

# HLA-DQ haplotipovi kod oboljelih od celijakije i oboljelih od celijakije s pridruženim dijabetesom tipa 1

---

Đurković, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:471364>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK  
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Petra Đurković**

**HLA-DQ HAPLOTIPOVI KOD  
OBOLJELIH OD CELIJAKIJE I  
OBOLJELIH OD CELIJAKIJE S  
PRIDRUŽENIM DIJABETESOM TIPA 1**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK  
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Petra Đurković**

**HLA-DQ HAPLOTIPOVI KOD  
OBOLJELIH OD CELIJAKIJE I  
OBOLJELIH OD CELIJAKIJE S  
PRIDRUŽENIM DIJABETESOM TIPA 1**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

Rad je ostvaren u Laboratoriju za molekularnu i HLA dijagnostiku, Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu, Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Saška Marczy

Komentor rada: prof. prim. dr. sc. Tatjana Bačun

Rad ima 41 list, 16 tablica i 6 slika.

## **PREDGOVOR**

*Najprije se posebno i najiskrenije zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Saški Marczy na pruženoj prilici za suradnju, nesebično izdvojenom vremenu i uloženom ogromnom trudu tijekom izrade ovog diplomskog rada. Hvala Vam na svakom savjetu i pomoći.*

*Najveće zahvale dugujem svojoj obitelji koja je od prvog dana moga obrazovanja, pa sve do danas, bila korak do korak uz mene. Hvala Vam što ste na svako moje „ne mogu“, rekli „možeš“. Vama dugujem svu sreću i ponos koje osjećam, zbog ovoga gdje sam danas.*

*Najiskrenije zahvale mojoj seki koja je uvijek vjerovala u mene.*

*Posebno hvala i osobi koja me je ohrabrivala, slušala i uvijek poticala samo na bolje. Uz tebe sam naučila da mogu sve.*

## SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
1.1. Celijakija.....	1
1.1.1. Etiologija i patofiziologija celijakije.....	1
1.1.2. Epidemiologija celijakije.....	2
1.2. Geni glavnog sustava tkivne snošljivosti u ljudi.....	3
1.2.1. Nazivlje sustava HLA-geni i molekule HLA razreda II.....	4
1.2.2. Povezanost HLA-DQ heterodimera i celijakije.....	6
1.2.3. HLA u dijagnostici celijakije.....	6
1.3. Bolesti pridružene celijakiji.....	7
1.3.1. Dijabetes mellitus tipa 1.....	8
1.3.2. Celijakija s pridruženim dijabetesom tipa 1.....	9
2. CILJ.....	10
3. BOLESNICI I METODE.....	11
3.1. Etička načela.....	11
3.2. Ustroj studije.....	11
3.3. Bolesnici.....	11
3.4. Metode.....	12
3.4.1. Izolacija deoksiribonukleinske kiseline (DNA) iz uzorka pune krvi.....	12
3.4.2. Utvrđivanje koncentracije i čistoće izolirane DNA.....	13
3.4.3. HLA tipizacija metodom PCR SSP.....	13
3.4.4. Interpretacija rezultata PCR SSP agaroznom gel elektroforezom.....	15
3.4.5. HLA tipizacija metodom PCR SSO.....	16
3.4.6. Analiza rezultata HLA tipizacije.....	18
3.5. Statističke metode.....	18
4. REZULTATI.....	19
4.1. Demografske i kliničke značajke bolesnika.....	19
4.2. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM.....	21

4.3. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije .....	22
4.4. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM 1.....	22
4.5. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM.....	23
4.6. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije.....	24
4.7. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM 1.....	25
4.8. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM .....	26
4.9. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije.....	27
4.10. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM 1.....	28
4.11. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM .....	29
4.12. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije .....	31
4.13. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM .....	32
5. RASPRAVA.....	33
6. ZAKLJUČCI.....	35
7. SAŽETAK.....	36
8. SUMMARY.....	37
9. LITERATURA.....	38

10. ŽIVOTOPIS.....	41
--------------------	----



## POPIS KRATICA

APC – antigen predočne stanice (engl. *antigen presenting cell*)

BIS – bolnički informacijski sustav

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid*)

DQX – HLA-DQ heterodimer nerizičan za celijakiju; drugi heterodimer različit od HLA-DQ2.5, - DQ2.2, - DQ8 i - DQ7.5

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina (engl. *ethylenediaminetetraacetic acid*)

EMA – antiendomizijska IgA antitijela (engl. *antiendomysial IgA antibodies*)

GAD – dekarboksilaza glutaminske kiseline (engl. *glutamic acid decarboxylase*)

HLA – humani leukocitni antigen (engl. *human leukocyte antigen*)

HZZO – Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje

IA – inzulinomski antigen (engl. *insulinoma antigen*)

IFN $\gamma$  – interferon gama (engl. *interferon gamma*)

IgA – imunoglobulin A (engl. *immunoglobulin A*)

IL – interleukin (engl. *interleukin*)

KBC – Klinički bolnički centar Osijek

KZTM – Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

MHC – glavni sustav tkivne snošljivosti (engl. *Major Histocompatibility Complex*)

PCR SSO – lančana reakcija polimerazom - sekvencno specifični oligonukleotidi (engl. *Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Oligonucleotides*)

PCR SSP – lančana reakcija polimerazom - sekvencno specifične početnice (engl. *Polymerase Chain Reaction – Sequence Specific Primers*)

tTG – tkivna transglutaminaza (engl. *tissue transglutaminase*)

T1DM – Tip 1 dijabetes mellitus (engl. *Type 1 diabetes mellitus*)

## 1. UVOD

### 1.1. Celijakija

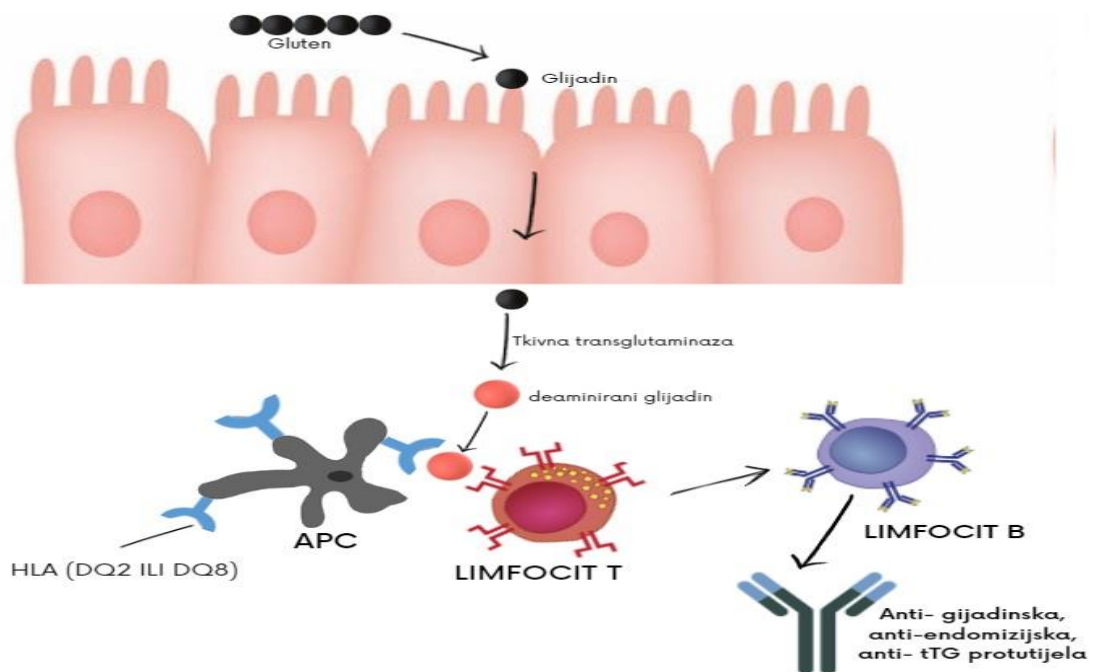
#### 1.1.1. Etiologija i patofiziologija celijakije

Celijakija, drugim nazivom glutenska enteropatija, je multifaktorska kronična autoimuna bolest (1, 2). Prvi poznati opis celijakije potječe od antičke Grčke, gdje je ime celijakija izvedeno iz grčke riječi *koiliakós*, što znači trbušni (3). Patogeni pokretač ove bolesti je gluten (2). Gluten je mješavina proteina koji se nalaze u endospermu sjemena žitarica (pšenica, raž, ječam, zob). Glavna komponenta glutena je glijadin koji je za osobe s celijakijom toksičan i izravno uključen u patogenezu bolesti (4). Unos glutena kod bolesnika s celijakijom dovodi do aktivacije imunološkog sustava s kroničnom upalom koja, posljedično uništava sluznicu tankog crijeva. Promjene u sluznici tankog crijeva uključuju atrofiju resica epitelnih stanica i hiperplaziju kripti. Ove promjene uzrokuju gubitak funkcije crijevne sluznice (5).

Klinička prezentacija celijakije je heterogena, u rasponu je od klasičnih problema s crijevima (izmjena proljeva i opstipacije, malapsorpcija, bol u trbuhu) do drugih bolesti u raznim organskim sustavima (anemija, epilepsija, dermatitis, osteoporoza) (1, 2). Nažalost, posljedično heterogenoj prezentaciji bolesti, 80 % oboljelih od celijakije ostaje nedijagnosticirano ili s pak pogrešnom dijagnozom (2, 6). Procjenjuje se da u svijetu ima 2,2 milijuna djece do pete godine s nedijagnosticiranom celijakijom (2). Prema kliničkoj slici, celijakiju možemo podijeliti u 4 podtipa. Klasičan podtip popraćen je simptomima malapsorpcije. Atipičan tip karakteriziraju poremećene funkcije jetre i ostali ekstraintestinalni simptomi. Kod subkliničke celijakije, osoba nema simptome bolesti, iako su serološki testovi pozitivni i izražena je atrofija sluznice crijeva. Mali broj bolesnika ima latentan tip celijakije gdje su serološki testovi pozitivni ali atrofija sluznice izostaje (2). Kod pedijatrijskih pacijenata klasičan tip celijakije započinje nekoliko tjedana nakon uvođenja glutena u prehranu, obično oko šestog mjeseca života (6).

Patogeneza celijakije počinje s glijadinom, proteinskom frakcijom glutena. Nakon što glijadin prođe kroz epitelne stanice crijeva, u lamini propriji dolazi u kontakt s tkivnom transglutaminazom (tTG) koja u peptidu glijadina vrši deaminaciju glutamina u glutaminsku kiselinu. Deaminirani glijadin preuzimaju antigen predočne stanice (APC) koje na svojoj površini nose molekule humanog leukocitnog antigena (HLA), među kojima i HLA-DQ molekule. Na taj način aktivira se stečeni imunosni odgovor posredovan citotoksičnim CD4+ T limfocitima. T limfociti aktiviraju B limfocite koji potom stvaraju antitijela na tkivnu transglutaminazu (anti-tTG protutijela), antiglijadinska i antiendomizijska protutijela.

Citotoksične stanice proizvode i proupalne citokine kao što su interleukin-15 (IL-15), interleukin-21 (IL-21) te interferon gama ( $IFN\gamma$ ).  $IFN\gamma$  i IL-21 induciraju masovno oslobađanje IL-15, što dovodi do proliferacije i preživljavanja intraepitelnih limfocita, čija aktivacija mijenja epitelne stanice, tj. izaziva atrofiju resica (7, 8) (Slika 1.).



Slika 1. Patogeneza celijakije. Izvor: izradila autorica rada u Canva programu.

APC - antigen predočna stanica; anti-tTG - protutijela na tkivnu transglutaminazu;

HLA - humani leukocitni antigen.

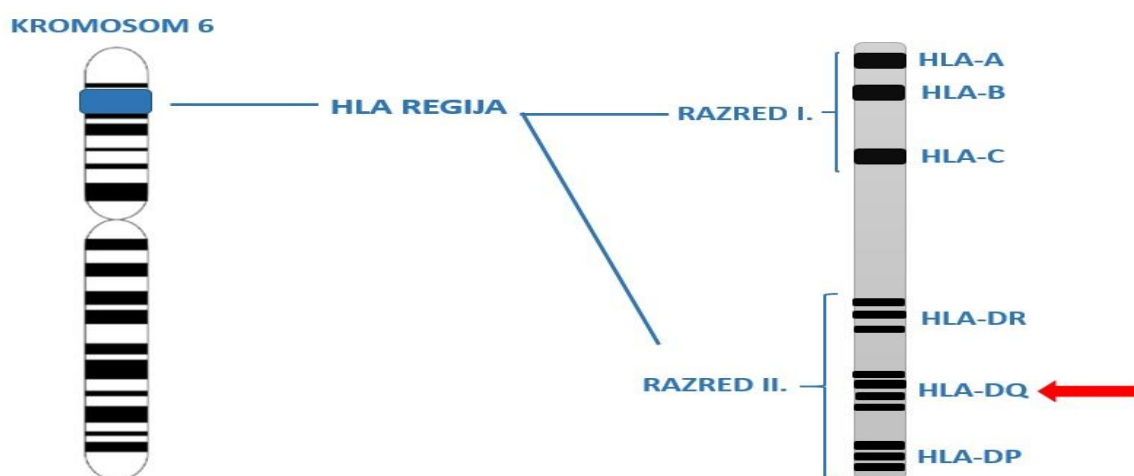
### 1.1.2. Epidemiologija celijakije

Prevalencija celijakije u svijetu varira između 0,5 % i 1 % u Europi i Sjevernoj Americi. Najvišu prevalenciju imaju skandinavske zemlje, između 2 % i 3 % (2, 6). Posljednjih godina, incidencija celijakije je porasla 4 - 5 puta zbog povećanja broja oboljelih, ali i boljih dijagnostičkih metoda. Prevalencija je nešto viša u ženskog spola (2). Celijakija se isključivo javlja kod osoba koje imaju genetičku predispoziciju za nju (4). Skupine ljudi s većim rizikom za celijakiju uključuju: članove obitelji prvog stupnja oboljelog od celijakije (10 – 20 %), bolesnike s dijabetesom tipa 1 (1 – 12 %), bolesnike s autoimunom bolesti štitnjače (2 - 6 %), bolesnike s Downovim sindromom (2 - 6 %) i bolesnike sa autoimunim hepatitisom (3 – 7 %) (7). Nažalost, celijakija je neizlječiva bolest, čija jedina terapija je doživotna bezglutenska prehrana. Bezglutenska prehrana podrazumijeva konzumiranje namirnica koje prirodno ne sadržavaju gluten i specijalnih bezglutenskih namjernica namijenjenih za ovu populaciju ljudi.

U prodavaonicama zato postoje proizvodi s oznakama „bez glutena“, koji prema odredbi Europske unije iz 2009. godine, sadrže manje od 20 mg glutena po kilogramu hrane. Također na listama lijekova Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje (HZZO) postoji brašno bez glutena, koje se prepisuje bolesnicima s dokazanom celijakijom. Pravovremenim uvođenjem bezglutenske prehrane, većina simptoma koje bolesnici imaju se smanji, te se sluznica crijeva u 40 % odraslih potpuno oporavi nakon 2 godine bezglutenske prehrane (2).

## 1.2. Geni glavnog sustava tkivne snošljivosti u ljudi

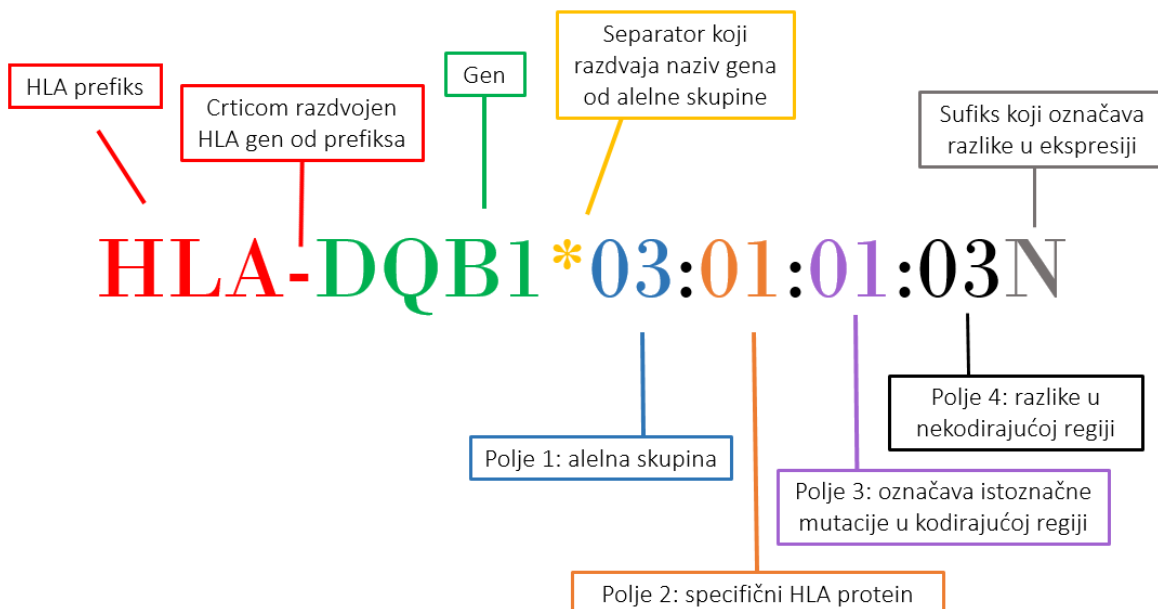
Kod čovjeka je glavni sustav tkivne snošljivosti (*engl. Major Histocompatibility Complex, MHC*) nazvan sustavom HLA (*engl. Human Leukocyte Antigen, HLA*). Sustav HLA nalazi se na kratkom kraku kromosoma 6 i zauzima 4 milijuna parova baza što ukupno čini 1 % ljudskog genoma. Geni sustava HLA organizirani su u 3 genske regije, odnosno razrede I., II. i III. (8) (Slika 2.). Genska regija razreda I. sadrži gene HLA-A, HLA-B i HLA-C, a nalazi se na telomeričnom kraju sustava HLA. Regija razreda II. smještena je na centromeričnom kraju sustava HLA i sadrži gene koji kodiraju HLA-D molekule (HLA-DQ, HLA-DP, HLA-DR). Regija razreda III. sadrži veliki broj gena različitih funkcija, a smještena je između regije I. i II. U imunskim reakcijama najvažniju ulogu imaju molekule HLA razreda I. i II. Produkti gena HLA razreda I. su molekule koje predočuju unutarstanične antigene CD8<sup>+</sup> citotoksičnim limfocitima T i nalaze se na svim stanicama s jezgrom. Molekule HLA razreda II. predočuju izvanstanične antigene CD4<sup>+</sup> pomoćničkim limfocitima T koji potiču sintezu specifičnih protutijela i prisutne su na površini antigen predočnih stanica (monociti, makrofagi, dendritičke stanice, limfociti B) (9).



Slika 2. Smještaj gena HLA razreda I. i II. na 6. kromosomu. Izvor: izradila autorica rada u Microsoft PowerPoint programu. HLA - humani leukocitni antigen.

### 1.2.1. Nazivlje sustava HLA – geni i molekule HLA razreda II

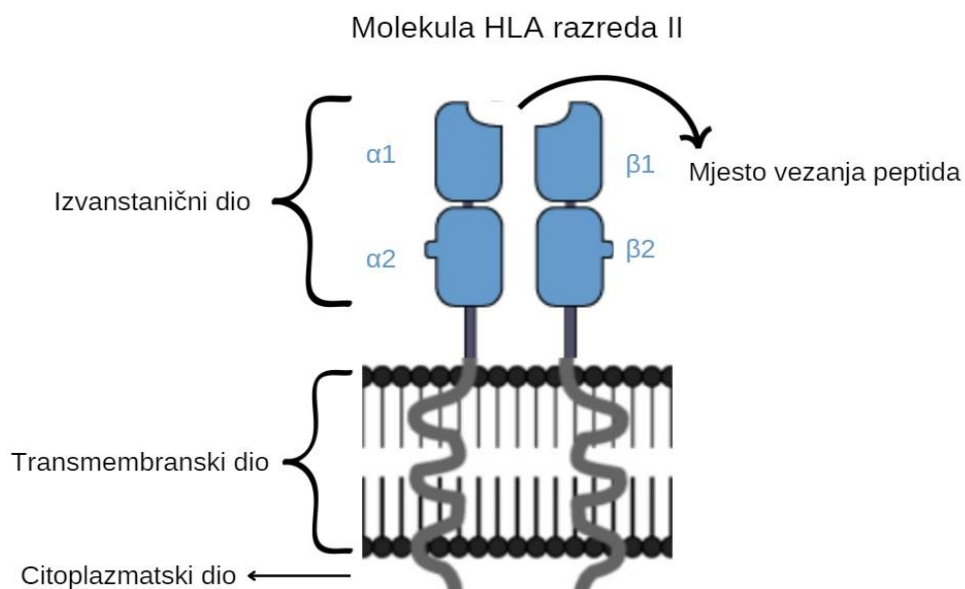
Sustav HLA predstavlja najpolimorfnije regiju u ljudskom genomu (9, 10). Nazivlje HLA sustava definira i redovito ažurira Povjerenstvo za sustav HLA Svjetske zdravstvene organizacije (*engl. WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System*). Oznake antigena HLA razlikuju se od oznaka HLA gena. Antigeni HLA određuju se serološkom metodom. Naziv antigena HLA sastoji se od oznake za HLA lokus i identifikacijskog broja antigena, pri čemu se jednoznačenasti broj piše bez nule (npr. HLA-DQ2, HLA-DQ7). Geni HLA određuju se molekularnim metodama. Ako je molekularno određivanje vršeno metodom niskog razlučivanja naziv gena HLA sastoji se od oznake HLA lokusa i identifikacijskog broja alelne skupine (jedno polje od 2 znamenke) koja je od znaka lokusa odvojena zvjezdicom (\*). Pri tome se jednoznačenasti broj alelne skupine piše se s nulom (npr. HLA-DRB1\*15, HLA-DQA1\*05, HLA-DQB1\*02, HLA-DQB1\*03). Molekularnim metodama visokog razlučivanja može se detaljnije odrediti specifični alel pri čemu naziv započinje oznakom gena koja je zvjezdicom (\*) razdvojena od prvog polja (prve dvije znamenke koje označavaju skupinu alela). Sljedeća polja opisuju specifičnosti i međusobno su odijeljena dvotočkom (:). Drugo polje označava specifičan alel, treće polje istoznačne mutacije u kodirajućoj regiji, četvrto polje razlike izvan kodirajuće regije. Naziv na kraju može imati sufiks koji označava ekspresiju alela (Slika 3.) (11).



Slika 3. Nazivlje sustava HLA. Izvor: izradila autorica rada u Microsoft PowerPoint programu. HLA - humani leukocitni antigen.

Gene glavnog sustava tkivne snošljivosti u ljudi nasljeđujemo kodominantno kao HLA haplotip. HLA haplotip jest kombinacija alelnih oblika gena na jednom kromosomu. HLA haplotip nasljeđuje se prema Mendelovim zakonima nasljeđivanja, jedan haplotip od majke, a drugi od oca. Svaki se pojedini haplotip sastoji od gena skupina I. i II., a nasljeđeni HLA haplotip je kombinacija gena lokusa razreda I. i II. Alele glavnog sustava tkivne snošljivosti u ljudi možemo naslijediti na dva načina: ako se aleli nasljeđuju na istom kromosomu onda govorimo o cis konfiguraciji, a ako se nasljeđuju odvojeno na dva homologna kromosoma onda govorimo o trans konfiguraciji. U pojedinim HLA haplotipovima, neki HLA aleli javljaju se češće od očekivanog, te tu pojavu nazivamo neravnotežom udruživanja (*engl. linkage disequilibrium*) (12).

HLA-D gena kodirani su heterodimerni glikoproteinski receptori za antigensku prezentaciju. Heterodimer je proteinski kompleks formiran od dva različita proteina. Molekula HLA razreda II. sastoji se od teškog alfa lanca kodiranog sa HLA-DQA1 genom i lakog beta lanca kodiranog sa HLA-DQB1 genom (5). Molekula HLA razreda II. ima svoj izvanstanični dio, transmembranski dio i citoplazmatski dio. Izvanstanični dijelovi lanaca mogu se podijeliti u podjedinice od 90 aminokiselina, pa tako imamo  $\alpha 1$  i  $\alpha 2$ , i  $\beta 1$  i  $\beta 2$  podjedinice. Polimorfizmu molekule HLA razreda II ljudi najviše pridonosi  $\beta$  lanac. (10, 12) (Slika 4.).



Slika 4. Shematski prikaz molekule HLA razreda II. Izvor: izradila autorica rada u Canva programu. HLA- humani leukocitni antigen.

### 1.2.2. Povezanost HLA-DQ heterodimera i celijakije

Gotovo svi pacijenti sa celijakijom nositelji su nekih od sljedećih HLA-DQ heterodimera: HLA-DQ2.5, HLA-DQ2.2 ili HLA-DQ8 (3). Važnost ovih heterodimera u patogenezi celijakije uočena je još u sedamdesetim godinama prošlog stoljeća (13). Izoforme molekula DQ2 i DQ8 imaju snažan afinitet za deaminirani glijadin što objašnjava povezanost između ovih gena i razvoja celijakije (8). Više od 90 % bolesnika s celijakijom ima HLA-DQ2.5 heterodimer kodiran sa DQB1\*02 i DQA1\*05 alelima. Aleli DQB1\*02 i DQA1\*05 se mogu naslijediti na dva načina: na istom kromosomu (cis konfiguracija) ili odvojeno, na homolognim kromosomima (trans konfiguracija). Kod osoba sa DR3 haplotipom, aleli su pristuni u cis konfiguraciji, a u osoba sa DR5/7 aleli su u trans poziciji (8). Manji dio bolesnika, naime samo 10 %, nosi HLA-DQ8 heterodimer kodiran sa DQA1\*03 i DQB1\*0302 alelima ili HLA-DQ2.2 heterodimer kodiran sa DQA1\*0201 i DQB1\*02 alelima (3, 14).

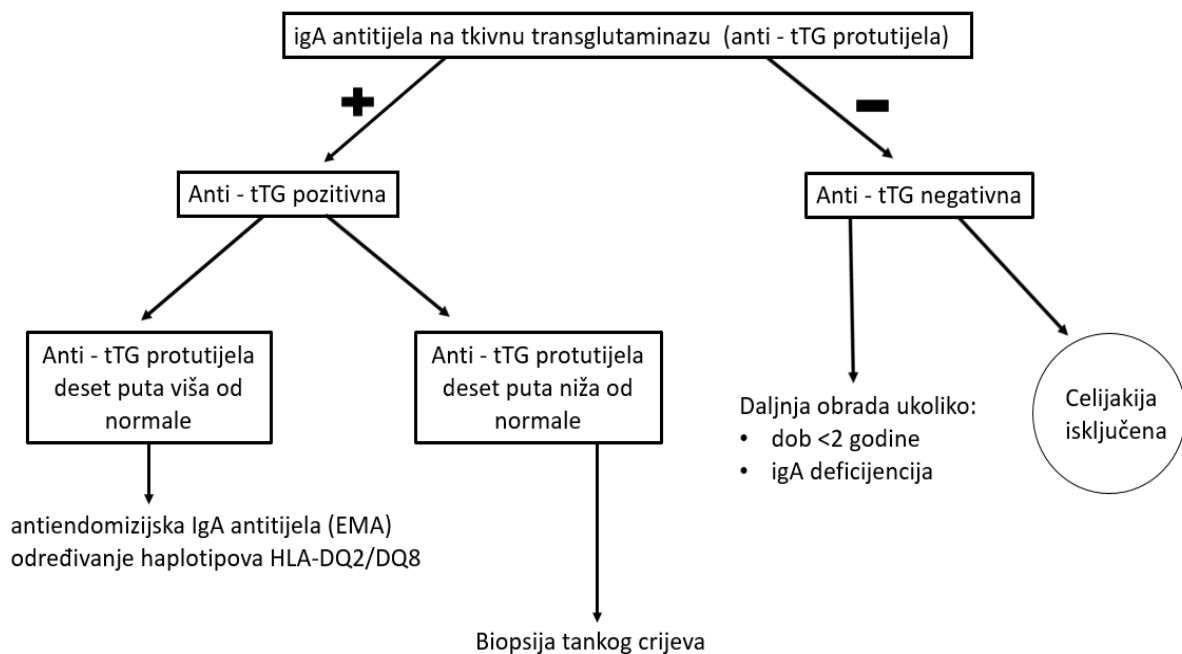
Za sve navedene alele, bolesnici mogu imati dva para različitih (heterozigoti) ili istih (homozigoti) alela na istom lokusu. Količina rizičnih alela korelira sa jačinom upalnog odgovora tj. težinom oštećenja sluznice tankog crijeva (8). Rizik za razvoj celijakije može se klasificirati prema broju DQB1\*02 i DQA1\*05 alela. Visoki rizik imaju osobe koje su homozigoti za DQ2.5*cis* sa dva DQB1\*02 alela ili heterozigoti za DQ2.5*cis* sa kromosomom koji ima drugi DQB1\*02 alel (DQ2.2). Srednji rizik razvitka bolesti imaju osobe koje su heterozigoti za DQ2.5*cis* sa jednom kopijom DQB1\*02 alela ili nose DQ2.5*trans* haplotip. Niski rizik imaju osobe sa DQA1\*05 alelom (5).

Iako je prevalencija rizičnih HLA-DQ haplotipova 30 – 40 % u općoj populaciji, samo 3 % nositelja će razviti bolest. S obzirom da je riječ o izuzetno složenoj bolesti, HLA geni objašnjavaju tek 40 % nasljeđa dok nam je ostatak genetske podloge celijakije i dalje nepoznat (8).

### 1.2.3. HLA u dijagnostici celijakije

Prvi korak pri postavljanju dijagnoze celijakije, bilo to kod osoba s ili bez simptoma, ili pak kod ljudi s visokim rizikom od razvoja celijakije, je određivanje IgA (imunoglobulin A) antitijela na tkivnu transglutaminazu. Istovremeno, potrebno je odrediti i ukupni IgA kako bi izbjegli lažno negativne rezultate u pacijenata s IgA imunodeficijencijom (2). Ukoliko su anti-tTG protutijela negativna, isključuje se dijagnoza celijakije u svim slučajevima osim ako je dob osobe manja od dvije godine ili postoji IgA deficijencija. Pozitivna anti-tTG protutijela deset puta viša od normale upućuju na daljnju obradu tj. određivanje razine antiendomizijskih IgA

antitijela (EMA) i određivanje haplotipova HLA-DQ2/DQ8 (9). Pozitivan rezultat HLA tipizacije govorit će nam samo o genetskoj predispoziciji za razvoj bolesti ali ne i nužnom prisustvu bolesti. S druge strane, negativan rezultat tipizacije HLA ima visoku negativnu prediktivnu vrijednost te s 99 % isključuje celijakiju (10). Ukoliko su pozitivna anti - tTG protutijela deset puta manja od normale, pacijent se upućuje na biopsiju tankog crijeva (Slika 5.). Bitno je napomenuti da se biopsija tankog crijeva mora izvoditi dok pacijent nije na bezglutenskoj prehrani (9).



Slika 5. Dijagnostički pristup celijakiji. Izvor: izradila autorica rada u Microsoft PowerPoint programu. Anti - tTG protutijela - igA antitijela na tkivnu transglutaminazu; EMA - antiendomizijska IgA antitijela; HLA - humani leukocitni antigen.

### 1.3. Bolesti pridružene celijakiji

Celijakija je bolest uz koju se nerijetko javljaju i druge autoimune bolesti. U najčešće bolesti pridružene celijakiji spadaju: dijabetes mellitus tipa 1 (T1DM), autoimune bolesti štitnjače, Chronova bolest, ulcerozni kolitis, Sjögrenova bolest i IgA deficijencija. Pojava celijakije zajedno s nekom drugom autoimunom bolesti objašnjena je zajedničkom genetskom predispozicijom. Od 39 genskih lokusa koje povezujemo sa celijakijom, čak njih 26 zajedničko je za jednu ili više drugih autoimunih bolesti. Najviše lokusa, čak 7 regija, celijakija dijeli sa T1DM (8).



### 1.3.1. Dijabetes mellitus tipa 1

Dijabetes mellitus tipa 1 je kronična autoimuna bolest koja se javlja zbog genetske predispozicije udružene s raznim utjecajima okoline (15). T1DM okarakteriziran je uništavanjem beta stanica gušterače u Langershansovim otočićima autoantitijelima. Iako autoantitijela nisu definitivno identificirana, smatra se da u njih spadaju: autoantitijela na inzulin ili proinzulin, dekarboksilaza glutaminske kiseline (GAD) i inzulinomski antigen-2 (IA-2) (16). Uništenje beta stanica posljedično dovodi do smanjene produkcije inzulina te viših razina glukoze u krvi. Oboljeli od T1DM ovisni su o egzogenoj primjeni inzulina (17). Etiologija autoimunosti ove bolesti još uvijek je nepoznata. Napredovanje prema kliničkom dijabetesu tipa 1, klasificirano je u tri stadija: asimptomatska autoimunost sa normoglikemijom, asimptomatska autoimunost sa disglukemijom i simptomatski T1DM. Pojava autoantitijela na beta stanice predstavlja najraniji znak bolesti. Prvi, asimptomatski stadij bolesti može trajati od nekoliko mjeseci pa do desetljeća. Uništavanje beta stanica može biti linearan ili povremeno ponavljajući proces. Već u prvom, asimptomatskom stadiju bolesti, mogu se detektirati oscilacije u izlučivanju inzulina. Kada se određena količina beta stanica uništi, dolazi do odstupanja u koncentraciji glukoze u krvi te pojedinac ulazi u drugi stadij bolesti. U drugom stadiju bolesti, simptomi i dalje nisu izraženi ali biokemijskim pretragama možemo utvrditi postojanje bolesti. Kod kliničkog stadija bolesti, preostale beta stanice ne proizvode dovoljno inzulina te osobe postanu ovisne o njegovoj egzogenoj primjeni. Nakon početka liječenja inzulinom, oko 80 % djece i adolescenata dožive djelomičnu remisiju sa smanjenim potrebama za inzulinom (15).

T1DM ima kompleksnu genetičku podlogu te nejasan način nasljeđivanja. Kao i u celijakije, sustav HLA gena uključen je u genetsku predispoziciju razvoja T1DM. Pojedinci s haplotipovima DR3-DQ2 i/ili DR4-DQ8 nose rizik od 5 % za razvoj šećerne bolesti tipa 1 (18). Osim genetske podloge, otkriveno je da razni okolišni čimbenici mogu potaknuti autoimunost beta stanica i pojavu prvih autoantitijela, ali i napredovanje do kliničkog stadija dijabetesa tipa 1. Infektivni uzročnici, virusi, su među najopsežnije proučavanim okidačima iz okoline. Pretpostavlja se da se tijekom infekcije virusom javlja križna reaktivnost T stanica između virusa i autoantigena Langerhansovih otočića. Ostali okolišni čimbenici koji povećavaju stres beta stanica i time ubrzaju napredovanje do kliničkog početka dijabetesa u djece su: prehrana visokog glikemijskog indeksa, trauma, niska tjelesna aktivnost, prekomjerna tjelesna težina i psihološki stres (15).

### 1.3.2. Celijakija s pridruženim dijabetesom tipa 1

Celijakija s dijabetesom tipa 1 postala je sve više prepoznata zbog testiranja pacijenata s T1DM na celijakiju (16). Pojava celijakije znatno je veća u pacijenata sa T1DM (5 %) nego u generalnoj populaciji (1 %) . U 90 % slučajeva, u oboljelih od obje bolesti, prvo se javlja T1DM. Djeca koja imaju obje bolesti, za razliku od onih sa samo T1DM, nižeg su rasta i indeksa tjelesne mase te imaju manju tjelesnu težinu. Nažalost, celijakija u oboljelih od T1DM često dovodi do nepredvidivih vrijednosti glukoze u krvi, pogoršanja glikemijske kontrole te neobjašnjivih hipoglikemija. Kod oboljelih od T1DM, celijakija se najčešće javlja u subkliničkom obliku tj. oboljeli nemaju simptome iako je bolest prisutna. Upravo zbog toga, veliki je rizik da se celijakija ne otkrije te i ne liječi na vrijeme pa je potrebno provoditi redovite biokemijske probire na anti - tTG (17). Razlog pojavljivanja ove dvije autoimune bolesti zajedno leži u disfunkciji imunskog sustava koji reagira s glijadinom i drugim tkivima. Također, smatra se da je celijakija povezana s imunološkom stimulacijom i poliklonskom aktivacijom  $\beta$ -stanica gušterače (19). Narušena propusnost sluznice crijeva zbog celijakije, također može utjecati na pojavu T1DM. Genetska predispozicija zajedno s okolišnim čimbenicima definitivno je uključena u patogenezu celijakije i T1DM, međutim postoji još mnogo patogenih puteva čiji nam točan slijed događaja i dalje ostaje nerazjašnjen (16).

## 2. CILJ

Ciljevi istraživanja su:

1. Odrediti učestalost HLA-DQ haplotipova:
  - a. u skupini oboljelih od celijakije
  - b. u skupini oboljelih od celijakije udružene s T1DM
2. Ispitati razlike učestalosti HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob u vrijeme dijagnosticiranja bolesti

### **3. BOLESNICI I METODE**

#### **3.1. Etička načela**

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Osijek (Ur. broj: 2158 – 61 – 46 – 23 – 47, Datum odobrenja: 20. ožujka 2023.). Također, istraživanje je odobrilo i Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra (KBC) Osijek (Ur broj: R1 - 1510/2023., Datum odobrenja: 07. veljače 2023.)

#### **3.2. Ustroj studije**

Rad je ustrojen kao presječna studija na povijesnim podacima (20).

#### **3.3. Bolesnici**

Skupine ispitanika uključene u istraživanje sastojale su se od bolesnika kojima je molekularna tipizacija HLA učinjena u periodu od 2009. do 2023. godine u sklopu rutinskog dijagnostičkog programa Laboratorija za molekularnu i HLA dijagnostiku Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu (KZTM) KBC-a Osijek. Skupine ispitanika formirane su na temelju podataka dobivenih pretraživanjem baza podataka. Iz baze podataka KZTM KBC-a Osijek prikupljeni su popisi bolesnika s uputnim dijagnozama celijakije i dijabetesa tipa 1, te podatci o spolu bolesnika. Zatim su pretraživanjem elektroničke baze podataka bolničkog informacijskog sustava (BIS) KBC-a Osijek prikupljeni podatci o postavljenoj dijagnozi i dobi prilikom dijagnoze. U istraživanje su uključeni bolesnici kojima je postavljena dijagnoza celijakije, odnosno celijakije s pridruženim T1DM, a isključeni su bolesnici koji nemaju dijagnozu celijakije. Identificirano je 50 oboljelih od celijakije, te 9 bolesnika s dijagnozom celijakije s pridruženim T1DM. Pregledom baze podataka Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu KBC-a Osijek prikupljeni su nalazi HLA tipizacije bolesnika uključenih u istraživanje.

### 3.4. Metode

#### 3.4.1. Izolacija deoksiribonukleinske kiseline (DNA) iz uzorka pune krvi

Upotrebom *QIAamp* DNA Mini *QIAcube* seta (Qiagen, Njemačka), genomska DNA izolirana je iz 200  $\mu$ l uzorka pune periferne krvi, prema uputama proizvođača. Uzorci periferne krvi ispitanika prikupljeni su u epruветama sa antikoagulansom etilendiamintetraoctena kiselina (EDTA). Korištena metoda izolacije DNA se bazira na svojstvu proteinaze K, koja uz pomoć pufera za razgradnju, razgrađuje proteine stanične i jezgrine membrane te time oslobađa DNA. Oslobođena DNA veže se za sloj staklene mrežice u plastičnoj tubici.

**Potrebno za izolaciju:** *QIAamp* DNA Mini *QIAcube* set, *QIAcube* uređaj za automatsku izolaciju nukleinskih kiselina, 200  $\mu$ l pune periferne krvi s EDTA, zamrzivač (-20 °C), hladnjak (+4 °C), mikropipete (volumena 2 – 20  $\mu$ L, 20 – 200  $\mu$ L, 200 – 1000  $\mu$ L), nastavci (slobodni od nukleinskih kiselina i nukleaza, nekorišteni), plastične tubice volumena 1,5 mL i 2 mL (slobodne od nukleinskih kiselina i nukleaza, nekorištene)

**Prije izolacije:** Prije samog postupka izolacije DNA potrebno je napuniti uređaj za izolaciju s nastavcima za pipetiranje (200 i 1000  $\mu$ L). Također, potrebno je nadopuniti bočice sa reagensima u stalku sljedećim redoslijedom dodavanja: AL, 96 % etanol, wash1, wash2, TE pufer. Prema broju uzoraka u tubicu od 1,5 mL odpipetira se proteinaze K (Tablica 1.). U *QIAcube* uređaju može se izolirati najviše 12 uzoraka odjednom.

Tablica 1. Količina proteinaze K potrebna za izolaciju prema broju uzoraka.

BROJ UZORAKA	KOLIČINA PROTEINAZE K ( $\mu$ l)
2	68
3	90
4	111
5	133
6	155
7	176
8	198
9	219
10	241
12	284

#### **Postupak izolacije:**

U čiste sterilne tubice od 2 mL koje smo prethodno označili brojevima pacijenata, odpipetirati 200 µl uzorka pune krvi pacijenta. Nakon toga, umetnuti tubice s uzorcima u stalak i uključiti uređaj. Odabrati protokol za izolaciju i pritisnuti start. Kada je sve spremno QIAcube kreće u izolaciju. Ukoliko nešto nije uredu, uređaj će nam signalizirati grešku.

**Nakon izolacije:** Nakon što je QIAcube završio izolaciju, izvadimo rotor adaptere. Na tubicu s izoliranom DNA lijepimo jedinstveni kod s brojem i imenom pacijenta. Nakon izolacije, potrebno je zatvoriti sve reagense u aparatu i baciti izbačeni otpad tj. tubice i upotrebljene nastavke.

#### **3.4.2. Utvrđivanje koncentracije i čistoće izolirane DNA**

Za metode PCR SSP i PCR SSO potrebno je imati uzorak DNA visoke čistoće. Optimalan omjer apsorbancije na valnoj duljini od 260 nm i apsorbancije na valnoj duljini od 280 nm ( $A_{260} / A_{280}$ ) je između 1,6 i 2,0.

**Potreban materijal:** Uzorci izolirane DNA, pufer u kojemu su otopljeni uzorci DNA, uređaj *SpectraMax QuickDrop* UV - VIS spektrofotometar, pipeta (volumen do 10 µL), nastavci za pipetu (slobodni od nukleinskih kiselina i nukleaza).

**Postupak:** Za postupak mjerenja, potrebna je jedna kap uzorka izolirane DNA. Slijepu probu predstavljaju vrijednosti mjerenja pufera u kojem su resuspendirani uzroci genomske DNA. *SpectraMax QuickDrop* UV - VIS spektrofotometar mjeri apsorbancije pri valnim duljinama od 260 nm, 280 nm i 230 nm. Uređaj nam pokaže izračunatu koncentraciju izolirane DNA. Nakon mjerenja, za metodu PCR SSP, svakom uzorku izolirane DNA potrebno je prilagoditi koncentraciju pomoću TE pufera na 30 ng/µL. Za metodu PCR SSO koncentracije DNA mogu biti u rasponu od 10 do 200 ng/µL.

#### **3.4.3. HLA tipizacija metodom PCR SSP**

**Princip metode:** PCR SSP metodom (*engl. Polymerase Chain Reaction – Sequence Specific Primers*) određuje se polimorfizam ciljanih regija gena sustava HLA. Za tipizaciju određenog lokusa svake osobe istovremeno se radi više različitih PCR SSP reakcijskih smjesa. Svaka reakcijska smjesa sadrži početnice za umnožavanje „housekeeping“ gena (pozitivna kontrola), te početnice koje se podudaraju s ciljnim slijedom određenih polimorfizama ispitivanog gena. Broj reakcijskih smjesa ovisi o lokusu i o stupnju razlučivanja tipizacije. Uz strogo kontrolirane PCR uvjete, podudarni ili gotovo potpuno podudarni parovi početnica dovode do umnažanja

odsječaka DNA, tj. pozitivnog rezultata, dok kod nepodudarnih početnica nema umnažanja tj. rezultat je negativan.

**Potreban materijal:** uzorak izolirane DNA, Taq DNA polimeraza 5 jedinica/ $\mu$ L (Euroclone, Italija), *Olerup SSP DQ-DR SSP Combi Tray* set i *Olerup SSP DQA1* set (Olerup/CareDX, Švedska), H<sub>2</sub>O redestilirana, adhezivna folija, PCR uređaj (VERITI Thermal Cycler, Applied Biosystems), kabinet za sterilan rad (Aura PCR, Bioair Euroclone Division), mikropipete, filter nastavci i plastične tubice (slobodni od nukleinskih kiselina i nukleaza), centrifuga, vortex uređaj, zamrzivač, nitrilne zaštitne rukavice bez pudera

**Postupak** (*Olerup SSP DQ-DR Combi Tray* set): Prije početka rada, obavezna je sterilizacija PCR kabineta, odnosno mikropipeta i ostalog materijala koji se nalazi u kabinetu. Sterilizacija se izvodi primjenom UV svjetla tijekom 5 minuta.

1. Otopiti na sobnoj temperaturi: uzorke DNA, master mix potrebnog volumena i Taq DNA polimerazu.
2. Uzorke izolirane DNA kratko vorteksirati. Vorteksirati i master mix.
4. Otpipetirati 8,3  $\mu$ L Taq polimeraze i 511,7  $\mu$ L H<sub>2</sub>O u tubicu od 1,5 mL koja sadrži 312  $\mu$ L master mixa. Začepiti epruvetu i vorteksirati 5 sekundi.
6. Otpipetirati 8  $\mu$ L mješavine (Master Mix – Taq polimeraza – H<sub>2</sub>O ) i 2  $\mu$ L H<sub>2</sub>O u jažicu negativne kontrole.
7. Otpipetirati 206  $\mu$ L uzorka DNA u preostalu mješavinu (Master Mix – Taq polimeraza – H<sub>2</sub>O). Začepiti epruvetu i vorteksirati 5 sekundi.
8. U svaku jažicu, osim u jažicu negativne kontrole, otpipetirati 10  $\mu$ L reakcijske smjese uzorka.
9. Pokriti jažice adhezivnom folijom i smjestiti u predviđeno mjesto u PCR uređaju. Paziti da smo jažice dobro pokrili zbog mogućeg isparavanja uzorka.
10. Pokrenuti PCR program.

### 3.4.4. Interpretacija rezultata PCR SSP agaroznom gel elektroforezom

Pomoću agarozne gel elektroforeze radimo očitavanje rezultata dobivenih PCR SSP metodom. Tijekom ove separacijske metode, fragmenti DNA molekula razdvajaju se u viskoznom puferu pod djelovanjem električnog naboja. Agarozna je prirodni linearni polisaharid iz crvenih algi. Agarozni gel je porozna mreža s porama dovoljno velike veličine kako bi i velike molekule mogle slobodno proći. Brzina i učinkovitost elektroforeze ovise o veličini fragmenata, koncentraciji agaroze, naponu struje i puferu u kojem se odvija. S obzirom na to da su razdvojeni fragmenti DNA bezbojni, potrebno je na kraju dodati i bojilo koje će ih vizualizirati.

**Potreban materijal:** Agarozna (Euroclone, Italija), DNA marker 50 – 1000 pb (Olerup/CareDX, Švedska), GelRed boja za bojanje nukleinskih kiselina u agaroznom gelu (Olerup/CareDX, Švedska), pufer 1 x TAE, sustav za elektroforezu VG-SYS wide Vari-Gel System (SCIE-PLAS, Fisher Scientific), transformator za elektroforezu PowerPac Basix (BIORAD Laboratories, SAD), UV transiluminator ImageQuant100 (GE Healthcare Life Sciences), mikropipeta (10  $\mu$ L), filter nastavci (nekorišteni, sterilni), analitička vaga (Mettler Toledo), mikrovalna pećnica, menzura (250 mL), staklena čaša (10 mL), staklena okrugla, tikvica (250 ml), zamrzivač (- 20  $^{\circ}$ C), hladnjak (+ 4  $^{\circ}$ C), nitrilne zaštitne rukavice bez pudera

#### **Postupak:**

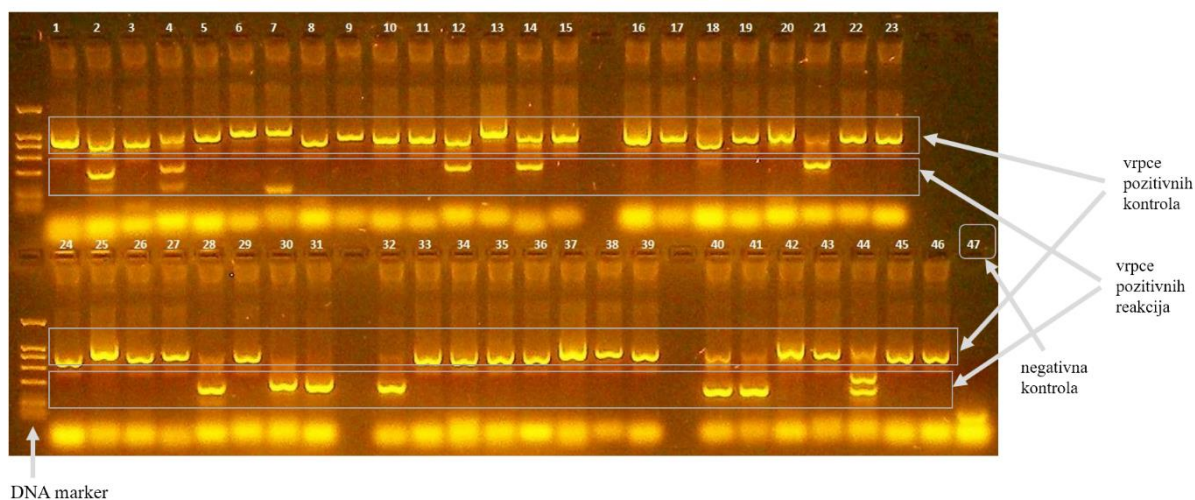
1. U tikvici otopiti 2,64 g agaroze u 132 mL pufera 1 x TAE te zagrijavati u mikrovalnoj pećnici do vrenja.
2. Tikvicu sa zagrijanom agarozom ohladiti pod vodom do 60  $^{\circ}$ C.
3. U tikvicu s ohlađenom agarozom dodati 80  $\mu$ L GelRed boje.
4. U ranije pripremljeni kalup u kojem se nalaze postavljeni češljevi za oblikovanje jažica izliti otopinu s agarozom i bojom.
5. Pričekati 20 - 30 min do polimerizacije agaroznog gela.
6. Izvaditi češljeve te uroniti gel u jedinicu za elektroforezu napunjenu 1 x TAE puferom.
7. U prvu jažicu svakog reda odpipetirati DNA marker. DNA marker je smjesa točno određenog broja fragmenata DNA poznatih veličina, pomoću kojeg određujemo veličinu umnoženih fragmenata DNA u reakcijskoj smjesi.



8. U svaku jažicu odpipetirati ukupnu količinu (10  $\mu$ L) svake reakcijske smjese PCR tubica komercijalnog seta.

9. Gel voziti 25 minuta pod jakosti struje 150 mA i napona 160 V.

Rezultate razdvajanja PCR produkata agaroznom gel elektroforezom vidimo u obliku vrpce koje su predočene UV transiluminatorom jer boja GelRed pobuđena UV svjetlom fluorescira kada je vezana na molekule DNA (Slika 6.). Svaki gel fotografiramo, te svaku fotografiju označimo i arhiviramo.



Slika 6. Fotografija agaroznog gela elektroforeze PCR produkata molekularne tipizacije lokusa HLA-DRB1 i HLA-DQB1 pomoću komercijalnog seta Olerup SSP DQ-DR Combi Tray. Izvor: fotografirala autorica rada.

### 3.4.5. HLA tipizacija metodom PCR SSO

**Princip metode:** Lifecodes HLA SSO setovi (*engl. Polymerase Chain Reaction Sequence Specific Oligonucleotides*) sadrže sekvencno-specifične oligonukleotide (SSOs) za identifikaciju prisutnih HLA alela u PCR amplificiranom uzorku. PCR SSO metoda temelji se na principu umnažanja dijelova gena HLA pomoću biotinom obilježenih početnica. Biotinilirani PCR produkti denaturiraju se i miješaju s Luminex polistirenskim mikrokuglicama koje na svojoj površini nose oligonukleotidne probe specifične za pojedini alel ili grupu alela ispitivanog gena HLA. Svaka od različitih oligonukleotidnih proba homologna je sekvenci unutar amplificiranog slijeda DNA koja je jedinstvena za određeni alel ili grupu alela. Dodatno, svaka amplificirana DNA hibridizira i na jednu ili više koncentrus proba homolognih sekvenci prisutnoj u svim alelima lokusa. Probe su vezane na Luminex mikrokuglice dizajnirane za korištenje u Luminex uređaju. Do 100 različitih populacija Luminex mikrokuglica može biti

pomiješano zajedno i analizirano Luminex uređajem zbog toga što se svaka populacija mikrokuglica razlikuje od drugih po svojoj jedinstvenoj fluorescenciji ili boji. Različite SSO probe mogu biti vezane na mikrokuglice svake boje. Stoga se smjese nekoliko proba mogu razlikovati na osnovu njihovih asocijacija s mikrokuglicama određene boje. Nakon hibridizacije dodaje se streptavidin konjugiran s fikoeritriinom. Mikrotitarska ploča s ispitivanim uzorcima stavlja se u Luminex uređaj i slijedi simultano mjerenje fluorescencije mikrokuglica i vezanih PCR amplikona. Luminex uređaj može kvantificirati i relativne količine obilježenih PCR produkata hibridiziranih na svaku Luminex mikrokuglicu. Relativni signal dobiven pomoću SSO proba pokazuje imaju li probe pozitivnu ili negativnu reakciju s amplificiranim uzorcima DNA te tako dobijemo informaciju o HLA fenotipu uzorka.

**Potreban materijal:** uzorak izolirane DNA, LIFECODES master mix (HLA-DQA1/B1) , LIFECODES mix proba (HLA-DQA1/B1), LIFECODES Taq DNA polimeraza, H<sub>2</sub>O redestilirana, adhezivna folija, PCR uređaj (VERITI Thermal Cyclor, Applied Biosystems), kabinet za sterilan rad (Aura PCR, Bioair Euroclone Division), mikropipete, filter nastavci i plastične tubice (slobodni od nukleinskih kiselina i nukleaza), centrifuga, vortex uređaj, zamrzivač, nitrilne zaštitne rukavice bez pudera

**Postupak amplifikacije:** Prije početka rada obavezna je sterilizacija PCR kabineta, odnosno mikropipeta i ostalog materijala koji se nalazi u kabinetu. Sterilizacija se izvodi primjenom UV svjetla tijekom 5 minuta.

1. Otopiti master mix na sobnoj temperaturi i vorteksirati ga 10 sekundi.
2. Pripremiti amplifikacijski miks prema broju PCR reakcijskih smjesa. Za jednu reakcijsku smjesu potrebno je: 6 µl LIFECODES master mixa, 0,2 µl LIFECODES Taq polimeraze i redestilirana H<sub>2</sub>O koju treba nadopuniti ovisno o koncentraciji DNA. Ukupan volumen svake reakcijske smjese mora biti 20 µl. Vorteksirati.
3. Otpipetirati izoliranu DNA (od 40 do 120 ng) u PCR tubicu.
4. Dodati amplifikacijski mix. Ukupan volumen amplifikacijskog mixa s uzorkom DNA mora biti 20 µl.
5. Postaviti pripremljenu PCR smjesu u PCR uređaj.

#### **Postupak hibridizacije:**

1. Uključiti Luminex uređaj pola sata prije rada kako bi se zagrijao.
2. Ugrijati LIFECODES mix proba na 55 do 60 °C, 5 - 10 minuta. Nakon toga, probe dobro vorteksirati 15 sekundi.
3. Kombinirati 15 µl LIFECODES mix proba s 5 µl umnoženog specifičnog PCR produkta.
4. Ploču s probama i PCR produktima prelijepiti polietilenskom folijom i staviti u Luminex na hibridizaciju.
5. Dok hibridizacija traje, pripremiti razrjeđenje streptavidina u otopini Dilution Solution u omjeru 1 : 200. Razrjeđenje se priprema u kiveti od 15 mL omotanoj aluminijskom folijom. Potrebno je pomiješati 170 µl Dilution Solution i 0,85 µl streptavidina po uzorku.
6. Kada program hibridizacije pokaže zadnji korak, dodajemo 170 µl razrijeđenog streptavidina u svaku jažicu na temperaturi od 56 °C.
7. Premjestiti ploču iz PCR uređaja i smjestiti u Luminex.

#### **3.4.6 Analiza rezultata HLA tipizacije**

Rezultati HLA tipizacije metodom PCR SSP analizirani su uz pomoć specijaliziranog računalnog programa *Helmborg SCORE* (Olerup/CareDX, Švedska). Rezultati tipizacije metodom PCR SSO analizirani su uz pomoć programa *MATCH IT! DNA* (Immucor, SAD).

#### **3.5. Statističke metode**

Učestalost alelnih varijanti lokusa HLA-DQA1 i HLA-DQB1 određena je direktnim brojanjem. Svaki uzorak koji je na testiranom lokusu imao jednu HLA alelnu varijantu smatran je homozigotom za taj lokus. Kategorički podatci su predstavljeni apsolutnim i relativnim frekvencijama. Za analizu razlika u raspodjeli bolesnika prema bolestima i dobi dijagnoze, te raspodjeli genskih varijanti između pojedinih skupina ispitanika korišten je Fisherov egzaktni test. Sve su *p* vrijednosti dvostrane, a razina značajnosti je postavljena na 0,05. Za analizu podataka korišten je statistički program MedCalc Software Ltd. Version 20.305.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Demografske i kliničke značajke bolesnika

U istraživanje je uključeno ukupno 59 bolesnika, 50 oboljelih od celijakije te 9 oboljelih od celijakije i T1DM. Učinjena im je HLA tipizacija tkiva u laboratoriju za molekularnu i HLA dijagnostiku od 2009. do 2023. godine. Skupina oboljelih od celijakije sastojala se od 29 ispitanika ženskog spola (58 %) te 21 ispitanika muškog spola (42 %) (tablica 2.), a skupina oboljelih od celijakije i T1DM sastojala se od 7 ženskih i 2 muška ispitanika (tablica 3.). Najveći broj ispitanika prilikom postavljanja dijagnoze celijakije je bio u dobnoj skupini od 0 - 5 godina (58 %) (tablica 2.), a najveći broj ispitanika prilikom postavljanje dijagnoze celijakije s pridruženim T1DM u dobnoj skupini od 13 - 23 godine (tablica 3.). T1DM je u skupini celijakije s pridruženim T1DM bio dijagnosticiran u prosjeku nešto više od dvije godine (aritmetička sredina 2,1 godina sa standardnom devijacijom 1,4 godine) prije celijakije.

Tablica 2. Osnovna obilježja bolesnika s celijakijom

<u>Dobne skupine</u>	<u>Broj pacijenata prema spolu</u>		<u>Ukupno</u>
	<u>M</u>	<u>Ž</u>	
0 - 5 godina	13	16	29 (58 %)
6 - 12 godina	3	11	14 (28 %)
13 - 23 godina	5	2	7 (14 %)
<u>Ukupno</u>	21 (42 %)	29 (58 %)	50

Tablica 3. Osnovna obilježja bolesnika s celijakijom i T1DM

<u>Dobne skupine</u>	<u>Broj pacijenata prema spolu</u>		<u>Ukupno</u>
	<u>M</u>	<u>Ž</u>	
0 - 5 godina	0	1	1
6 - 12 godina	0	3	3
13 - 23 godina	2	3	5
<u>Ukupno</u>	2	7	9

U ovom istraživanju svi su muški ispitanici s dijagnozom celijakije s pridruženim T1DM prilikom dijagnosticiranja bolesti bili dobne skupine 13 - 23 godina.

Nema statistički značajne razlike u raspodjeli ispitanika u skupini celijakije i skupini celijakije s T1DM s obzirom na spol ispitanika po pojedinim dobnim kategorijama. Uočena je statistički značajna razlika u raspodjeli ispitanika s celijakijom u odnosu na ispitanike oboljele od celijakije i T1DM s obzirom na dob dijagnosticiranja (Fisherov egzaktni test,  $p = 0,02$ ).

Tablica 4. Raspodjela ispitanika po dobnim skupinama s obzirom na dijagnozu celijakije i celijakije s pridruženim T1DM

dob dijagnosticiranja (godine)	celijakija	celijakija+T1DM*	$p\ddagger$
0	1	0	0,02
1	7	0	
2	11	1	
3	3	0	
4	3	0	
5	4	0	
	29	1	
6	3	0	
7	1	1	
8	0	0	
9	4	1	
10	3	0	
11	1	0	
12	2	1	
	14	3	
13	2	1	
14	1	0	
15	0	1	
16	1	0	
17	1	1	
18	1	1	
19	0	0	
20	0	0	
21	0	0	
22	0	0	
23	1	1	
	7	5	

\*T1DM – dijabetes tipa 1;  $p\ddagger$  - Fisherov egzaktni test

#### 4.2. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

U Tablici 5. prikazana je učestalost varijanti HLA-DQA1 alela kod pacijenata oboljelih od celijakije i pacijenata oboljelih od celijakije i T1DM. Od ukupno 100 alela kod 50 pacijenata oboljelih od celijakije najučestalije varijante su: HLA-DQA1\*05 (50 %) i HLADQA1\*01 (28 %). Također, iste varijante su najzastupljenije i kod pacijenata oboljelih od celijakije i T1DM, ali je u ovoj skupini varijanta HLADQA1\*01 nešto učestalija od varijante HLA-DQA1\*05. Nema statistički značajne razlike učestalosti alelnih varijanti HLA-DQA1 unutar skupina celijakije i celijakije + T1DM s obzirom na spol ispitanika. Nema ni statistički značajne razlike učestalosti pojedinih alelnih varijanti HLA-DQA1 među ispitivanim skupinama po postavljenim dijagnozama.

Tablica 5. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim T1DM

<i>DQA1</i>	<i>M</i>		<i>Ž</i>		<i>UKUPNO</i>	
	<i>n alela celijakija</i>	<i>n alela celijakija+T1DM*</i>	<i>n alela celijakija</i>	<i>n alela celijakija+T1DM*</i>	<i>n alela celijakija</i>	<i>n alela celijakija+T1DM*</i>
<b>*01</b>	12 (29 %)	1	16 (28 %)	6	28 (28 %)	7
<b>*02</b>	5 (12 %)	0	6 (10 %)	2	11 (11 %)	2
<b>*03</b>	6 (14 %)	1	4 (7 %)	2	10 (10 %)	3
<b>*04</b>	1 (2 %)	0	0 (0 %)	0	1 (1 %)	0
<b>*05</b>	18 (43 %)	2	32 (55 %)	4	50 (50 %)	6
<b>*06</b>	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0

\*T1DM - dijabetes tipa 1; n - broj alela

#### 4.3. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

U Tablici 6. prikazana je učestalost varijanti HLA-DQA1 alela prema dobnim skupinama kod pacijenata oboljelih od celijakije. U sve tri dobne skupine najučestalija je alelna varijanta HLA-DQA1\*05 (50 % u skupini 0 - 5 godina, 46 % kod 6 - 12 godina, 57 % u skupini 13 - 23 godine), HLA-DQA1\*06 nije bila prisutna ni u jednoj dobnoj skupini oboljelih od celijakije. Razlika učestalosti za svaku pojedinu alelnu varijantu HLA-DQA1 među dobnim skupinama za mušku i žensku skupinu kod oboljelih od celijakije nije statistički značajna.

Tablica 6. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

<i>DQA1</i>	<i>M</i>			<i>Ž</i>			<i>UKUPNO</i>		
	<i>celijakija 0 - 5</i>	<i>celijakija 6 - 12</i>	<i>celijakija 13 - 23</i>	<i>celijakija 0 - 5</i>	<i>celijakija 6 - 12</i>	<i>celijakija 13 - 23</i>	<i>celijakija 0 - 5</i>	<i>celijakija 6 - 12</i>	<i>celijakija 13 - 23</i>
<i>*01</i>	9 (35 %)	0 (0 %)	3 (30 %)	8 (25 %)	8 (36 %)	0 (0 %)	17 (29 %)	8 (29 %)	3 (21 %)
<i>*02</i>	2 (8 %)	1 (17 %)	2 (20 %)	3 (9 %)	2 (9 %)	1 (25 %)	5 (9 %)	3 (11 %)	3 (21 %)
<i>*03</i>	4 (15 %)	2 (33 %)	0 (0 %)	3 (9 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	7 (12 %)	3 (11 %)	0 (0 %)
<i>*04</i>	0 (0 %)	1 (17 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3 %)	0 (0 %)
<i>*05</i>	11 (42 %)	2 (33 %)	5 (50 %)	18 (56 %)	11 (50 %)	3 (75 %)	29 (50 %)	13 (46 %)	8 (57 %)
<i>*06</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

#### 4.4. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

U Tablici 7. prikazana je učestalost varijanti HLA-DQA1 alela prema dobnim skupinama kod pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim dijabetesom tipa 1. Alelna varijanta HLA-DQA1\*01 najučestalija je u dobnoj skupini 13 - 23 godine. Varijante HLA-DQA1\*03 i HLA-DQA1\*05 najučestalije su u dobnoj skupini od 6 - 12 godina. HLA-DQA1\*04 i HLA-DQA1\*06 nisu prisutne ni u jednoj dobnoj skupini oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM. U skupini ženskih ispitanika postoji statistički značajna razlika u frekvencijama među dobnim skupinama za alelnu varijantu HLA-DQA1\*01 (Fisherov egzaktan test, tablica 2x3,  $p_A < 0,001$ ,  $p_B < 0,001$ ).

Tablica 7. Učestalost HLA-DQA1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim dijabetesom tipa 1

	<i>M</i>	<i>Ž</i>			<i>UKUPNO</i>		
<i>DQA1</i>	<i>Celijakija + T1DM* 13 - 23</i>	<i>Celijakija + T1DM* 0 - 5</i>	<i>Celijakija + T1DM* 6 - 12</i>	<i>Celijakija + T1DM* 13 - 23</i>	<i>Celijakija + T1DM* 0 - 5</i>	<i>Celijakija + T1DM* 6 - 12</i>	<i>Celijakija + T1DM* 13 - 23</i>
<i>*01</i>	1	0	0	6	0	0	7
<i>*02</i>	0	1	1	0	1	1	0
<i>*03</i>	1	0	2	0	0	2	1
<i>*04</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>*05</i>	2	1	3	0	1	3	2
<i>*06</i>	0	0	0	0	0	0	0

\*T1DM - Dijabetes mellitus tipa 1

#### 4.5. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim T1DM

U Tablici 8. prikazana je učestalost varijanti HLA-DQB1 alela kod pacijenata oboljelih od celijakije i pacijenata oboljelih od celijakije i T1DM. Možemo primjetiti da su od ukupnih 100 alela kod 50 pacijenata oboljelih od celijakije najučestalije varijante: HLADQB1\*02 (46 %), HLADQB1\*03 (DQ7) (16 %) i HLADQB1\*05 (16 %). Kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM najučestalije varijante bile su HLADQB1\*02, HLADQB1\*06, HLADQB1\*03 (DQ8) i HLADQB1\*05. Nema statistički značajne razlike učestalosti alelnih varijanti HLA-DQB1 unutar skupina celijakije i celijakije + T1DM s obzirom na spol ispitanika. Statistički značajne razlike učestalosti pojedinih alelnih varijanti HLA-DQB1 nema ni među ispitivanim skupinama po postavljenim dijagnozama.



Tablica 8. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

<i>DQB1</i>	<i>M</i>		<i>Ž</i>		<i>UKUPNO</i>	
	<i>n alela celijakija</i>	<i>n alela celijakija+ T1DM*</i>	<i>n alela celijakija</i>	<i>n alela celijakija+ T1DM*</i>	<i>n alela celijakija</i>	<i>n alela celijakija+ T1DM*</i>
<i>*02</i>	17 (41 %)	1	29 (50 %)	5	46 (46 %)	6
<i>*03 (DQ7)</i>	7 (17 %)	1	9 (16 %)	1	16 (16 %)	2
<i>*03 (DQ8)</i>	4 (10 %)	1	4 (7 %)	2	8 (8 %)	3
<i>*03 (DQ9)</i>	1 (2 %)	0	0 (0 %)	0	1 (1 %)	0
<i>*04</i>	1 (2 %)	0	0 (0 %)	0	1 (1 %)	0
<i>*05</i>	6 (14 %)	0	10 (17 %)	3	16 (16 %)	3
<i>*06</i>	6 (14 %)	1	6 (10 %)	3	12 (12 %)	4

\*T1DM - Dijabetes mellitus tipa 1; n - broj alela

#### 4.6. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

U Tablici 9. prikazana je učestalost varijanti HLA-DQB1 alela prema dobnim skupinama kod pacijenata oboljelih od celijakije. U skupini muških i ženskih ispitanika alelna varijanta HLA-DQB1\*02 učestalija je kod dobne skupine 13 - 23 godine u odnosu na ostale dobne skupine. Razlika za svaku pojedinu alelnu varijantu HLA-DQB1 među dobnim skupinama za muške i ženske ispitanike nije statistički značajna.

Tablica 9. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

DQB1	M			Ž			Ukupno		
	celijakija 0 - 5	celijakija 6 - 12	celijakija 13 - 23	celijakija 0 - 5	celijakija 6 - 12	celijakija 13 - 23	celijakija 0 - 5	celijakija 6 - 12	celijakija 13 - 23
<b>*02</b>	10 (39 %)	2 (33 %)	5 (50 %)	16 (50 %)	9 (41 %)	4 (100 %)	26 (45 %)	11 (39 %)	9 (65 %)
<b>*03 (DQ7)</b>	4 (15 %)	1 (17 %)	2 (20 %)	5 (16 %)	4 (18 %)	0 (0 %)	9 (15 %)	5 (18 %)	2 (14 %)
<b>*03 (DQ8)</b>	2 (8 %)	2 (33 %)	0 (0 %)	3 (9 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	5 (9 %)	3 (11 %)	0 (0 %)
<b>*03 (DQ9)</b>	1 (4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>*04</b>	0 (0 %)	1 (17 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	0 (0 %)
<b>*05</b>	4 (15 %)	0 (0 %)	2 (20 %)	6 (19 %)	4 (18 %)	0 (0 %)	10 (17 %)	4 (14 %)	2 (14 %)
<b>*06</b>	5 (19 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	2 (6 %)	4 (18 %)	0 (0 %)	7 (12 %)	4 (14 %)	1 (7 %)

#### 4.7. Učestalost HLA-DQB1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

U tablici 10. prikazana je učestalost varijanti HLA-DQB1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim dijabetesom tipa 1. U skupini ženskih ispitanica su u dobnoj skupini 0 - 5 godina najučestalije alelne varijante HLA-DQB1\*02 i HLA-DQB1\*03 (DQ7), u dobnoj skupini 6 - 12 godina najučestalija je HLA-DQB1\*02, dok su u dobnoj skupini 13 - 23 godine najučestalije alelne varijante HLA-DQB1\*05 i HLA-DQB1\*06. U skupini ženskih ispitanica statistički je značajna razlika u frekvencijama među dobnim skupinama za alelnu varijantu HLA-DQB1\*02 (Fisherov egzakti test, tablica 2 x 3,  $p_A = 0,06$ ,  $p_B = 0,04$ ), dok je za alelne varijante HLA-DQB1\*05 i -DQB1\*06 razlika blizu statističke značajnosti ( $p_A = 0,14$   $p_B = 0,09$ ).

Tablica 10. Učestalost varijanti HLA-DQB1 alela s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

HLA-DQB1	M	Ž				Ukupno		
	celijakija+ T1DM* 13 - 23	celijakija+ T1DM* 0 - 5	celijakija+ T1DM* 6 - 12	celijakija+ T1DM* 13 - 23	celijakija+ T1DM* 0 - 5	celijakija+ T1DM* 6 - 12	celijakija+ T1DM* 13 - 23	
*02	1	1	4	0	1	4	1	
*03 (DQ7)	1	1	0	0	1	0	1	
*03 (DQ8)	1	0	2	0	0	2	1	
*03 (DQ9)	0	0	0	0	0	0	0	
*04	0	0	0	0	0	0	0	
*05	0	0	0	3	0	0	3	
*06	1	0	0	3	0	0	4	

\*T1DM - dijabetes mellitus tipa 1

#### 4.8. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol u skupini oboljelih od celijakije i u skupini oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

U tablici 11. prikazana je učestalost pojedinih HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol. Najučestaliji haplotip kod pacijenata s celijakijom je HLA-DQA1\*05-DQB1\*02 (heterodimer DQ2.5) (35 %). U skupini pacijenata s celijakijom i T1DM najzastupljeniji su haplotipovi HLA-DQA1\*01-DQB1\*06 i HLA-DQA1\*05-DQB1\*02 (heterodimer DQ2.5). U ispitivanim skupinama celijakije i celijakije s pridruženim T1DM nije bio prisutan haplotip HLA-DQA1\*02-DQB1\*03 (DQ9). Nema statistički značajne razlike u raspodjeli HLA-DQ haplotipova između skupina celijakije i celijakije s pridruženim T1DM. Također nema statistički značajne razlike u raspodjeli HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol ispitanika u obje skupine dijagnoza.

Tablica 11. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim T1DM

HLA-DQA1* DQB1*	M		Ž		UKUPNO	
	celijakija	Celijakija + T1DM*	celijakija	Celijakija + T1DM*	celijakija	Celijakija + T1DM*
01-05	6 (14 %)	0	9 (16 %)	3	15 (15 %)	3
01-06	6 (14 %)	1	7 (12 %)	3	13 (13 %)	4
05-02	12 (29 %)	1	23 (40 %)	3	35 (35 %)	4
02-02	5 (12 %)	0	6 (10 %)	2	11 (11 %)	2
05-03(DQ7)	6 (14 %)	1	9 (16 %)	1	15 (15 %)	2
03-03(DQ8)	4 (10 %)	1	4 (6 %)	2	8 (8 %)	3
02-03(DQ9)	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0
04-04	1 (3 %)	0	0 (0 %)	0	1 (1 %)	0
03-03(DQ7)	1 (2 %)	0	0 (0 %)	0	1 (1 %)	0
03-03(DQ9)	1 (2 %)	0	0 (0 %)	0	1 (1 %)	0

\*T1DM - dijabetes mellitus tipa 1

#### 4.9. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

U tablici 12. prikazana je učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije. U sve tri dobne skupine najučestaliji HLA-DQ haplotip je HLA-DQA1\*05-DQB1\*02. Haplotip HLA-DQA1\*02-DQB1\*03 (DQ9) nije bio zastupljen niti u jednoj dobnoj skupini oboljelih od celijakije. Nema statistički značajne razlike u raspodjeli HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol ispitanika u skupini oboljelih od celijakije.

Tablica 12. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

HLA-DQA1* DQB1*	M			Ž			Ukupno		
	celijakija 0 - 5	celijakija 6 - 12	celijakija 13 - 23	celijakija 0 - 5	celijakija 6 - 12	celijakija 13 - 23	celijakija 0 - 5	celijakija 6 - 12	celijakija 13 - 23
01-05	4 (16 %)	0 (0 %)	2 (20 %)	5 (16 %)	4 (18 %)	0 (0 %)	9 (16 %)	4 (14 %)	2 (14 %)
01-06	5 (20 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	3 (10 %)	4 (18 %)	0 (0 %)	8 (13 %)	4 (14 %)	1 (7 %)
05-02	8 (32 %)	1 (14 %)	3 (30 %)	13(41 %)	7 (32 %)	3 (75 %)	21(38 %)	8 (28 %)	6 (44 %)
02-02	2 (8 %)	1 (14 %)	2 (20 %)	3 (9 %)	2 (9 %)	1 (25 %)	5 (9 %)	3 (10 %)	3 (21%)
05-03(DQ7)	3 (12 %)	1 (14 %)	2 (20 %)	5 (15 %)	4 (18 %)	0 (0 %)	8 (13 %)	5 (17 %)	2 (14 %)
03-03(DQ8)	2 (8 %)	2 (29 %)	0 (0 %)	3 (9 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	5 (9 %)	3 (9 %)	0 (0 %)
02-03(DQ9)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0(0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
04-04	0 (0 %)	1 (14 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	0 (0 %)
03-03(DQ7)	0 (0 %)	1 (14 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	0 (0 %)
03-03(DQ9)	1 (4%)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

#### 4.10. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

U tablici 13. prikazana je učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM. Haplotipovi HLA-DQA1\*02-DQB1\*02 i HLADQA1\*05-DQB1\*03 (DQ7) prisutni su u dobnoj skupini od 0 - 5 godina. Haplotipovi HLA-DQA1\*05-DQB1\*02 i HLA-DQA1\*03-DQB1\*03 (DQ8) najučestaliji su u dobnoj skupini od 6 - 12 godina. U dobnoj skupini 13 - 23 godine najučestaliji su haplotipovi HLA-DQA1\*01-DQB1\*05 i HLA-DQA1\*01-DQB1\*06. Prisutna je razlika u frekvencijama haplotipova HLA-DQA1\*01-DQB1\*05, -DQA1\*01-DQB1\*06 i -DQA1\*05-DQB1\*02 koja je blizu statističke značajnosti ( $p = 0,09$  za sva tri DQ haplotipa) s obzirom na dobne skupine u skupini ženskih ispitanica oboljelih od celijakije udružene s T1DM. Nema statistički značajne razlike u raspodjeli HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol ispitanika u skupini oboljelih od celijakije s dijabetesom tipa 1.

Tablica 13. Učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim dijabetesom tipa 1

	<i>M</i>	<i>Ž</i>			<i>Ukupno</i>		
<i>HLA-DQA1* DQB1*</i>	<i>celijakija +T1DM* 13 - 23</i>	<i>celijakija +T1DM* 0 - 5</i>	<i>celijakija +T1DM* 6 - 12</i>	<i>celijakija +T1DM* 13 - 23</i>	<i>celijakija +T1DM* 0 - 5</i>	<i>celijakija +T1DM* 6 - 12</i>	<i>celijakija +T1DM* 13 - 23</i>
<i>01-05</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>3</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>3</i>
<i>01-06</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>3</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>4</i>
<i>05-02</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>3</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>3</i>	<i>1</i>
<i>02-02</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>
<i>05-03(DQ7)</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>1</i>
<i>03-03(DQ8)</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>1</i>

\*T1DM - dijabetes mellitus tipa 1

#### 4.11. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

U tablici 14. prikazane su raspodjele HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol. U skupini bolesnika s celijakijom, najzastupljenija je bila kombinacija heterodimera (genotip) DQ2.5/DQX (26 %), DQ7.5/DQX (14 %), te DQ2.5/DQ2.2 (12 %). U skupini bolesnika s celijakijom i T1DM najučestaliji su genotipovi DQX/DQX i DQ2.5/DQ8. Prisutna je razlika u raspodjeli kombinacije heterodimera DQ2.5/DQ7.5 s obzirom na spol u skupini oboljelih od celijakije blizu razine statističke značajnosti ( $p = 0,07$ ).

Tablica 14. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol u skupini pacijenata oboljelih od celijakije i u skupini pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

	<u>M</u>		<u>Ž</u>		<u>UKUPNO</u>	
	<i>celijakija</i>	<i>Celijakija + T1DM*</i>	<i>celijakija</i>	<i>Celijakija + T1DM*</i>	<i>celijakija</i>	<i>Celijakija + T1DM*</i>
<i>DQ2.5/DQ2.5.</i>	1 (5 %)	0	3 (11 %)	1	4 (8 %)	1
<i>DQ2.5/DQ2.2</i>	3 (14 %)	0	3 (11 %)	0	6 (12 %)	0
<i>DQ2.5/DQX</i>	5 (24 %)	0	8 (28 %)	0	13(26 %)	0
<i>DQ2.5/DQ 7.5</i>	0 (0 %)	0	5 (17 %)	0	5 (10 %)	0
<i>DQ2.5/DQ8</i>	2 (9 %)	1	1 (3 %)	1	3 (6 %)	2
<i>DQ2.2/DQ7.5</i>	1 (5 %)	0	2 (7 %)	1	3 (6 %)	1
<i>DQ8/DQ8</i>	0 (0 %)	0	1 (3 %)	0	1 (2 %)	0
<i>DQ8/DQX</i>	1 (5 %)	0	1 (3 %)	0	2 (4 %)	0
<i>DQ2.2/DQX</i>	0 (0 %)	0	1 (3 %)	0	1 (2 %)	0
<i>DQ8/DQ2.2</i>	1 (5 %)	0	0 (0 %)	1	1 (2 %)	1
<i>DQ2.2/DQ2.2</i>	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0
<i>DQ8/DQ7.5</i>	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0
<i>DQ7.5/DQX</i>	5 (24 %)	1	2 (7 %)	0	7 (14%)	1
<i>DQ7.5/DQ7.5</i>	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0	0 (0 %)	0
<i>DQX/DQX</i>	2 (9 %)	0	2 (7 %)	3	4 (8 %)	3

\*T1DM - dijabetes mellitus tipa 1; DQX – drugi HLA-DQ heterodimer, heterodimer nerizičan za celijakiju

#### 4.12. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

U tablici 15. prikazana je učestalost kombinacija HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije. U dobnoj skupini 0 - 5 godina oboljelih od celijakije najzastupljeniji je genotip DQ2.5/DQX (31 %). Kombinacije HLA-DQ heterodimera DQ2.5/DQX (21 %) i DQ7.5/DQX (21 %) bile su najzastupljenije u dobnoj skupini 6 - 12 godina. U dobnoj skupini 13 - 23 godina najzastupljeniji su genotipovi DQ2.5/DQ2.2 (43 %) i DQ7.5/DQX (29 %). Nema statistički značajne razlike u raspodjeli HLA-DQ heterodimernih kombinacija s obzirom na spol po dobnim skupinama kod oboljelih od celijakije.

Tablica 15. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije

	<i>M-celijakija</i>			<i>Ž-celijakija</i>			<i>Ukupno</i>		
	<i>0 - 5</i>	<i>6 - 12</i>	<i>13 - 23</i>	<i>0 - 5</i>	<i>6 - 12</i>	<i>13 - 23</i>	<i>0 - 5</i>	<i>6 - 12</i>	<i>13 - 23</i>
<i>DQ2.5/DQ2.5.</i>	1 (8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (13 %)	0 (0 %)	1 (50 %)	3 (10 %)	0 (0 %)	1 (14 %)
<i>DQ2.5/DQ2.2</i>	1 (8 %)	0 (0 %)	2 (40 %)	0 (0 %)	2 (18 %)	1 (50%)	1 (4 %)	2 (14 %)	3 (43 %)
<i>DQ2.5/DQ8</i>	1 (8 %)	1 (33 %)	0 (0 %)	1 (6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (7 %)	1 (7 %)	0 (0 %)
<i>DQ2.5/DQX</i>	4 (30 %)	0 (0 %)	1 (20 %)	5 (31 %)	3 (27 %)	0 (0 %)	9 (31 %)	3 (21 %)	1 (14 %)
<i>DQ8/DQ8</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<i>DQ8/DQ2.2</i>	0 (0 %)	1 (33 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (7 %)	0 (0 %)
<i>DQ2.5/DQ 7.5</i>	0(0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (19 %)	2 (18 %)	0 (0 %)	3 (10 %)	2 (14 %)	0 (0 %)
<i>DQ8/DQX</i>	1 (8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (9 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	1 (7 %)	0 (0 %)
<i>DQ2.2/DQX</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<i>DQ2.2/DQ7.5</i>	1 (8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (13 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<i>DQ7.5/DQX</i>	2 (15 %)	1 (33 %)	2 (40 %)	0 (0 %)	2 (18 %)	0 (0 %)	2 (7 %)	3 (21 %)	2 (29 %)
<i>DQX/DQX</i>	2 (15 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6 %)	1 (9 %)	0 (0 %)	3 (10 %)	1 (7 %)	0 (0 %)

DQX – drugi HLA-DQ heterodimer, heterodimer nerizičan za celijakiju

#### 4.13. Učestalost HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM

U tablici 16. prikazana je učestalost kombinacija HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim dijabetesom tipa 1. U skupini ženskih bolesnica genotip HLADQ2.2/DQ7.5 je najučestaliji u najmlađoj dobnoj skupini 0 - 5 godina. Genotipovi DQ2.5/DQ2.5, DQ2.5/DQ8 i DQ8/DQ2.2 jednako su zastupljeni u srednjoj dobnoj skupini 6 - 12 godina kod ženskih bolesnica. U ženskoj ispitivanoj skupini dobi dijagnoze 13 - 23 godine najzastupljenija kombinacija heterodimera je DQX/DQX, dok su u muškoj ispitivanoj skupini to DQ2.5/DQ8 i DQ7.5/DQX. Nema statistički značajne razlike u raspodjeli kombinacija HLA-DQ heterodimera kod oboljelih od celijakije i T1DM s obzirom na spol i dob.



Tablica 16. Učestalost kombinacija HLA-DQ heterodimera s obzirom na spol i dob kod pacijenata oboljelih od celijakije sa pridruženim dijabetesom tipa 1

	<i>M</i>	<i>Ž</i>			<i>Ukupno</i>		
	celijakija +T1DM* 13 - 23	Celijakija +T1DM* 0 - 5	Celijakija +T1DM* 6 - 12	Celijakija +T1DM* 13 - 23	Celijakija +T1DM* 0 - 5	Celijakija +T1DM* 6 - 12	Celijakija +T1DM* 13 - 23
<b>DQ2.5/DQ2.5.</b>	0	0	1	0	0	1	0
<b>DQ2.5/DQ8</b>	1	0	1	0	0	1	1
<b>DQ8/DQ2.2</b>	0	0	1	0	0	1	0
<b>DQ2.2/DQ7.5</b>	0	1	0	0	1	0	0
<b>DQ7.5/DQX</b>	1	0	0	0	0	0	1
<b>DQX/DQX</b>	0	0	0	3	0	0	3

\*T1DM - dijabetes mellitus tipa 1; DQX – drugi HLA-DQ heterodimer, heterodimer nerizičan za celijakiju

## 5. RASPRAVA

Genetska predispozicija za razvoj celijakije determinirana je velikim brojem gena, uključujući i gene HLA sustava kao glavne genetske čimbenike u razvoju bolesti (8). Gotovo svi pacijenti s celijakijom nositelji su nekih od sljedećih HLA-DQ haplotipova: HLA-DQ2.5, HLA-DQ 2.2 ili HLA-DQ8 (3). Brojna ranija istraživanja otkrila su da većina pacijenata oboljelih od celijakije nosi HLADQA1\*05 i HLADQB1\*02 varijante alela koje kodiraju HLADQ2.5 heterodimer (19).

U ovom istraživanju, koje je provedeno na Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu KBC-a Osijek, korišteni su podaci rezultata HLA tipizacije u razdoblju od 2009. do ožujka 2023. godine za ukupno 50 pedijatrijskih bolesnika s dijagnozom celijakije i 9 pedijatrijskih bolesnika s dijagnozom celijakije s pridruženim T1DM. U skupini oboljelih od celijakije, 58 % su činile osobe ženskog spola. Veći udio ženske populacije u našoj skupini oboljelih od celijakije poklapa se s podacima o ispitivanim skupinama studija provedenih u Rijeci (60 %) (12), Madridu (62 %) (11) i Brazilu (67 %) (4). Najveći dio (58 %) skupine oboljelih od celijakije sačinjava dobna skupina kojoj je dijagnoza celijakije postavljena u dobi od 0 do 5 godina starosti. Slično tome, u istraživanju Martinez - Ojinaga i sur. prosječna dob kod postavljanja dijagnoze celijakije bila je bila je 2,6 godina sa standardnom devijacijom 0,1 godine (11). U skupini oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM također su veći postotak činile osobe ženskog spola (78 %). U ovom je istraživanju kod ispitanika oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM celijakija u 63 % oboljelih dijagnosticirana u dobi 13 - 23 godine, a T1DM je dijagnosticiran u prosjeku 2,1 godinu sa standardnom devijacijom 1,3 godine prije dijagnoze celijakije što je u skladu s literaturnim podacima da se u 90 % oboljelih prvo javlja T1DM a tek nešto kasnije celijakija (17).

Prema rezultatima našeg istraživanja, u skupini oboljelih od celijakije HLA-DQ haplotipovi koji doprinose riziku za razvoj celijakije zastupljeni su učestalošću od 35 % DQ2.5 (HLA-DQA1\*05-DQB1\*02), 15 % DQ7.5 (HLA-DQA1\*05-DQB1\*03(DQ7)), 11 % DQ2.2 (HLA-DQA1\*02-DQB1\*02) i 8 % DQ8 (HLA-DQA1\*03-DQB1\*03(DQ8)). Naši rezultati se razlikuju od rezultata istraživanja Sinčić i sur. provedenog u Rijeci prema kojem je HLA-DQ2 haplotip bio zastupljen u 79,1 % pacijenata oboljelih od celijakije (13), te od istraživanja Jeannin i sur. provedenog na Tajlandu u kojem je HLA-DQ2 haplotip bio prisutan u 83,8 % pacijenata (22). Nadalje, frekvencija DQ2.2 i DQ2.5 heterodimera kod oboljelih od celijakije u ovom je istraživanju niža i od rezultata studije Siddiqui i sur. iz Pakistana (85,7 %) (23).

Najnovija meta analiza provedena 2023. godine u Švicarskoj, izvjestila je o HLA-DQ2 haplotipu kod oboljelih od celijakije u 75,6 % pacijenata iz Brazila, 91 % pacijenata iz Ujedinjenog Kraljevstva i 81 % pacijenata iz Rima (24) što se također razlikuje u odnosu na naše istraživanje. Za heterodimer DQ8 u oboljelih od celijakije rezultate slične našima dobili su Romanos i sur. u studiji provedenoj u Brazilu s frekvencijom 11,3 % (4), te nedavna europska studija provedena na ukupno 2308 pacijenata gdje je frekvencija HLA-DQ8 haplotipa iznosila do 10 % (25).

U skupini oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM najzastupljeniji rizični haplotipovi bili su HLA-DQ2.5, HLA-DQ8, HLA-DQ2.2 i HLA-DQ7.5. Rezultati našeg istraživanja u skladu su s rezultatima istraživanja Siddiqui i sur. koji izvještavaju o učestalosti od 31,4 % za HLA-DQ2.2 i DQ2.5, te 25 % za HLA-DQ8 (23). Nadalje, prema našim rezultatima, kod pacijenata oboljelih od celijakije, najčešće varijante HLADQA1 i HLADQB1 gena bile su: HLADQA1\*05 (50 %) i HLADQB1\*02 (46 %) . Istraživanje provedeno u Rijeci dobilo je slične rezultate našima, sa postotkom od 35,9 % HLA-DQA1\*05 alela i 50 % HLA-DQB1\*02 alela (13). Meta analiza provedena u Švicarskoj izvjestila je o HLA-DQB1\*02 alelu u 84,6 % Palestinaca i 77,42 % Egipćana oboljelih od celijakije (23). Naši rezultati u skladu su s podatkom da varijante HLA-DQA1\*05 i HLADQB1\*02 alela, najviše pridonose predispoziciji za razvoj celijakije (22). S druge strane, kod pacijenata oboljelih od celijakije i T1DM, također je najučestalija varijanta HLA-DQB1 alela bila HLADQB1\*02. Najučestalija varijanta HLA-DQA1 gena bila je HLA-DQA1\*01, što se razlikuje u odnosu na skupinu pacijenata oboljelih samo od celijakije.

Učestalosti HLA-DQ genotipova kod oboljelih od celijakije DQ2.5/DQX (26 %), DQ7/DQX (14 %), DQ2.5/DQ2.2 (12 %) i DQ2.5/DQ7.5 (10 %) u skladu su sa rezultatima studije provedene 2019. godine u Madridu (DQ2.5/DQX 29,8 %, DQ2.5/DQ7.5 8 %). Istovremeno se podatci razlikuju za genotipove DQ2.5/DQ2.2 (29,2 % u odnosu na 12 %) i DQ7.5/DQX (0,2 % u odnosu na 14 %) (10).

## 6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. HLA-DQA1\*05 je najučestalija varijanta HLA-DQA1 alela kod pacijenata oboljelih od celijakije. Varijanta HLA-DQA1\*05 je češća u žena i u dobi od 0 - 5 godina. HLA-DQA1\*01 je najučestalija varijanta HLA-DQA1 alela kod pacijenata oboljelih od celijakije i T1DM. Varijanta HLA-DQA1\*01 je češća u žena i u dobi od 13 - 23 godine.
2. HLA-DQB1\*02 je najučestalija varijanta HLA-DQB1 alela kod pacijenata oboljelih od celijakije i pacijenata oboljelih od celijakije sa T1DM. Varijanta HLA-DQB1\*02 češća je u žena. Kod oboljelih od celijakije, varijanta je najčešća u dobnoj skupini od 0 - 5 godina, a kod oboljelih od celijakije sa T1DM u dobnoj skupini od 6 - 12 godina.
3. Najučestaliji haplotip kod oboljelih od celijakije i oboljelih od celijakije s pridruženim T1DM je HLA-DQ2.5 haplotip (HLA-DQA1\*05-DQB1\*02). HLA-DQ2.5 haplotip je češći u žena. Kod pacijenata oboljelih od celijakije HLA-DQ2.5 haplotip najčešći je u dobi od 0 - 5 godina, a kod pacijenata sa pridruženim T1DM u dobi od 6 - 12 godina.
4. HLA-DQ genotip DQ2.5/DQX je najučestalija kombinacija kod oboljelih od celijakije. Genotip DQ2.5/DQX češći je u skupini ženskog spola i u dobi od 0 - 5 godina. Kod oboljelih od celijakije a pridruženim T1DM najučestaliji genotip je DQX/DQX.

## 7. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Odrediti učestalost HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob u skupini oboljelih od celijakije i skupini oboljelih od celijakije udružene s T1DM. Ispitati razlike učestalosti HLA-DQ haplotipova s obzirom na spol i dob u vrijeme dijagnosticiranja bolesti.

**Nacrt studije:** Presječno istraživanje s povijesnim podacima.

**Bolesnici i metode:** Skupine ispitanika su pacijenti kojima je tipizacija HLA učinjena u periodu od 1. 1. 2009. do 1. 3. 2023. godine u Laboratoriju za molekularnu i HLA dijagnostiku KBC-a Osijek. Identificirano je 50 bolesnika s dijagnozom celijakije, te 9 bolesnika sa dijagnozom celijakije s pridruženim T1DM.

**Rezultati:** Skupina oboljelih od celijakije sastojala se od 29 ženskih (58 %) te 21 muška ispitanika (42 %), a skupina oboljelih od celijakije i T1DM sastojala se od 7 ženskih i 2 muška ispitanika. Najveći broj ispitanika prilikom postavljanja dijagnoze celijakije je bio u dobi od 0 - 5 godina (58 %), a prilikom postavljanje dijagnoze celijakije sa pridruženim T1DM u dobi od 13 - 23 godine. Najučestaliji aleli pacijenata oboljelih od celijakije su: HLA-DQA1\*05 (50 %) i HLA-DQB1\*02 (46 %). Najučestaliji aleli pacijenata oboljelih od celijakije i T1DM su: HLA-DQA1\*01 i HLA-DQB1\*02. Najučestaliji haplotip oboljelih od celijakije je HLA-DQ2.5 (35 %).

**Zaključak:** HLA-DQA1\*05 i HLA-DQB1\*02 su najučestaliji aleli kod pacijenata oboljelih od celijakije. HLA-DQA1\*01 i HLA-DQB1\*02 su najučestaliji aleli kod pacijenata oboljelih od celijakije i T1DM. Kod oboljelih od celijakije je najučestaliji haplotip HLA-DQ2.5 (DQA1\*05-DQB1\*02), a genotip DQ2.5/DQX. Kod oboljelih od celijakije i T1DM najučestaliji haplotip je DQA1\*01-DQB1\*06, a genotip DQX/DQX.

**Ključne riječi:** celijakija; HLA; T1DM

## 8. SUMMARY

### **HLA-DQ haplotypes in celiac disease patients and celiac disease patients with associated type 1 diabetes**

**Aim of the research:** To determine the frequency of HLA-DQ haplotypes with regard to gender and age in the group of patients with celiac disease and the group of patients with celiac disease associated with T1DM. Examine the differences in the frequency of HLA-DQ haplotypes with respect to gender and age at the time of disease diagnosis.

**Study design:** Cross-sectional study with historical data.

**Patients and methods:** The groups of participants are patients whose HLA typing was performed from 1.1.2009. to 1.3.2023. at the Laboratory for Molecular and HLA Diagnostics of the University Hospital Osijek. Fifty patients with a diagnosis of celiac disease and 9 patients with a diagnosis of celiac disease associated with T1DM were identified.

**Results:** The group of patients with celiac disease consisted of 29 women (58 %) and 21 men (42 %), while the group of patients with celiac disease and T1DM consisted of 7 women and 2 men. The majority of patients diagnosed with celiac disease were between 0 - 5 years old (58 %), while those diagnosed with celiac disease associated with T1DM were between 13 - 23 years old. The most frequent allele variants in patients with celiac disease were HLA-DQA1\*05 (50 %) and HLA-DQB1\*02 (46 %). The most frequent allele variants in patients with celiac disease and T1DM were HLA-DQA1\*01 and HLA-DQB1\*02. The most frequent haplotype in patients with celiac disease was HLA-DQ2.5 (35 %).

**Conclusion:** HLA-DQA1\*05 and HLA-DQB1\*02 are the most frequent allele variants in patients with celiac disease. HLA-DQA1\*01 and HLA-DQB1\*02 are the most frequent allele variants in patients with celiac disease and T1DM. The most frequent haplotype in patients with celiac disease is HLA-DQ2.5, and the most frequent genotype is DQ2.5/DQX. The most frequent haplotype in patients with celiac disease and T1DM is DQA1\*01-DQB1\*06, and the most frequent genotype is DQX/DQX.

**Keywords:** celiac disease; HLA; T1DM

**9. LITERATURA**

1. Gnodi E, Meneveri R, Barisani D. Celiac disease: From genetics to epigenetics. *World J Gastroenterol*. 2022;28(4):449-463.
2. Marčec M, Antoljak N, Benjak T. Celijakija- nedovoljno prepoznat javnozdravstveni problem. *Liječ Vjesn*. 2018;140:261–266.
3. Iversen R, Sollid LM. The Immunobiology and Pathogenesis of Celiac Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2023;18:1,47-70.
4. Cecilio LA, Bonatto MW. The prevalence of HLA DQ2 and DQ8 in patients with celiac disease, in family and in general population. *Arq Bras Cir Dig*. 2015;28:183-5.
5. Sciurti M, Fornaroli F, Gaiani F, Bonaguri C, Leandro G, Di Mario F, i sur. Genetic susceptibility and celiac disease: what role do HLA haplotypes play? *Acta Biomed*. 2018;89(9-S):17-21.
6. Dolinšek J, Klemenak M, Karla M, Sblattero D, Milinović M, Not T, i sur. Brošura za zdravstvene djelatnike. Fokus na celijakiju. Dostupno na adresi: <https://www.kbc-zagreb.hr/wp-content/uploads/2017/11/Focus-on-CD-A5-CRO-8.pdf> . Datum pristupa: 17.3.2023.
7. Houmich TB, Admou B. Celiac disease: Understandings in diagnostic, nutritional, and medicinal aspects. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2021;35:20587384211008709.
8. Starčević NČ, Mijandrušić BS, Licul V, Kapović M, Ristić S. Geni i celijakija. *Paediatrica Croatica*. 2015;59(2): 88-94.
9. Žunec R, Grubić Z, Balen S. Važnost imunogenetike u transplantaciji organa. *Medix*. 2011; 92: 208-213.
10. Martínez-Ojinaga E, Fernández-Prieto M, Molina M, Polanco I, Urcelay E, Núñez C. Influence of HLA on clinical and analytical features of pediatric celiac disease. *BMC Gastroenterol*. 2019;19(1):91.
11. HLA nomenklatura. Dostupno na adresi: <https://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html> . Datum pristupa: 20.4.2023.
12. Žuvela L. Važnost sustava HLA u reumatologiji (Završni rad). Split: Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija; 2017. Datum pristupa: 4.5.2023.

13. Sinčić BM, Čizmarević NS, Licul V, Martinović MC, Ristić S, Kapović M. HLA-DQA1 i HLADQB1 geni u pacijenata s celijakijom. *Medicina Fluminensis* 2016; 52 (1): 87-94.
14. Mišak Z, Hojsak I, Despot R, Jadrešin O, Kolaček S, Konjik V, i sur. Celijakija – nove smjernice, što je zaista novo? – dijagnostički postupnik Hrvatskog društva za pedijatrijsku gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu Hrvatskog liječničkog zbora. *Liječnički vjesnik*. 2022;144: 43-49.
15. Regnell SE, Lernmark A. Early prediction of autoimmune (type 1) diabetes. *Diabetologia*. 2017;60(8):1370-1381.
16. Goodwin G. Type 1 Diabetes Mellitus and Celiac Disease: Distinct Autoimmune Disorders That Share Common Pathogenic Mechanisms. *Horm Res Paediatr* 2019;92:285-292.
17. Flores Monar GV, Islam H, Puttagunta SM, Islam R, Kundu S, Jha SB, i sur. Association Between Type 1 Diabetes Mellitus and Celiac Disease: Autoimmune Disorders With a Shared Genetic Background. *Cureus*. 2022;14(3):e22912.
18. Severinski S. Bolesti pridružene Tip 1 dijabetes melitusu. *Paediatrica Croatica*. 2019; 63 : 36-41.
19. PHOENIX Farmacija d.o.o. Zašto je celijakija češća kod osoba oboljelih od dijabetesa? Dostupno na adresi: <https://www.adiva.hr/zdravlje/dijabetes/zasto-je-celijakija-cesca-kod-osoba-oboljelih-od-dijabetesa/> . Datum pristupa: 21.3.2023.
20. Lukić IK, Sambunjak D. Vrste istraživanja. U: Marušić M, urednik. Uvod u znanstveni rad u medicini. 5. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2013. str. 41
21. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, i sur. 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: 469-477.
22. Jeannin PM, Babron MC, Louka AS, Clot F, Coto I. HLA-DQ relative risks for celiac disease in european populations: a study of the European genetics cluster on celiac disease. *Tissue Antigens*. 2004;63:562-7.
23. Siddiqui K, Uqaili AA, Rafiq M, Bhutto MA. Human leukocyte antigen (HLA)-DQ2 and -DQ8 haplotypes in celiac, celiac with type 1 diabetic, and celiac suspected pediatric cases. *Medicine*. 2021;100(11):e24954.



24. Aboulaghras S, Piancatelli D, Taghzouti K, Balahbib A, Alshahrani MM, Awadh A, i sur. Meta-Analysis and Systematic Review of HLA DQ2/DQ8 in Adults with Celiac Disease. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1188.
25. Romanos J, Diemen CC, Nolte IM, Trynka G, Zhernakova A, Fu J, i sur. Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease, *Gastroenterology.* 2009;137:834–40.

## **10. ŽIVOTOPIS**

### **OSOBNI PODATCI**

Ime i Prezime: Petra Đurković

Datum i mjesto rođenja: 7. 1. 2000., Osijek

Adresa stanovanja: Vijenac Dinare 8, Osijek

Kontakt: +385 91 918 7155

E-mail: petradurkovic00@gmail.com

### **OBRAZOVANJE**

2006. – 2014. Osnovna škola Ivana Filipovića u Osijeku

2014. – 2018. II. gimnazija Osijek

2018. – 2021. Medicinski fakultet Osijek, Preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko  
laboratorijska dijagnostika

2021. – 2023. Medicinski fakultet Osijek, Diplomski sveučilišni studij Medicinsko  
laboratorijska dijagnostika