemi gibi atipik bulgularla başvurduklarını bildirmişlerdir (31). Bizim çalışmamızda da, son dönem literatür bulgularına benzer şekilde, başvuru anında çölyak hastalarının; karın ağrısı, ishal, karın şişliği, gibi klasik belirti ve bulguların yanında, boy kısalığı (%25,6), anemi (%15,6), döküntü (%2,2), kabızlık (%13,3), osteopeni-osteoporoz (%34), obezite (%7,8) gibi atipik belirti ve bulgularla başvurdukları görülmüştür. Bu durum, buzdağı modelinde olduğu gibi, yeni tanımlanan çok çeşitli klinik çölyak varyantlarının varlığı ve ÇH farkındalığının artmış olmasına bağlanabilir.

Yapılan çalışmalarda ve son ESPHGAN raporunda, ÇH tanısında, serolojik testlerin özgüllük ve duyarlılıklarının giderek daha çok arttığı bildirilmiştir. Özellikle DTG IgA, DTG IgG, EMA IgA testlerinin çölyak hastalarında yüksek güvenilirliğe sahip olduğu, AGA Ig A'nın ise eskisi kadar sık kullanılmadığı, küçük yaştaki çölyak hastaları dışında güvenilirliğinin düşük olduğu vurgulanmıştır (193,194). Balamtekin ve arkadaşlarının, 220 çölyak hastasında yaptığı çalışmada, hastaların %91'inde DTG IgA, %91,3'ünde EMA IgA pozitif olduğu tespit edilmiştir. Demir ve arkadaşlarının 104 çölyak hastasında yaptığı çalışmada ise, AGA IgA pozitifliğinin %76, EMA IgA pozitifliğinin %90 olduğu görülmüştür (195). Bizim çalışmamızda ise, DTG IgA pozitifliği %94,4, DTG Ig G pozitifliği %74,4, EMA Ig A pozitifliği %79,7, AGA IgA pozitifliği %72 olarak saptanmıştır. Son literatür bilgileri ile paralel olarak, DTG IgA ve DTG IgG pozitifliğinin yüksek olduğu, AGA Ig A pozitifliğinin ise daha az sıklıkta tespit edilmiştir. Fakat EMA IgA pozitifliği, çalışmadan çalışmaya geçişle birlikte, çölyak hastalarında yaklaşık %85-95 pozitifliğe sahipken, bizim çalışmamızda göreceli olarak daha az sıklıkta pozitif tespit edilmiştir. Bu sonuç, merkezler arası laboratuvar standardizasyonlarının ve değerlendirmeyi yapanların deneyim ve tecrübelerinin farklı olması ile açıklanabilir.

Çölyak hastalığının patogenezinde, genetik faktörler çok önemli yere sahiptir. Son çalışmalarda, ÇH ile ilgili HLA-DQ2/8 ve non-HLA birçok gen bölgesi ile özel polimorfizm bölgeleri saptanmıştır. HLA-DQ2/8 pozitifliği çölyak hastalığının patogenezinde etkisi yaklaşık olarak %40 olarak bildirilse de, HLA-DQ2/8 pozitifliği, diğer non-HLA gen bölgelerine göre ÇH riskini daha çok arttırmaktadır (193). Yapılan birçok çalışmada çölyak hastalarının yaklaşık %90-95'inde HLA DQ2/8 pozitif olarak saptanmıştır. Ülkemizde, HLA-DQ2 pozitifliği %52-97, HLA-DQ8 pozitifliği %6-15 olarak bildirilmiştir (196-198). Bizim çalışmamızda, çölyak hastalarının %25'i homozigot, %58'i heterozigot olmak üzere %83'ü HLA-DQ2 pozitif olduğu görülmüştür. HLA-DQ8 pozitifliği ise tespit edilmemiştir. Bu da, her ne kadar ülkemizde HLA doku grup dağılımı ile ilgili geniş tabanlı prevalans çalışması olmasa da, HLA doku gruplarının dağılımının toplumsal ve yöresel farklılıklar göstermesi ile açıklanabilir. ESPHGAN klavuzunda, HLA-DQ2/8 pozitifliği, ÇH ana kriterleri arasındadır. Bizim çalışmamızda, çölyak hastalarının, 15'inin (%17) HLA-DQ2/8'inin negatif olduğu görülmüştür. Bu konuda literatüre

bakıldığında, Türk toplumunda HLA-DQ2/8 negatif çölyak hastalarının, yaklaşık %2-10 sıklıkta olduğu görülmüştür (192,196,197). HLA-DQ2/8 negatif hastaların varlığı, çölyak hastalığının patogeneğinde, HLA-DQ2/8 pozitifliğinin önemli role sahip olduğu, fakat HLA doku grupları dışında da genetik faktörlerin etkili olduğu görüşünü doğrulamaktadır.

Yine bilindiği gibi, çölyak hastalarının birinci derece yakınlarında, hastalık gelişme riski, normal popülasyona göre daha yüksektir. Normal popülasyonda ÇH gelişme riski, ortalama %0,5-2 arasındayken, ailede ÇH olanlarda ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde bu oranın %5-10 arasında olduğu görülmüştür (196). Ancak aynı HLA pozitifliğine sahip olmasına ve aynı gluten yüküne maruz kalmasına rağmen, aynı ailede, bazı kardeşler çölyak hastası olurken bazıları ise hiç klinik bulgu vermeden, potansiyel çölyak olarak kalabilmektedir. Bu nedenle, bazı kardeşlerin çölyak hastası hale gelmesinde, başka genetik faktörlerin etkisi olabileceği düşünüldü. Valentina ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 249 çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin ,ÇH ile ilişkili olan HLA ve non-HLA gen bölgelerini, (IL-2, IL-12A, IL-21, CCR1, LPP), bu bölgelerin polimorfizmlerini araştırmışlar ve bazı polimorfizmlerin çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde sık olduğunu saptamışlardır (220). Çölyak hastalığı patogeneğini tekrar gözden geçirdiğimizde, IL-15'in HLA dışı genetik faktörlerden biri, olabileceğini gördük.

IL-15, çölyak hastalığında, enterosit hasarından sorumlu, hem kazanılmış, hem de doğal immunitede rol alan anahtar sitokindir. Hem lamina propriyada hem de intraepitelyal lenfositlerde, enflamasyonu artırır. IL-15 diğer stokinlerin salınımını uyararak ve natural killer hücre aktivasyonunu artırarak, ÇH patolojisindeki hücre hasarını meydana getirir. Bu durumdan yola çıkarak çalışmamızda, IL-15 gen polimorfizminin çölyak hastaları ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde, sağlıklı topluma göre farklı olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Kokkonen ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada, IL-15 miktarını ve ekspresyonunu, tedavi edilmemiş çölyak hastalarında, kontrol grubuna oranla hem kanda hem de dokuda anlamlı oranda yüksek saptamışlar, IL-15'in hastalık patogeneğinde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde etkili olabileceğini bildirmişlerdir (106). Literatüre baktığımızda, ÇH patogeneğinde, IL-15 ile birlikte rol alan, IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IL-21, IFN- γ ve TNF- α gibi proinflamatuvar ve anti-enflamatuvar birçok sitokin gen

polimorfizmi ve ÇH ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (6, 202-213). Ayrıca ÇH ile benzer patogeneze sahip olan, romatoid artrit, psöriazis, crohn, ülseratif kolit, Tip-1 DM, astım gibi birçok otoimmün hastalıkta ve IL-15 gen polimorfizmi ile ilgili literatür çalışması mevcuttur (12, 214-219). Ancak ÇH’de, IL-15 gen polimorfizmi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Otoimmün bir hastalık olan ve ÇH ile birlikte görülebilen, psöriazis ile ilgili yapılan çalışmalarda, aktif psöriazis hastalarında hem IL-15 ekspresyonunun hem de serum seviyesinin arttığı gösterilmiştir (12). Xue-Jun Zhang ve arkadaşları 632 psöriazisli hasta ve 485 kontrol grubu üzerinde, yaptıkları çalışmalarında, IL-15’in özellikle rs2857261, rs10519613, rs1057972 ve g96516 polimorfizmlerini araştırmışlar, bazı genotiplerin, aktif psöriazisli hastalarda, kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu polimorfizmlerin psöriazisli hastaların tanı ve tedavisinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir (12). Bu verilerden yola çıkarak, çalışmamızda, IL-15 geninin, rs2857261, rs10519613 ve rs1057972 polimorfizm bölgeleri araştırılmıştır.

Öncelikle çölyak hastaları, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin ve kontrol grubunun IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırılmıştır. rs2857261 polimorfizminde GG genotipin, rs10519613 polimorfizminde CA genotipin, rs1057972 polimorfizminde TT genotipinin gruplar arasında farklı dağılım gösterdiği görülmüştür. Daha sonra çölyak hastalarıyla kontrol grubu ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşleriyle kontrol grubu karşılaştırıldığında, çölyak ailelerde rs2857261 polimorfizminde GG genotipin ve rs1057972 polimorfizminde TT genotipin, kontrol grubuna yani sağlıklı bireylere oranla daha sık olduğu; CA polimorfizminin ise çölyak ailelerde sağlıklı bireylere göre daha az olduğu görülmüştür. Bu verilerden yola çıkarak, rs2857261 polimorfizminde GG genotipin ve rs1057972 polimorfizminde TT genotipin, çölyak hastalığına yatkınlığı artırıcı etkisi olduğu düşünülmüştür. Daha sonra aynı aile içerisinde, çölyak hastası ya da sağlıklı kardeş ayırımında bu genotiplerin etkisini araştırmak için, çölyak hastaları ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırılmıştır. Ancak bu iki polimorfizmden hiçbirisi çölyak hastası olma riskini artırıcı olarak bulunmamıştır. rs10519613 polimorfizminde CA genotipi çölyak hastalarında, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerine oranla yüksek saptanmıştır, fakat kontrol

grubuyla karşılaştırıldığında, kontrol grubunda çölyak ailelere oranla yüksek tespit edilmiştir. Bu sebeple rs1019613 polimorfizminde CA genotipin, çölyak hastalarında, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerine oranla yüksek saptanması, anlamlı olarak kabul edilmemiştir. Çölyak hastalığının patogeneğinde, HLA-DQ2/8 pozitifliği, önemli bir role sahip olduğundan, iki grubu daha sağlıklı karşılaştırabilmek için, HLA-DQ2/8 pozitifliği olan çölyak hastaları ve çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin IL-15 gen polimorfizmleri karşılaştırılmıştır. rs1057972 polimorfizminde TT genotipinin odds oranının, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde, 2,4 kat daha sık olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlarla rs1057972 polimorfizminde TT genotipin aynı aile içinde ÇH'den koruyucu etkiye sahip olduğu izlenimi edinilmiştir. Bundan sonraki aşamada, iki grup arasındaki genetik farklılığı en aza indirmek, daha sağlıklı bir karşılaştırma yapabilmek için, HLA-DQ2'si homozigot pozitif olgular ve HLA-DQ2'si heterozigot pozitif olgular, kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Heterozigot HLA-DQ2 pozitif olan gruplar karşılaştırıldığında, rs1057972 polimorfizminde TT genotipinin odds oranının, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinde, çölyak hastalarına göre 2,5 kat daha sık olduğu görülmüştür. Buna göre heterozigot HLA-DQ2 pozitif olanlarda, rs1057972 polimorfizminde TT genotipin çölyak hastalığından koruyucu etkisinin olduğu, fakat rs2857261 polimorfizminde GG genotipin hastalık yapıcı etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. HLA-DQ2'si homozigot pozitif olan çölyak hastaları ve sağlıklı kardeşleri karşılaştırıldığında, rs2857261 polimorfizminde GG genotipinin odds oranının, çölyak hastalarında, çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerine oranla 1,5 kat daha sık olduğu, rs1057972 polimorfizminde TT genotipin ise hastalıktan koruyucu etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bu verileri birleştirdiğimizde ise, rs2857261 polimorfizminde GG genotipin sadece homozigot HLA-DQ2 pozitif olanlarda çölyak hastalığını arttırdığı, rs1057972 polimorfizminde TT genotipin ise sadece heterozigot HLA-DQ2 pozitif olanlarda hastalıktan koruduğu, homozigotlarda koruyucu güce sahip olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar göstermiştir ki, IL-15 polimorfizmi çölyak hastalığı oluşumunda önemli bir faktördür, ancak HLA-DQ2 pozitifliği, özellikle homozigot pozitifliği çok daha güçlü bir etkidir. Nitekim literatürde de homozigot HLA-DQ2 pozitif olguların heterozigotlara göre daha yüksek oranda çölyak hastası olduğu bildirilmiştir (121,122).

Literatürde her ne kadar, bizim kullandığımız, polimorfizm bölgeleri çalışılmamış olsa da, romatoid artritli veya psöriazisli hastalarla yapılan çalışmalarda bazı IL-15 gen polimorfizmlerinin, hastalık prezentasyonunda ve serolojik takibinde etkili olabileceği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da ikincil hedef olarak, IL-15 gen polimorfizminin, hastalık prezentasyonuna, tanı anındaki belirti ve bulgulara, tanı yaşına ve histopatolojik hasara etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Knevel ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, bazı IL-15 gen polimorfizmlerinin, romatoid artritli hastalarda, eklem hasarının derecesi ile korele olduğunu bildirmişlerdir (11). Jesus ve arkadaşları, Meksika'da yaptıkları çalışmada, IL-15'in rs2254514 polimorfizminin, ülseratif kolit hastalarının tanı yaşları ile ilişkili olduğunu ve CC genotipe sahip olanların daha erken yaşlarda tanı aldıklarını bildirmişlerdir (216). Bizim çalışmamızda, IL-15 gen polimorfizminin, çölyak hastalarının tanı anındaki belirti ve bulgular üzerine çok fazla etkisinin olmadığı, sadece rs1057972 polimorfizminde, TT genotipe sahip olanların daha az karın ağrısı ile başvurduğu saptanmıştır. Ayrıca IL-15 gen polimorfizminin, klasik çölyak hastaları ve atipik çölyak hastaları ayırımında etkili olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde IL-15 gen polimorfizminin, erken tanı yaşı (≤ 2 yaş) üzerine de, etkisinin olmadığı görülmüştür. Fakat erken yaşta tanı alan hasta sayısının az olması sebebiyle, tanı yaşı ≤ 5 yaş olan çölyak hastalarının IL-15 gen polimorfizmlerine bakılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çölyak hastalığı, izole intraepitelyal lenfosit artışından, total villoz atrofiye kadar değişen histopatolojik evrede olabilir. Marsh ve modifiye Marsh kriterlerine göre sınıflandırılır (199,200). Balamtekin ve arkadaşları, tanı anında çölyak hastalarının çoğunun , hafif ve orta evre ile başvurduklarını göstermişlerdir. (31). Bizim çalışmamızda, Marsh sınıflamasına göre, çölyak hastalarının %6,3ü Tip-1 , %93,7'si Tip-3 olduğu tespit edilmiştir. Çölyak hastalarının histopatolojik evresi ile IL-15 gen polimorfizmi karşılaştırıldığında, IL-15 gen polimorfizminin, histopatolojik hasar üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak görülmüştür ki, çölyak ailelerde rs2857261 polimorfizminde GG genotipi, rs1057972 polimorfizminde TT genotipi, sağlıklı bireylere göre fazladır. HLA homozigot pozitif olduğu zaman rs2857261 polimorfizminde GG genotipi, çölyak olma riskini arttırmaktadır. Heterozigot olgularda ise bu riski

arttıramamaktadır. rs1057972 polimorfizminde TT genotipi ise sadece heterozigot olgularda, çölyak hastalığından korumaktadır, homozigot olgularda korumamaktadır. Bu bulgular çölyak hastalığı üzerinde, HLA locusunun non HLA locuslara göre etkisinin fazla olduğunu desteklemektedir. IL-15 gen polimorfizminin, çölyak hastalığının tanı yaşı, tanı anındaki belirti-bulgular ve histopatolojik hasar üzerine etkisi yoktur. Çalışmamız çölyak hastalarında IL-15 gen polimorfizmini araştıran ilk çalışmadır. Ancak tespit edilen bu polimorfizmlerin serum ve dokudaki IL-15 düzeylerine etkisi araştırılmamıştır. Bu polimorfizmlerinin serumdaki ve dokudaki IL -15 düzeylerini arttırdığı veya azalttığına dair yorum yapılamamıştır. Hastalığın patogenezinde özellikle doku düzeyindeki IL-15 seviyesi önemlidir. Bu nedenle tespit ettiğimiz rs2857261, rs1057972 polimorfizmlerinin, serum ve dokudaki IL-15 düzeyine etkisini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- ❖ Çölyak hastalığı kızlarda erkeklere oranla daha sık tespit edilmiştir (K:E=49/41).
- ❖ Çölyak hastalarının ortalama tanı yaşının 8 yıl olduğu görülmüştür.
- ❖ Çölyak hastalarının, 25'inin (%27) klasik gastrointestinal sistem belirti ve bulgularla, 65'inin (%67) atipik gastrointestinal sistem dışı belirti ve bulgularla başvurduğu görülmüştür.
- ❖ Çölyak hastalarının, birinci derece akrabalarında da da çölyak hastalığının sık olduğu görülmüştür (%7,8).
- ❖ Çölyak hastalarının %13,3'üne Tip-1 DM, %6,7'sine otoimmün troidit, %2,2'sine ülseratif kolit gibi sistemik hastalıkların eşlik ettiği tespit edilmiştir.
- ❖ Tanı anında, çölyak hastalarında serolojik olarak en sık DTG IgA'nın (%94,4) pozitif olduğu görülmüştür.
- ❖ Çölyak hastalarının %25'i homozigot, %58'i heterozigot olmak üzere %83'ünün HLA-DQ2 pozitif olduğu tespit edilmiştir,
- ❖ Çalışmamızda HLA-DQ8 pozitif olan hasta tespit edilmemiştir.
- ❖ Çölyak hastalarının endoskopik muayenelerinde, en sık duodenumda mozaik görünüm (%53) saptanmıştır.
- ❖ Tanı anında, çölyak hastalarının en sık Marsh Tip-3 evresinde (%93,3) olduğu görülmüştür.

- ❖ Çölyak ailelerde rs2857261 polimorfizminde GG genotipin ve rs1057972 polimorfizminde TT genotipin, kontrol grubuna yani sağlıklı bireylere oranla daha sık olduğu görülmüştür.
- ❖ IL-15 gen polimorfizmi çölyak hastalığı oluşumunda ve çölyak hastalarıyla çölyak hastalarının sağlıklı kardeşlerinin ayırımında ekilidir. Fakat bu etki tek başına yeterli değildir.
- ❖ Çölyak hastalığı üzerinde, HLA doku gruplarının etkisi, IL-15 gen polimorfizmlerinin etkisinden daha fazladır.
- ❖ IL-15 gen polimorfizminin, çölyak hastalığının tanı yaşı, tanı anındaki belirti-bulgular ve histopatolojik hasar üzerine etkisi yoktur.
- ❖ Klasik çölyak hastaları ve atipik çölyak hastaları arasında, IL-15 gen polimorfizmleri arasında bir farklılık yoktur.
- ❖ IL-15'in çölyak hastalığı patogenezinde genetik rolünü daha iyi anlayabilmek için, IL-15'in serum ve doku düzeyleri ile gen polimorfizmlerini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Green PH, Cellier C. Celiac Disease. *NEJM* 2007; 357: 1731-43.
2. Branski D, Troncone R. Gluten-Sensitive Enteropathy (Celiac Disease). In: Kliegman RM, Stanton BF, Schor NF, St. Geme JW, Behrman RE. *Nelson Textbook of Pediatrics* 19 th ed, Philadelphia: Elsevier Saunders 2014: 1308-1309.
3. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *JPGN* 2012; 54: 136-60.
4. Polanco I. Celiac Disease. *JPGN* 2008; 47: 3-6.
5. Shamir R, Heyman MB, Koning F, Wijmenga C, Gutierrez-Achury J, Casatti C, et al. Celiac Disease: Past, Present and Future Challenges Dedicated to the Memory of Our Friend and Colleague, Prof David Branski (1944-2013). *JPGN* 2014;59: 1-20.
6. Barisani D, Ceroni S, Meneveri R, Cesana BM, Bardella MT. Genetics IN Medicine, IL-10 polymorphisms are associated with early-onset celiac disease and severe mucosal damage in patients of Caucasian origin. *Genet Med* 2006; 8: 169-74.
7. Gudjonsdottir AH, Nilsson S, Naluai AT, Ek J, Amundsen SS, Wahlström J, Ascher H. Association between genotypes and phenotypes in coeliac disease. *JPGN* 2009; 49: 165-69.
8. Wolters VM, Wijmenga C. Genetic background of celiac disease and its clinical implications. *AJG* 2008; 103: 190-95.
9. Latiano A, Mora B, Bonamico M, Megiorni F, Mazzilli MC, Cucchiara S, et al. Analysis of candidate genes on chromosomes 5q and 19p in celiac disease. *JPGN* 2007; 45: 180-86.
10. Abadie V, Jabri B. IL-15: a central regulator of celiac disease immunopathology. *NIH Public Access, Immunol Rev* 2014; 260: 221-34.

11. Knevel R, Krabben A, Brouwer E, Posthumus MD, Wilson AG, Lindqvist E, et al. Genetic variants in IL15 associate with progression of joint destruction in rheumatoid arthritis: a multicohort study. *Ann Rheum Dis* 2012;71: 1651–57.
12. Zhang XJ, Yan KL, Wang ZM, Yang S, Zhang GL, Fan X, et al. Polymorphisms in interleukin-15 gene on chromosome 4q31.2 are associated with psoriasis vulgaris in Chinese population. *JID* 2007;127: 2544-51.
13. Zawahir S, Safta A, Fasano A. Pediatric celiac disease. *Curr Opin Pediatr* 2009; 21: 655- 60.
14. Steele R, CRF. Diagnosis and management of celiac disease. *Postgrad Med J* 2011; 87: 19-25.
15. Meresse B, Ripoché J, Heyman M, Cerf-Bensussan N. Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosal Immunol* 2009; 2(1): 8-23.
16. Losowsky MS. A history of coeliac disease. *Dig Dis* 2008; 26: 112-20.
17. Catassi C, Yoccha SK. The Global Village of Celiac Disease. In: Fasano A, Troncone R, Branski D (eds): *Frontiers in Celiac Disease. Pediatric and Adolescent Medicine*. Basel, Karger. 2008; 12: 23-31.
18. Catassi C, Räscht IM, Gandolfi L, Pratesi R, Fabiani E, El Asmar R, et al. Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet* 1999; 354: 647-48.
19. Rostami K, Malekzadeh R, Shahbazkhani B, Akbari MR, Catassi C, et al. Coeliac disease in Middle Eastern countries: a challenge for the evolutionary history of this complex disorder? *Dig Liver Dis* 2004; 36: 694-97.
20. Adams F [trans]. *On the Cœliac Affection. The Extant Works of Aretaeus, the Cappadocian*. London: Sydenham Society; 1856.
21. Guandalini S. A Brief History of Celiac Disease. *Impact* 2007; 7: 1-4.
22. Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *BMJ* 1988;297: 1646–49.
23. Abel EK. The rise and fall of celiac disease in the United States. *J Hist Med Allied Sci* 2010;65: 81-105.

24. Briani C, Samaroo D, Alaedini A. Celiac disease: From gluten to autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7: 644-50.
25. Mary M. Niewinski. Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet. *J Am Diet Assoc* 2008;108: 661-72.
26. Erdil A, Ateş Y. Gluten Enteropatisinde Son Gelişmeler Güncel Gastroenteroloji Dergisi 2005; 9: 18-28.
27. Steffen Husby. New ESPGHAN Criteria: the Changing Face of Coeliac Disease. 43rd Annual Meeting of The European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition 2011;3: 99.
28. Murray JA. The widening spectrum of celiac disease *Am J Clin Nutr* 1999;69: 354-65.
29. Cummins AG, Roberts-Thomson IC. Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol* 2009;24: 1347-51.
30. Lionetti E, Gatti S, Puliventi A, Catassi C. Celiac Disease from a global perspective. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2015; 29: 365-79.
31. Balamtekin N, Uslu N, Baysoy G, Usta Y, Demir H, Saltik-Temizel IN, et al. The presentation of celiac disease in 220 Turkish children. *Turk J Pediatr* 2010;52: 239-44.
32. Rutz R, Ritzler E, Fierz W, Herzog D. Prevalence of asymptomatic celiac disease in adolescents of eastern Switzerland *Swiss Med Wkly* 2002; 26;132: 43-47.
33. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland, *NEJM* 2003; 19:348: 2517-24.
34. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, Coppa GV, Giorgi PL, Pierdomenico R, et al. The coeliac iceberg in Italy: A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects *Acta Paediatr Suppl* 1996; 412: 29-35.
35. Rubio-Tapia A, Ludvigsson JF, Brantner TL, Murray JA, Everhart JE. The prevalence of celiac disease in the United States. *AJG* 2012; 107: 1538-44.

36. Demirçeken FG, Kansu A, Kuloğlu Z, Girgin N, Güriz H, Ensari A. Human tissue transglutaminase antibody screening by immunochromatographic line immunoassay for early diagnosis of celiac disease in Turkish children. *Turk J Gastroenterol* 2008;19: 14-21.
37. Ertekin V, Selimoğlu MA, Kardaş F, Aktaş E. Prevalence of celiac disease in Turkish children. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 689-91.
38. Dalgıç B, Sarı S, Baştürk B, Ensari A, Eğritaş O, Bükülmez A, et al. Prevalence of celiac disease in Turkish school children. *AJG* 2011; 106: 1512-17.
39. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T et al. Prevalence of celiac disease among children in Finland. *NEJM* 2003; 348: 2517–24.
40. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med* 2003; 163: 286–92.
41. Rewers M. Epidemiology of celiac disease: what are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? *Gastroenterology* 2005; 128: 47-51.
42. Hoffenberg EJ, MacKenzie TL, Barriga KJ, Eisenbarth GS, Bao F, Haas JE, et al. A prospective study of the incidence of childhood celiac disease. *J Pediatr* 2003; 143: 308–14.
43. Nistico L, Fagnani C, Coto I, Percopo S, Cotichini R, Limongelli MG et al. Concordance, disease progression, and heritability of celiac disease in Italian twins. *Gut* 2006; 55: 803-8.
44. Mearin ML. Celiac disease among children and adolescents. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2007; 37: 86-105.
45. Alencar ML, Ortiz-Agostinho CL, Nishitokukado L, Damião AO, AbrantesLemes CP, Leite AZ, et al. Prevalence of celiac disease among blood donors in São Paulo: the most populated city in Brazil. *Clinics (São Paulo)* 2012; 67: 1013-18.

46. Vijgen S, Alliet P, Gillis P, Declercq P, Mewis A. Seroprevalence of celiac disease in Belgian children and adolescents. *Acta Gastroenterol Belg* 2012; 75: 325-30.
47. Farahmand F, Mir-Nasseri MM, Shahraki T, Yourdkhani F, Ghotb S, Modaressi V, et al. Prevalence of occult celiac disease in healthy Iranian school age children. *Arch Iran Med* 2012; 15: 342-45.
48. Kochhar R, Sachdev S, Kochhar R, Aggarwal A, Sharma J, Prasad KK, et al. Prevalence of coeliac disease in healthy blood donors: a study from North India. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 530-32.
49. Katz KD, Rashtak S, Lahr BD, Melton LJ 3rd, Krause PK, Maggi K, et al. Screening for celiac disease in a North American population: sequential serology and gastrointestinal symptoms. *AJG* 2011; 106: 1333-39.
50. Alarida K, Harown J, Ahmaida A, Marinelli L, Venturini C, Kodermaz G, et al. Coeliac disease in Libyan children: a screening study based on the rapid determination of anti-transglutaminase antibodies. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 688-91.
51. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, et al. Coeliac EU Cluster, Project Epidemiology. The prevalence of celiac disease in Europe: Results of a centralized, international mass screening Project. *Ann Med* 2010; 42: 587-95.
52. Bahari A, Karimi M, Sanei-Maghaddam I, Firouzi F, Hashemi M. Prevalence of celiac disease among blood donors in Sistan and Balouchestan Province, Southeastern Iran. *Arch Iran Med* 2010; 13: 301-5.
53. Roka V, Potamianos SP, Kapsoritakis AN, Yiannaki EE, Kaukaulis GH, Stefanidis I, et al. Prevalence of coeliac disease in the adult population of central Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 982-87.
54. Mongi BH, Kallel-Sellami M, Kallel L, Lahmer A, Halioui S, Bouraoui S, et al. Prevalence of coeliac disease in Tunisia: mass-screening study in schoolchildren. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 687-94.

55. Akbari MR, Mohammadkhani A, Fakheri H, Javad- Zahedi M, Shahbazkhani B, Nouraie M, et al. Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 1181-86.
56. Remes-Troche JM, Ramirez-Iglesias MT, Rubio-Tapia A, Alonso-Ramos A, Velazquez A, Usanca LF. Celiac disease could be a frequent disease in Mexico: prevalence of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 697-700.
57. Mankai A, Landolsi H, Chahed A, Gueddah L, Limem M, Ben Abdesslem M, et al. Celiac disease in Tunisia: serological screening in healthy blood donors. *Pathol Biol* 2006; 54: 10-13.
58. Stroikova M, Augul N, Gureev J, Efimanova T, Pankratova E, Krivzova L, et al. Screening of blood donors for tissue transglutaminase antibodies in the Ryazan area. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 617-19.
59. Melo SB, Fernandes MI, Peres LC, Tronson LE, Galvao LC. Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1020-25.
60. Antunes H, Abreu I, Nogueiras A, Sa C, Gançalves C, Cleto P, et al. First determination of the prevalence of celiac disease in a Portuguese population. *Acta Med Port* 2006; 19: 115-20.
61. Menardo G, Brizzolara R, Bonassi S, Marchetti A, Dante GL, Pistone C. Population screening for coeliac disease in a low prevalence area in Italy. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 1414-20.
62. West J, Logan RF, Hill PG, Lloyd A, Lewis S, Hubbard R, et al. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut* 2003; 52: 960-65.
63. Shamir R, Lerner A, Shinar E, Lahat N, Sobel E, Bar-or R, et al. The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors. *AJG* 2002; 97: 2589-94.

64. Cilleruelo Pascual ML, Román Riechmann E, Jiménez Jiménez J, Rivero Martín MJ, Bario Torres J, Castano Pascual A, et al. Silent celiac disease: exploring the iceberg in the school-aged population. *An Esp Pediatr* 2002; 57: 321-26.
65. Hovell CJ, Collett JA, Vautier G, Cheng AJ, Sutanto E, Mallon DF, et al. High prevalence of coeliac disease in a population-based study from Western Australia: a case for screening? *Med J Aust* 2001; 175: 247-50.
66. Weile I, Grodzinsky E, Skogh T, Jordal R, Covell B, Krasilnikoff PA. High prevalence rates of adult silent coeliac disease, as seen in Sweden, must be expected in Denmark. *APMIS* 2001; 109: 745-50.
67. Herker J, Lösel A, Conrad K, Hirsch T, Leupold W. Prevalence of asymptomatic coeliac disease in children and adults in the Dresden region of Germany. *Dtsch Med Wochenschr* 2002; 127: 1511-15.
68. Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, Pizarro B, Ia Motta G, de Barrio S, et al. Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *AJG* 2001; 96: 2700-704.
69. Riestra S, Fernandez E, Rodrigo L, Garcia S, Ocio G. Prevalence of coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 398-402.
70. Korponay-Szabó IR, Kovács JB, Czinner A, Goracz G, Yamos A, Szabo T, et al. High prevalence of silent celiac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. *JPGN* 1999; 28: 26-30.
71. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Bauer M, Della Riccia DN, Bizzini F, Biagi F et al. Matrix metalloproteinase pattern in celiac duodenal mucosa. *Lab Invest* 2005; 85: 397-407.
72. Hovdenak N, Hovlid E, Ahsnes L, Fluge G, Erichsen MM, Eide J. High prevalence of asymptomatic coeliac disease in Norway: a study of blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 185-87.
73. Rostami K, Mulder CJ, Werre JM, van Beukelen FR, Kerchhaert J, Crusius JB, et al. High prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors suggests

- a high prevalence of undiagnosed celiac disease in the Dutch population. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 276-79.
74. Kolho KL, Forkkila MA, Savilahti E. Undiagnosed coeliac disease is common in Finnish adults. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 1280-83.
75. Karaarslan, H. Bektaş, M. Bozkaya, H. Soykan, İ. Bahar, K. Özden, A. *Gönüllü Kan Donörlerinde Gluten Enteropatisi Prevalansı* [Poster]. 20. Ulusal Gastroenteroloji Haftası, Kuşadası. *Turk J Gastroenterol* 2003; 14 (Suppl): 18.
76. Gursoy S, Guven K, Şimşek T, Yurci A, Torun E, Koç N et al. The prevalence of unrecognized adult celiac disease in Central Anatolia. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 508-11.
77. Sari S, Yesilkaya E, Egritas O, Bideci A, Dalgic B. Prevalence of celiac disease in Turkish children with autoimmune thyroiditis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 830-32.
78. Dalgıç B, Dursun I, Serdaroğlu A, Dursun A. Latent and potential celiac disease in epileptic Turkish children. *J Child Neurol* 2006; 21: 6-7.
79. Kalaycı AG, Kanber Y, Birinci A, Yıldız L, Albayrak D. The prevalence of coeliac disease as detected by screening in children with iron deficiency anemia. *Acta Paediatr* 2005; 94: 678-81.
80. Cogulu O, Ozkinay F, Gunduz C, Cankaya T, Aydogdu S, Ozgenç F et al. Celiac disease in children with Down syndrome: importance of follow-up and serologic screening. *Pediatr Int* 2003; 45: 395-99.
81. Altuntaş B, Kansu A, Ensari A, Girgin N. Celiac disease in Turkish shortstatured children and the value of antigliadin antibody in diagnosis. *Acta Paediatr Jpn* 1998; 40: 457-60.
82. Maki M, Lohi O, Walker WA, Goulet O, Kleinman R, Sherman P, et al. Enteropathy Sanderson I. *Pediatric Gastrointestinal Disease* 2004;932-43.
83. Freeman HJ, Chopra A, Clandinin MT, Thomson ABR. Recent advances in celiac disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2259-72.
84. Janatuinen EK, Pikkarainen PH, Kemppainen TA, et al. A comparison of diets with and without oats in adults with celiac disease. *NEJM* 1995;333:1033-37.

85. Reunala T, Collin P, Holm K, Pikkarainen P, Miettinen A, Vuolteenaho N, et al. Tolerance to oats in dermatitis herpetiformis. *Gut* 1998;43: 490-93.
86. Kanerva PM, Sonntag-Strohm TS, Ryöppy PH, et al. Analysis of barley contamination in oats using R5 and omega-gliadin antibodies. *J Cereal Sci* 2006;44: 347-52.
87. Wijmenga C, Gutierrez-Achury J. Celiac Disease Genetics: Past, Present and Future Challenges. *JPGN* 2014;59: 4-7.
88. Demir H, Yüce A.(2002). Çölyak Hastalığı ve Otoimmünite. *Katkı Pediatri Dergisi*, 23, 389-94.
89. Ivor DH, Rudolph CD. Disorders of digestion and absorption Rudolph's Pediatrics 2001(21. bs).
90. Heap GA, van Heel DA. Genetics and pathogenesis of coeliac disease. *Semin Immunol* 2009; 21: 346–54.
91. Luís Fernando de Sousa Moraes, Lukasz Marcin Grzeskowiak, Tatiana Fiche de Sales Teixeira, Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Intestinal Microbiota and Probiotics in Celiac Disease, *Clinical Microbiology Reviews* 2014;27: 482-89.
92. Nistal E, Caminero A, Herrán AR, Arias L, Vivas S, Ruiz de Morales JM, et al. Differences of small intestinal bacteria populations in adults and children with/without celiac disease: effect of age, gluten diet, and disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18: 649–56.
93. Cheng J, Kalliomaki M, Heilig HG, Palva A, Lahteenoja H, de Vos WM, et al. Duodenal microbiota composition and mucosal homeostasis in pediatric celiac disease. *BMC Gastroenterol* 2013;13: 113-14.
94. Wacklin P, Kaukinen K, Tuovinen E, Collin P, Lindfors K, Partanen J, et al. The duodenal microbiota composition of adult celiac disease patients is associated with the clinical manifestation of the disease. *Bowel Dis* 2013;19: 934–41.
95. Adlercreutz EH, Wingren CJ, Vincente RP, Merlo J, Agardh D. Perinatal risk factors increase the risk of being affected by both type 1 diabetes and coeliac disease. *Acta Paediatr* 2015;104:178-84.

96. Maaike W, Schaart and Maria L.Mearin. Early Nutrition: Prevention of Celiac Disease?. *JPGN* 2014;59: 18-19.
97. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, et al. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA* 2005;293:2343-51.
98. Ivarsson A, Myleus A, Norstrom F, van der Pals M, Rosen A, Högberg L, et al. Prevalence of childhood celiac disease and changes in infant feeding. *Pediatrics* 2013;131: 687-94.
99. Welander A, Montgomery S, Ludvigsson J, Ludvigsson JF. Breastfeeding Duration and Gluten Introduction Among Mothers With Celiac Disease. *JPGN* 2014;59: 89-92.
100. Agostoni C, Decsi T, Fewtrell M, Goulet O, Kolacek S, Koletzko B, et al. Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *JPGN* 2008;46: 99-110.
101. Lionetti E, Catassi C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. *Int Rev Immunol* 2011; 30: 219-31.
102. Kagnoff MF. Celiac disease. Pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest* 2007; 117: 41-49.
103. Mention JJ, Ben AM, Begue B, Barbe U, Verkarre V, Asnafi U, et al. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 730-45.
104. Benahmed M, Meresse B, Arnulf B, Barbe U, Mention JJ, Verkarre V, et al. Inhibition of IL-15: a new role for IL-15 in the loss of immune homeostasis in celiac disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 994-1008.
105. Hmida NB, Ben Ahmed M, Moussa A, Rejeb MB, Said Y, Kourda N, et al. Impaired control of effector T cells by regulatory T cells: a clue to loss of oral tolerance and autoimmunity in celiac disease? *AJG* 2012;107:604-11.

106. Kokkonen TS, Augustin MT, Kokkonen J, Karttunen R, Karttunen TJ. Serum and tissue CD23, IL-15, and FasL in cow's-milk protein-sensitive enteropathy and in coeliac disease. *JPGN* 2012;54: 525-31.
107. Di Sabatino A, Calarota SA, Vidali F, Macdonald TT, Corazza GR. Role of IL-15 in immune-mediated and infectious diseases. *CGF* 2011;22: 19-33.
108. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN, et al. Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity* 2004;21: 357-66.
109. Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J, et al. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity* 2004;21: 367-77.
110. Lai YG, Hou MS, Lo A, Huang ST, Huang YW, Yang-Yen HF, et al. IL-15 modulates the balance between Bcl-2 and Bam via a Jak3/1-PI3K-Akt-ERK pathway to promote CD8alphaalpha+ intestinal intraepithelial lymphocyte survival. *Eur J Immunol* 2013; 43: 2305–16.
111. Navasota K, Yamada H, Yajima T, Kakemono Y, Kiwanis H, Yoshikai Y. Enforced expression of Bcl-2 partially restores cell numbers but not functions of TCRgammadelta intestinal intraepithelial T lymphocytes in IL-15-deficient mice. *J Immunol* 2007; 178:757–64.
112. Sarra M, Cupi ML, Monteleone I, Franze E, Ronchetti G, Di Sabatino A, et al. IL-15 positively regulates IL-21 production in celiac disease mucosa. *Mucosal Immunol* 2012; 6: 244–55.
113. Chen J, Feigenbaum L, Awasthi P, Butcher DO, Anver MR, Golubeva YG, et al. Insulin-dependent diabetes induced by pancreatic beta cell expression of IL-15 and IL-15Ralpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110:13534-39.
114. Soya, S., n, C. (2014). lyak Hastalığındaki Molekler ve Genetik Gelişmeler. *ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 57, 274-282.?

115. Robinson J, Waller MJ, Parham P, de Groot N, Bontrop R, Kennedy LJ, et al. IMGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 311-14.
116. Falchuk ZM, Rogentine GN, Strober W. Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest* 1972; 51: 1602-05.
117. Keuning JJ, Pena AS, van Leeuwen A, van Hooff JP, van Rood JJ. HLA-DW3 associated with coeliac disease. *Lancet* 1976; 1: 506-08.
118. Tosi R, Vismara D, Tanigaki N, Ferrara GB, Cicimarra F, Buffolano W et al. Evidence that celiac disease is primarily associated with a DC locus allelic specificity. *Clin Immunol Immunopathol* 1983; 28: 395-404.
119. Louka AS, Nilsson S, Olsson M, Talseth B, Lie BA, Ek J, et al. HLA in coeliac disease families: a novel test of risk modification by the 'other' haplotype when at least one DQA1*05-DQB1*02 haplotype is carried. *Tissue Antigens* 2002; 60: 147-54.
120. Vader W, Stepniak D, Kooy Y, Mearin L, Thompson A, van Rood JJ, et al. The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of glutenspecific T cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 12390-95.
121. Karell K, Louka AS, Moodie S, 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.
122. Louka AS, Sollid LM. HLA in coeliac disease: unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens* 2003; 61: 105-17.
123. Karinen H, Karkkainen P, Pihlajamaki J, Janatuinen E, Heikkinen M, Julkunen R, et al. Gene dose effect of the DQB1*0201 allele contributes to severity of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 191-99.

124. Jores RD, Frau F, Cucca F, Grazia Clemente M, Orru S, Rais M, et al. HLA-DQB1*0201 homozygosity predisposes to severe intestinal damage in celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 48-53.
125. Al-Toma A, Goerres M, Meijer JW, Peria AS, Crusius JB, Mulder CJ, et al. Human leukocyte antigen DQ2 homozygosity and the development of refractory coeliac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 315-19.
126. Van Heel DA, Franke L, Hunt KA, Gwilliam R, Zhernakova A, Inouye M, et al. A genomewide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nat Genet* 2007; 39: 827-29.
127. Dubois PC, Trynka G, Franke L, Hunt KA, Romanos J, Curtotti A, et al. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nat Genet* 2010;42: 295-302.
128. Trynka G, Wijmenga C, van Heel DA. A genetic perspective on coeliac disease. *Trends Mol Med* 2010; 16: 537-50.
129. Tjon JM, van Bergen J, Koning F. Celiac disease: how complicated can it get? *Immunogenetics* 2010; 62: 641-51.
130. Demirçeken FG. Gluten Enteropatisi (Çölyak Hastalığı): klasik bir öykü ve güncel gelişmeler. *Güncel Gastroenteroloji* 2011;15: 58-72.
131. Gasbarrini G, Malandrino N, Giorgio V, Fundaro C, Cammarota G, Merra G, et al. Celiac Disease: What's New about it? *Dig Dis* 2008; 26: 121-27.
132. Maki M, Collin P. Coeliac Disease. *Lancet* 1997; 349: 1755-59.
133. Guandalini S. Celiac Disease. In: Guandalini. *Textbook of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. United Kingdom, Taylor and Francis, 2004; 435-50.
134. Kansu, A. Çölyak Hastalığında Güncel Gelişmeler. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2007; 3: 18-24.
135. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children:

- recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *JPGN* 2005; 40: 1-19.
136. Maki M, Lohi O. Celiac Disease. In: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, Shneider BL, Sanderson IR (eds). *Pediatric Gastrointestinal Disease* 4th ed. Hamilton, Ontario: BC Decker Inc 2004: 932-43.
137. Celiloğlu C, Karabiber H, Selimoğlu MA. Atypical presentations of celiac disease. *Turk J Pediatr* 2011; 53: 241-49.
138. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood* 2007; 109: 412-21.
139. Bottaro G, Catalda F, Rotolo N, Spina M, Corazza GR. The clinical pattern of subclinical/silent celiac disease: an analysis on 1026 consecutive cases. *AJG* 1999; 94: 691-96.
140. De Vizia B, Poggi V, Conenna R, Fiorillo A, Scippa L. Iron absorption and iron deficiency in infants and children with gastrointestinal diseases. *JPGN* 1992; 14: 21-26.
141. Kosnai I, Kuitunen P, Siimes MA. Iron deficiency in children with coeliac disease on treatment with gluten-free diet: role of intestinal blood loss. *Arch Dis Child* 1979; 54: 375-78.
142. Ertekin V, Tosun MS, Küçük N. The prevalence of celiac disease in children with iron deficiency anemia. *Turk J Gastroenterol* 2013;24: 334-38.
143. Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LL, Saavalainen P, Koskinen O, et al. Celiac disease without villous atrophy in children: a prospective study. *J Pediatr* 2010; 157: 373-80.
144. Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serological tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005; 128: 25-32.
145. Caja S, Maki M, Kaukinen K, Lindfors K. Antibodies in celiac disease: implications beyond diagnostics. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 103-109.

146. Aydoğdu, S., Tümgör, G.(2005). Çölyak Hastalığı. *Güncel Pediatri Dergisi* 2: 47-53.?
147. Branski D, Troncone R. Gluten-Sensitive Enteropathy (Celiac Disease). In: Kliegman RM, Stanton BF, Schor NF, St. Geme JW, Behrman RE . NelsonTextbook of Pediatrics 18 th ed, Philadelphia: Elsevier Saunders 2012: 1308-11.
148. Armstrong MJ, Robins GG, Howdle P. Recent advances in coeliac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 100-109.
149. Evans KE, Sabders DS. What is the use of biopsy and antibodies in coeliac disease diagnosis?. *J Intern Med* 2011; 269: 572-81.
150. Sapone A, Bai J, Ciacci C, Dolinsek J, Gren PHR, Hadjivassiliou M. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Medicine* 2012; 10: 13-14.
151. Auricchio R, Troncone R. Diagnosis of coeliac disease. In: Fasona A, Troncone R, Branski D (eds): *Frontiers in Celiac Disease. Pediatric and Adolescent Medicine*. Basel, Karger 2008; 12: 99-106.
152. Steele R. Diagnosis and management of coeliac disease in children. *Postgrad Med J* 2011; 87: 19-25.
153. 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.
154. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of celiac disease: time for standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1185-94.
155. Villanacci V, Ceppa P, Tavani E, Vindigni C, Volta U. Coeliac disease: The histology report. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 385-95.
156. Ensari A. Gluten-Sensitive Enteropatıy (Celiac Disease). *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 826-36.

157. Brown I, Mino-Kenudson M, Deshpande V, Lauwers GY. Intraepithelial lymphocytosis in architecturally preserved proximal small intestinal mucosa: an increasing diagnostic problem with a wide differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 1020-25.
158. Chand N, Mihas AA. Celiac Disease. *Current Concepts in Diagnosis and Treatment. J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 3-14.
159. Rubio-Tapia A, Murray JA. Celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 116-22.
160. Walters JRF. Bone mineral density in celiac disease. *Gut* 1994; 35: 150-51.
161. Agostoni C, Decsi T, Fewtrell M, Goulet O, Kolacek S, Koletzko B, et al. Complementary on Nutrition. *JPGN* 2008; 46: 99-110.
162. Mones RL, Atienza KV, Youssef NN, Verga B, Mercer GO, Rosh JR. Celiac crisis in the modern era. *JPGN* 2007; 45: 480-83.
163. Stern M. Current Therapy. In: Fasano A, Troncone R, Branski D (eds): *Frontiers in Celiac Disease. Pediatric and Adolescent Medicine*. Basel, Karger 2008; 12: 114-22.
164. Artan, R.,(2012). Çölyak Hastalığındaki Gelişmeler. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler*, 8, 48-49.?
165. Tye-Din JA, Anderson RP, Ffrench RA, Brown GJ, Hodzman P, Siegel M, et al. The effects of ALV003 predigestion of gluten on immune response and symptoms in celiac disease in vivo. *Clin Immunol* 2010; 134: 289-95.
166. Kapoerchan VV, Wiesner M, Hillaert U, Drijfhout JW, Overhand M, Alard P, et al. Design, synthesis and evaluation of high-affinity binders for the celiac disease associated HLA-DQ2 molecule. *Mol Immunol* 2010; 47: 1091-97.
167. Liang L, Pinier M, Leroux JC, Subirade M. Interaction of α -gliadin with polyanions: design considerations for sequestrants used in supportive treatment of celiac disease. *Biopolymers* 2010; 93: 418-28.
168. Wang W, Uzzau S, Goldblum SE, Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *J Cell Sci* 2000; 113 Pt 24: 4435-40.

169. Tack GJ, Verbeek WH, Schreurs MW, Mulder CJ. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 204-13.
170. Selimoglu MA, Karabiber H. Celiac disease. Prevention and treatment. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 4-8.
171. Litjens NH, Boer k, Zuijderwijk JM, Klepper M, Peeters AM, Prens EP. Allogeneic Mature Human Dendritic Cells Generate Superior Alloreactive Regulatory T Cells in the Presence of IL-15. *J Immunol* 2015;194: 5282-93.
172. Wang Y, Lavender P, Watson J, Arno M, Lehner T. Stress-activated Dendritic Cells (DC) Induce Dual Interleukin (IL)-15- and IL 1 β - mediated Pathways, Which May Elicit CD4+Memory T cells and Interferon (IFN)- Stimulated Genes. *J Biol Chem* 2015;290: 15595-609.
173. Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127: 701-21.
174. Todd A, Fehniger and Michael A, Interleukin 15: Biology and Relevance to Human Disease. *Blood* 2001; 97: 14-32.
175. Kurz T, Strauch K, Dietrich H. I. Multilocus haplotype analyses reveal association between 5 novel IL-15 polymorphisms and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2004; 113: 896-901.
176. Chistensen U, Haagerup A, Binderup G. H. Family based association analysis of the IL-2 and IL-15 genes in allergic disorders. *EJHG* 2006; 14: 227-35.
177. Grabstein K. H, Eisenman J, Shanebeck K, Rauch C, Srinivasan S, Fung V Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science* 1994; 264: 965-68.
178. Bamford RN, Battiata AP, Burton JD, Sharma H, Waldmann TA. Interleukin (IL) 15/IL-T production by the adult T-cell leukemia cell line HuT-102 is associated with a human T-cell lymphotropic virus type I region /IL-15 fusion message that lacks many upstream AUGs that normally attenuates IL-15 mRNA translation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2897-2902.

179. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Genetic Variation in Individuals and Populations: Mutation and Polymorphism, Thompson's Genetics in Medicine, Sixth Edition, W.R. Saunders Company, Philadelphia, 2001; 175.
180. Maki M, Makkonen K, Lahdeaho MJ, Visakopri JK. Changing pattern of childhood celiac disease in Finland. *Acta Paediatr Scand* 1988; 77: 408-12.
181. Roma E, Panayiotou J, Karantana H, Constantinidou C, Siakavellas SI, Krini M, et al. Changing Pattern in the Clinical Presentation of Pediatric Celiac Disease: A 30-Year Study. *Digestion* 2009; 80: 185–91.
182. Snyder CL, Young DO, Green PHR, Taylor AK. Celiac Disease. Seattle 2008; 1993-2015.
183. Akbari MR, Mohammadkhani A, Fakheri H, Javad Zahedi M, Shahbazkhani B, Nouraie M, et al. Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *EJGH* 2006; 18: 1181-86.
184. Borella MT, Fredella C, Saladino V, Trovato C, Cesana BM, Quatrini M, et al. Gluten intolerance: gender and age-related differences in symptoms. *SJG* 2005; 40: 15-19.
185. Megioni F, Mora B, Bonamica M, Barbato M, Montuori M, Viola F, et al. HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: evidence for gender differences and parent-of-origin effects. *AJG* 2008; 103:997-1003.
186. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: A large multicenter study. *Arch Intern Med* 2003; 163:286-92.
187. Gudjonsdottir AH, Nilsson S, Ek J, Kristiansson B, Ascher H. The risk of celiac disease in 107 families with at least two affected siblings. *JPGN* 2004; 38: 338-42.
188. Collin P, Kaukinen K, Valimaki M. Endocrinological disorders and celiac disease. *Endocr Rev* 2002;23: 464- 83.

189. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. Celiac Disease. *Evid Rep Technol Assess* 2004;104: 1-6.
190. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary form on evidence report. *JPGN* 2012;54: 229-41.
191. Demir H, Yüce A, Koçak N, Ozen H, Gürakan F. Celiac Disease in Turkish Children: Presentation of 104 cases. *Pediatrics International* 2000; 42: 483-87.
192. Kuloğlu Z, Doğancı T, Kansu A, Demirçeken F, Duman M, Ensari A, et al. HLA types in Turkish Children with Celiac disease. *Turk Pediatr* 2008; 50: 515-20.
193. Çakır M, Baran M, Uçar F, Akbulut UE, Karlıkkaya N, Ersöz Ş. Accuracy HLA-DQ genotyping in combination with IgA anti-tissue transglutaminase serology and a “scoring system” for the diagnosis of celiac disease in Turkish children. *Turk J Pediatr* 2014;56: 347-53.
194. Tümer L, Altuntaş B, Hasanoğlu A, Söylemezoğlu O. and Arinsoy T. Pattern of human leukocyte antigens in Turkish children with celiac disease. *Pediatrics International* 2000;42: 678-81.
195. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *JPGN* 2005; 40: 1-19.
196. Dohl bom I, Korponay- Szabo IR, Kovacs JB, Szalai Z, Maki M, Hansson T. Prediction of clinical and mucosal Severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase. *JPGN* 2010;50: 140-46.
197. Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S, Arias L, Fuentes D, Alvarez N, et al, Duodenal biopsy maybe avoided when high transglutaminase antibody titers are present. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4775-80.

198. Nunez C, Alecsandru D, Varade J, Polanco I, Maluenda C, Fernandez-Arquero M, et al. Interleukin-10 haplotypes in Celiac Disease in the Spanish population. *BMC Medical Genetics* 2006;31: 7-32.
199. Garrote JA, Arranz E, Gomez-Gonzalez E, Leon AJ, Farre C, Calvo C, et al. IL6, IL10 and TGFB1 gene polymorphisms in coeliac disease: differences between DQ2 positive and negative patients. *Allergol et Immunopathol* 2005;33: 245-49.
200. Lio D, Scola L, Forte GI, Accomando S, Giacalone A, Crivello A, et al. TNF α , IFN γ and IL-10 gene polymorphisms in a sample of Sicilian patients with coeliac disease. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 756-60.
201. Cataldo F, Scola L, Piccione M, Giuffre M, Crivello A, Forte GI, et al. Evaluation of cytokine polymorphisms (TNF α , INF γ and IL-10) in Down patients with coeliac disease. *Dig Liver Dis* 2005;37: 923-27.
202. Woolley N, Mustalahti K, Maki M, Partanen J. Cytokine Gene Polymorphisms and Genetic Association with Coeliac Disease in the Finnish Population. *Scand J Immunol* 2005;61: 51-56.
203. Chernavsky AC, Paez MC, Periolo N, Correa P, Guillen L, Niveloni SI et al. The simultaneous presence of IL-1B and TNFA two-positions risk haplatypes enhances the susceptibility for celiac disease. *Cytokine* 2008;42: 48-54.
204. Glas J, Stallhofer J, Ripke S, Wetzke M, Pfennig S, Klein W, et al. Novel Genetic Risk Markers for Ulcerative Colitis in the IL2/IL21 Region Are in Epistasis With IL23R and Suggest a Common Genetic Background for Ulcerative Colitis and Celiac Disease. *AJG* 2009; 104:1737-44.
205. Louka AS, Torinsson Naluai A, D'Alfonso S, Ascher H, Coto I, Ek J, et al. The IL12B gene does not confer susceptibility to coeliac disease. *Tissue Antigens* 2002;59: 70-72.
206. Hahn-Zoric M, Hytönen AM, Hanson LA, Nilsson LA, Padyukov L. Association of -1087 IL10 and -308 TNFA Gene Polimorphisms with Serological Markers of Coeliac Disease. *J Clinical Immunol* 2003;23: 291-96.

207. Dema B, Martinez A, Fernandez-Arquero M, Maluenda C, Polanco I, Fiqueredo MA, et al. The IL6-174G/C polymorphism is associated with celiac disease susceptibility in girls. *Hum Immunol* 2009;70: 191-94.
208. Van Heel DA, Franke L, Hunt KA, Gwilliam R, Zhernakova A, Inoye M, et al. A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nat Genet* 2007; 39: 827-29.
209. Moreno ML, Crusius JB, Chernavsky A, Suqai E, Sambuelli A, Vazquez H, et al. The IL-1 gene family and bone involvement in celiac disease. *Immunogenetics* 2005;57: 618-20.
210. Pavkova Goldbergova M, Nemecek P, Lipkova J, Jarkovsky J, Gatterova J, Ambrozikova D, et al. Relation of IL-6, IL-13 and IL-15 gene polymorphisms to the rheumatoid factors, anti-CCP and other measures of rheumatoid arthritis activity. *Int J Immunogenet* 2014;41: 34-40.
211. Rueda B, Lopez-Nevot MA, Gonzalez-Gay MA, Balsa A, Pascual-Salcedo D, Garcia A, et al. Molecular screening and association study of IL-15 gene polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Cytokine* 2007; 38: 84-89.
212. Yamamoto-Furusho JK, De-Leon-Rendon JL, Alvarez-Leon E, Valdivia-Eziquio M, Obil-Chavarria C, Vargas-Alarcon G. Association of the interleukin 15 (IL-15) gene polymorphisms with the risk of developing ulcerative colitis in Mexican individuals. *Mol Biol Rep* 2014;41: 2171-76.
213. Pontillo A, Brandao L, Guimaraes R, Seqat L, Araujo J, Crovella S. Two SNPs in NLRP3 gene are involved in the predisposition to type-1 diabetes and celiac disease in a pediatric population from northeast Brazil. *Autoimmunity* 2010; 43: 583-89.
214. Smyth DJ, Plagnol V, Walker NM, Cooper JD, Downes K, Yang JH, et al. Shared and Distinct Genetic Variants in Type 1 Diabetes and Celiac Disease. *NEJM* 2008; 359: 2767-77.
215. Kurz T, Strauch K, Dietrich H, Braun S, Hierl S, Jerkic SP, et al. Multilocus haplotype analyses reveal association between 5 novel IL-15 polymorphisms and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:896-901.

216. Izzo V, Pinelli M, Tinto N, Esposito MV, Cola A, Sperandeo MP, et al. Improving the Estimation of Celiac Disease Sibling Risk by Non-HLA Genes. PLoS One 2011;6: 26920.

