



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

ДРАГАН Ј. ПРОКИЋ

**ПРОЦЕНА ДИЈАГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ
АНТИТЕЛА НА ТКВНУ ТРАНСГЛУТАМИНАЗУ И
ХЛА ДQ2/ДQ8 ТИПИЗИРАЊА КАО АЛТЕРНАТИВЕ
ДУОДЕНАЛНОЈ БИОПСИЈИ КОД ЦЕЛИЈАЧНЕ
БОЛЕСТИ ДЕЦЕ**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2025.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

DRAGAN J. PROKIC

**THE ASSESSTMENT OF THE DIAGNOSTIC VALUE
OF ANTIBODIES TO TISSUE TRANSGLUTAMINASE
AND HLA DQ2/DQ8 TYPING AS ALTERNATIVES TO
DUODENAL BIOPSY IN PEDIATRIC CELIAC
DISEASE**

Doctoral dissertation

Kragujevac, 2025.

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Аутор
Име и презиме: Драган Ј. Прокић
Датум и место рођења: 08.06.1966. године, Београд
Садашње запослење: Институт за здравствену заштиту мајке и детета Републике Србије „Др Вукан Чупић“, Београд
Докторска дисертација
Наслов: Процена дијагностичке вредности антитела на ткивну трансглуманиназу и ХЛА ДQ2/ДQ8 типизирања као алтернативе дуоденалној биопсији код целијачне болести деце
Број страница: 116
Број слика: 5 фотографија, 11 слика, 27 табела, 5 графикана
Број библиографских података: 171
Установа и место где је рад израђен: Институт за здравствену заштиту мајке и детета Републике Србије „Др Вукан Чушић“, Београд
Научна област (УДК): Медицинске науке
Ментор: проф. др Биљана Вулетић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Педијатрија
Број и датум одлуке Већа универзитета о прихватању теме докторске дисертације: IV-03-181/15 од 18.03.2024. године

DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

Author
Name and surname: Dragan J Prokic
Date and place of birth: 08.06.1966. Belgrade
Current employment: Institute for Mother and Child Healthcare of the Republic of Serbia "Dr. Vukan Čupić," Belgrade
Doctoral Dissertation
Title: The assessment of the diagnostic value of antibodies to tissue transglutaminase and HLA DQ2/DQ8 typing as alternatives to duodenal biopsy in pediatric celiac disease.
No. of pages: 116
No. of images: 5 photos, 11 pictures, 27 tables, 5 charts
No. of bibliographic data: 171
Institution and place of work: Institute for Mother and Child Healthcare of the Republic of Serbia "Dr. Vukan Čupić," Belgrade
Scientific area (UDK): Medical Sciences
Mentor: Prof. Dr. Biljana Vuletić, Full Professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, in the narrower scientific field of Pediatrics.
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic: IV-03-181/15 from 18.03.2024.

ЗАХВАЛНИЦА

Неизмерну захвалност дугујем свом ментору проф. др Биљани Вулетић, која ме је бодрила од идеје до реализације докторског рада, дајући ми како стручну тако и велику пријатељску помоћ и подршку.

Такође, захвалност дугујем и запосленима, посебно господину Милошу Ерићу и Служби за последипломску наставу Факултета медицинских наука у Крагујевцу, који су ми пружили несебичну логистику у корацима за техничку реализацију овог рада.

Захвалност дугујем колегама и особљу Гастроентеролошке службе и Службе за патологију, моје установе - ИМД, на на помоћи у проналажењу података за највећи број пацијената.

Огромну захвалност за разумевање, љубав и подршку дугујем својој породици, супрузи Биљани, ћерки Драгани, сину Алекси и мојој мами Олгици, који су ми били инспирација и подстицај да започнем и завршим овај рад.

„Дозволи ми да ти кажем нешто што већ знаш. Свет није сав од сунца и дуге. То је врло сурово и опако место, и није ме брига колико си јак – ако му дозволиш, обориће те на колена и држати те тамо заувек. Ни ти, ни ја, ни било ко други неће задати тако јак ударац као што то живот може. Али није ствар у томе колико јак можеш да удариш, већ колико јак ударац можеш да поднесеш и наставиш даље. Колико тога можеш да издржиш и наставиш да идеш напред. Тако се побеђује!

А ако знаш колико вредиш, иди и узми оно што ти припада! Али мораш бити спреман да примиш ударце и да не упиреш прстом говорећи да ниси тамо где желиш да будеш због њега, ње или било кога другог! Кукавице то раде, а то ниси ти!“

*Мотивациони говор Рокија Балбое (Sylvester Stallone) сину, из филма серијала „Rocky“ 6. део.

Сажетак

Увод:

Целијачна болест (ЦБ), је аутоимуна болест изазвана глутеном. У педијатријској гастроентерологији, дијагноза ЦБ може се поставити, само серолошки, без биопсије слузокоже танког црева, ако је задовољен критеријум да су антитела на ткивну трансглутаминазу 10 пута већа у односу на горњу вредност нормалних вредности уз потврдан тест потврдан тест са антиендомизијумским антителима. HLA-DQ2/DQ8 типизација се ради мандаторно у одређеним ситуацијама.

Циљ студије:

Процена применљивост концентрације серумских антитела на ткивну трансглутаминазу (TTG) IgA и IgG и HLA-DQ2/DQ8 типизације као алтернативе дуоденалној биопсији у дијагностиковању ЦБ у деце.

Метод: Студија обухватила је укупно 179 педијатријских пацијената узраста од 1 до 18 година. Код свих пацијената извршено је одређивање TTG IgA и TTG IgG антитела, као и типизација хуманог леукоцитног антигена (HLA) DQ2/DQ8. Хистологија дуоденалних биопсија интерпретирана је према модификованом Марш опису.

Резултати:

Дијагноза ЦД је потврђена код 101 (56%) пацијента у испитиваној популацији. Код случајева ЦД, HLA-DQ2/DQ8 био је позитиван код 100 пацијената (99%). Антитела TTG IgA у концентрацији већој од 100 U/ml откривена су код 77 (76,2%) пацијената са ЦД, док је значајно мањи број имао повишена TTG IgG антитела 29 (28,7%) ($p < 0,001$). Утврђена је статистички високо значајна повезаност дуоденалних лезија Марш степена 3 са концентрацијом TTG IgA 10 пута вишом од горње границе нормале (ULN) ($p < 0,001$).

Закључак:

Концентрација TTG IgA 10 пута већа од ULN значајно је позитивно повезана са хистопатолошким налазима Марш степена 3. Одређивање специфичних антитела у комбинацији са HLA-DQ2/DQ8 типизацијом показује се као довољно за постављање дијагнозе ЦД, подржавајући чињеницу да се дуоденална биопсија може избећи код значајне већине пацијената 77%

Кључне речи: ЦБ – целијачна болест, TTG – траснглутаминска антитела, HLA-хумани леукоцитни антиген, ULN (*upper limit of normal*) –горња граница нормале, U/ml (*unit/ml*) – јединица у милилитру, Марш класификација – степен атрофије слузокоже дуоденума

Abstract

Introduction:

Celiac disease (CD) is an autoimmune disorder triggered by gluten. In pediatric gastroenterology, the diagnosis of CD can be established serologically, without a duodenal mucosal biopsy, if the criterion is met that anti-tissue transglutaminase (TTG) antibodies are elevated to more than 10 times the upper limit of normal (ULN), with a positive confirmatory test for anti-endomysial antibodies. HLA-DQ2/DQ8 typing is mandatory in certain situations.

Aim of the study:

To evaluate the applicability of serum anti-tissue transglutaminase (TTG) IgA and IgG concentrations and HLA-DQ2/DQ8 typing as an alternative to duodenal biopsy in diagnosing CD in children.

Methods:

The study included a total of 179 pediatric patients aged 1 to 18 years. All patients underwent measurement of TTG IgA and tTG IgG antibodies, as well as human leukocyte antigen (HLA) DQ2/DQ8 typing. Duodenal biopsy histology was interpreted according to the modified Marsh classification.

Results:

The diagnosis of CD was confirmed in 101 (56%) patients in the study population. Among CD cases, HLA-DQ2/DQ8 was positive in 100 patients (99%). TTG IgA antibodies at concentrations >100 U/ml were detected in 77 (76.2%) CD patients, while a significantly smaller number had elevated TTG IgG antibodies—29 (28.7%) ($p < 0.001$). A statistically highly significant association was found between Marsh grade 3 duodenal lesions and TTG IgA concentrations 10 times higher than the ULN ($p < 0.001$).

Conclusion:

A TTG IgA concentration 10 times above the ULN is significantly positively associated with Marsh grade 3 histopathological findings. The determination of specific antibodies in combination with HLA-DQ2/DQ8 typing appears sufficient for diagnosing CD, supporting the notion that duodenal biopsy may be avoided in the majority of patients—77%.

Keywords: CD – celiac disease, tTG – tissue transglutaminase antibodies, HLA – human leukocyte antigen, ULN – upper limit of normal, U/ml – units per milliliter, Marsh classification – degree of duodenal mucosal atrophy

Table of Contents

1. УВОД	1
1.1. Целијачна болест (ЦБ) дефиниција	2
1.2. Историја целијачне болести	2
1.3. Епидемиологија целијачне болести.....	9
1.4. Географска дистрибуција целијачне болести	12
1.5. Целијачна болест пол и узраст	14
1.6. Патофизиологија целијачне болести	15
1.7. HLA систем и целијачна болест.....	19
1.8. Целијачна болест - серологија	21
1.9. Целијачна болест - хистопатологија.....	23
1.10. Типови целијачне болести.....	25
1.11. Терапија целијачне болести	32
2. ЦИЉЕВИ РАДА	38
3. МЕТОДОЛОГИЈА ИСПИТИВАЊА	40
3.1. Врста студије	41
3.2. Популација која се истражује	41
3.3. Критеријуми за укључивање у студију	41
3.4. Узорковање	42
3.5. Варијабле мерене у студији.....	42
3.6. Снага студије и величина узорка	42
3.7. Статистичка анализа	42
4. РЕЗУЛТАТИ РАДА	44
4.1. Укупан број пацијената у студији	45
4.2. Узраст пацијената и ЦБ	45
4.3. Пол пацијената и ЦБ	46
4.4. Дефицит укупног IgA антитела и ЦБ	47
4.5. Кохортна група пацијената	48
4.6. Узраст пацијената (кохортна група) и ЦБ	49
4.7. Пол пацијената (кохортна група) и ЦБ	50
4.8. Узраст испод 2 године живота и дијагноза ЦБ	50
4.9. Аутоимуне болести и ЦБ	51
4.10. HLA-DQ2/DQ8 и ЦБ	53
4.11. Трансглутаминска антитела IgA и IgG <i>cut-off</i> вредности	54
4.12. Лабораторијске вредности анти-TTG антитела IgA и IgG	55
4.13. Хистопатолошки налаз и ЦБ	63

5. ДИСКУСИЈА	67
5.1. Пол и ЦБ.....	68
5.2. Узраст и ЦБ	69
5.3. HLA типизација и ЦБ	70
5.4. Сензитивност и специфичност теста	74
5.5. Ниво антитела и унос глутена	76
5.6. Тачност серолошке дијагностике	77
5.7. Аутоимуност и ЦБ	81
5.8. Хистопатолошки налаз и ЦБ	84
5.9. Диференцијална дијагноза ЦБ -хистопатолошки налаз	91
5.10. Болести повезане са глутеном – разлике у односу на ЦБ	94
6. ЗАКЉУЧАК	97
7. ЛИТЕРАТУРА	103

1.УВОД

1.1. ЦЕЛИЈАЧНА БОЛЕСТ ДЕФИНИЦИЈА

Целијачна болест (глутенска ентеропатија) је хронични поремећај, који представља немогућност подношења глијадина, дела глутена, од које болује око 1% светске популације. Тачан узрок болести није јасан. Аутоимунски и генетски фактори имају значајну улогу у патогенези болести. Позитивни серолошки тестови и суптотална вилусна атрофија слузокоже танког црева представљају златни стандард у дијагнози целијачне болести. Доживотна исхрана без глутена је основа лечења (1).

Синоними за целијачну болест у литератури:

- *Non-tropical sprue*
- *Celiac disease*
- *Nontropical sprue*
- *Gluten-sensitive enteropathy*
- *Coeliac disease*

(2)

Надаље у целом тексту целијачна болест ће се скраћено обележавати са – ЦБ.

1.2. ИСТОРИЈА ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ

Према археолошким подацима, ЦБ је вероватно настала у праисторији “Неолитске револуције”, пре око 10.000 година, када су праисторијски људи направили транзицију од ловца-сакупљача и почели да се баве пољопривредом и узгајањем биљака, као сигурнијим извором хране. Археолошка налазишта у Гобеки Тепе, области у југоисточној Турској препозната су као једна од најважнијих налазишта која дају увид у развој цивилизације, али уједно откривају и болести које су биле у то време, као што је и ЦБ (3).



Фотографија I: Угравирани портрет Аратеуса из 1574.
– Национална библиотека Француске [4]

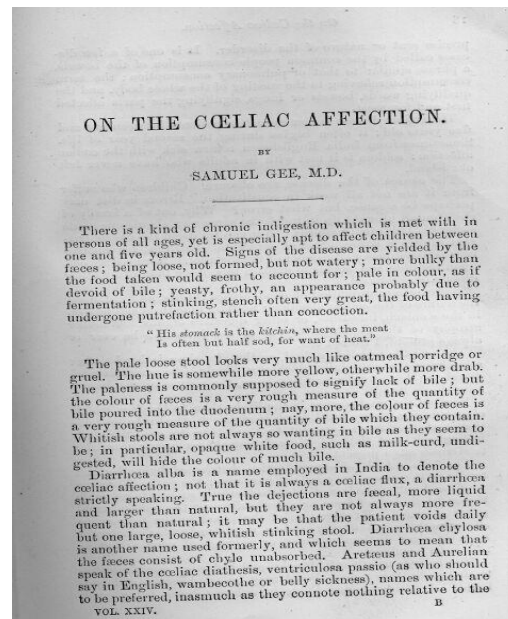
Аратеус из Кападокије (Aretaeus of Cappadocia (85?-138 AD))

Први опис стања који подсећа на ЦБ дао је Аратеус два века пре нове ере (4). Аратеус је живео у Кападокији, области у данашњој Турској, која је тада била у саставу Старе Грчке. После Хипократа, представља једну од најважнијих историјских личности у области медицине у Старој Грчкој. Оно што га је чинило веома истакнутим била је његова способност да прецизно опише разне болести као што су: астма, елефантијаза, шум на

срцу, тетанус, дијабетес, пнеумонија, шизофренија и нека друга стања. Дакле, много пре Семјуела Гија у 19. веку, Аратеус је дао доста прецизан опис ЦБ: као хроничног поремећаја “*pepsis*” и “*anadosis*”, термина који могу да се преведу као дигестија и апсорпција. Према Аратеусу, пацијенти са симптомима који подсећају на ЦБ имају сталну елиминацију несварене хране путем фецеса, делимично и у сировом стању. Током времена, пацијент постаје слаб и исцрпљен. Такође, запазио је да је ово стање чешће у деце и младих особа, али и у одраслих, посебно жена. Аратеус је правио јасну разлику између стања хроничне целијакије и стања перзистентне дијареје, током транзитивног неподношења одређене хране (4). Као једну од карактеристика овог поремећаја у деце, навео је и надимање. Зато и термин “*celiac*” долази од грчке речи “*kouliakos*” што у преводу значи стомак Или абдомен (5). У својим списима Аратеус објашњава и предлаже терапију за ово обољење. По њему, циљ терапије је да се поспеши “*pepsis*” (дигестија) и “природна топлота” неопходна за дигестију и апсорпцију хране. Лечење се састојало у одмору и гладовању, који су спречавали дијареју и гасове, а такође је саветовао и узимање напитака пре сваког чврстог оброка (1, 5). Франсис Адам је превео записе Аратеуса и објавио их у “*Sydenham Society*” 1856. године и усвојио је термин “*celiac*” за опис ове болести (6,7).

Samuel Gee – отац модерне целијакије (1839-1911)

Фотографија 2. Samuel Gee, Преузето са:
<https://cysticfibrosis.online/coeliacs-disease>



Фотографија 3. Оригинални опис
 симптома целијачне болести Др Гија у
 раду: Gee, Samuel. *On the coeliac affection* In :
Saint Bartholomew's hospital reports, 1888,
 Vol. 24 pp. 17-20

Име Семјуела Гија се везује за први модеран опис ЦБ. Семјуел Ги је био доктор у *Children's Hospital on Great Ormond Street* у Лондону. Запазио је да се ЦБ може јавити у свим узрастима, али је најчешћа у деце између прве и пете године живота. Ги је први дао коментар да је дијета вероватно и основа у лечењу ЦБ: "Ако пацијент може бити излечен, онда то подразумева дијету (*"If the patient can be cured at all, it must be by means of diet"*) (1, 3, 6, 8).

Опис целијакије Др Гија:

Ги даље наводи: "Целијакија се карактерише хроничним slabим варењем (*indigestion*), које се јавља у свим узрастима, а најчешће у деце између прве и пете године живота. Болест се карактерише присуством неформираних столица, кашастих не течних, већег волумена него волумен хране која је је поједена. Столице су бледе, као да им недостаје жуч, непријатног су мириса, као да храна у дигестивном тракту пролази кроз процес путрификације, пре него варења (дигестије). Ги је радио аутопсије на неким од преминулих пацијената, али није нашао никаква макроскопска оштећења на цревима или другим дигестивним органима. Такође, није био сигуран да ли атрофија која се јавља у цревним glandуларним криптама, има значаја у патогенези ове болести (6, 7).

Године 1908. Амерички доктор *Christian Archibald Herter*, објавио је књигу о деци са ЦБ: "Цревни инфантилизам услед хроничне интестиналне инфекције". У књизи је истакао да његови пацијенти не напредују у расту и развоју (*"failure to thrive"*), због цревног инфантилизма, чији је узрок инфекција повезана са абнормалном интестиналном флором (5).

Због значајног доприноса у истраживању оба доктора Гија и Хертела, ЦБ је била позната у првој половини XX века под називом као *Gee-Hertelov* синдром (5, 7).

Током двадесетих година прошлог века, лечење ЦБ је покушано са многим дијетама, али без јасног препознавања која токсична компонента узрокује проблем (8).

Године 1909. *Johann Oto Leonhard Heubner* (1843-1926), управник *King's College Hospital* у Берлину, описао је случајеве "озбиљне дигестивне инсуфицијенције" узроковане ферментацијом скроба, због урођене грешке у дигестији у целом дигестивном тракту.

Такође, 1918. године *George Frederick Stll* (1868-1941), професор педијатрије у *Кинг'с Цоллеге Хоспитал* у Лондону, запазио је да хлеб посебно погоршава симптоме у оболелих од ЦБ, али није био свестан значаја своје опсервације (1).

Амерички педијатар *Sydney Haas* (1870-1964) је 1924. године први пут предложио дијету за оболеле од ЦБ. Ова дијета је позната и као банана дијета и била је популарна током двадесетих година прошлог века (3, 5). Др Хас је објавио своје истраживање, банана дијете у осам пацијента. Аутор наводи податак да је дијета успешна, али не зна шта је тачно разлог тог успеха, али је уверен да је то вероватно шећер или неки хормон. На примеру Порторика, Хас је први пут приметио већу инциденцију спруа (целијакије) у становника који су живели у граду и јели су више хлеба, у односу на фармере чија је исхрана садржавала велики удео банана (7, 8). Наравно да је банана дијета подразумевала искључивање хлеба, цереалија и шећера у исхрани (9).

Године 1928. *Guido Fanconi* (1892-1979), сматрао је да постоји, дубљи метаболички проблем у деце са ЦБ, јер та деца у склопу клиничке слике имају: хипокалцемију, хипофосфатемију, дефицит витамина Ц и метаболичку ацидозу. Предложио је дијету базирану на воћу и воћним соковима, јер она даје најбоље резултате у лечењу пацијената са симптомима ЦБ, односно спруа. Фанкони је са колегом Кнауером 1936. године објавио чувени чланак у коме открива нову болест муковисцидозу (цистичну фиброзу) и разликује је од ЦБ. Две године касније *Dorothy Andersen* (1901-1963), установила је хистопатолошке разлике између цистичне фиброзе и ЦБ (5).

До појаве Др Дикија, запажања Др Сиднија Хаса су била најзначајнија студија у протеклих неколико деценија.



Фотографија 4. Др Dicke у врени док је био управник Дечије болнице у Утрехту - Холандија

Холанђанин Wilhem Karel Dicke (1905-1962) пионир безглутенске исхране: Доктор Дики је радио као педијатар у Дечијој болници у Утрехту - Холандија. Године 1936. почео је са експерименталном дијетом без пшенице, инспирисан ранијим радом Др *Stheermana* о дечаку који је добијао дијареју сваки пут када поједе хлеб Или кекс. Сер Кристофер Бут, гастроентеролог у писму Британском медицинском часопису 1989. године наводи: "Био је прилично јасан у разговору са мном да га је прво заинтересовала изјава младе мајке да се осип код њеног детета са целијакијом побољшао када је из исхране избацила хлеб. То се десило док је био педијатар у Хагу 1936. године" (10).

Своје прве резултате Дики је публикувао 1941. у холандском часопису: *Het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde in 1941 (W K Dicke: A simple diet for Gee-Herter's Syndrome)*, са коментаром да хлеб или кекс појачавају симптоме ЦБ. Такође, Дики наводи следеће: "У недавној литератури наводи се да дијета Хаса (банана дијета) и Фанконија (воће и поврће) даје најбоље резултате у лечењу пацијената са целијакијом. Током Другог светског рата ови производи нису били доступни, зато предлажем једноставну дијету која помаже овој деци, а није смела да садржи хлеб ни двопек. Топао оброк два пута дневно такође се добро подноси. Трећи оброк може бити слатка или кисела каша (без пшеничног брашна)." Када је након завршетка Другог светског рата хлеб поново постао лако доступан, Дики је постао уверен да унос житарица погоршава симптоме ЦБ у деце. Веровао је да смањење уноса житарица и повећање конзумације прехранбених производа као што су луковице лала, побољшава стање пацијената са ЦБ (3, 7, 10). Након тога, Дики и његове колеге из Холандије пружили су клиничке и лабораторијске доказе о терапији без глутена, заснованој на опсервацији током Другог светског рата, као и мерења степена апсорпције у танком цреву, који су укључивали коефицијенте апсорпције масти у столици (3). Уз помоћ свог колеге биохемичара *Van de Kamera* развио је технику одређивања масти у столици. Дики је одлучио да узме за мерило дигестије масти коефицијент апсорпције масти у 24h узорку столице, где је коефицијент апсорпције масти/24h: укупна маст у исхрани изражена у грамима од које се одузме количина масти у грамима у столици и резултат се помножи са 100. Нормална вредност апсорпције масти у здравих особа је већа од 95%. Круцијални експеримент је био, када су деца оптерећивана цереалијама према терапијском протоколу где им је мерен укупни фекални износ масти у столици, укупни волумен столице, као и коефицијент апсорпције масти. Дики је закључио да пшенично брашно, житни скроб, као и раж, повећавају проценат масти у столици, као и погоршање симптома анорексије у ЦБ. Заједно са колегом Ван де Камером, детектовао је у алкохолу солубилну компонента глијадин, која је компонента у води несолубилног протеина глутена, односно његова половина (10). На тај начин Дики је био у могућности да покаже, да уклањање пшенице у исхрани, узрокује редукцију процента масти у столици, а поновно увођење у исхрану узрокује стеатореју. Подаци су презентовани 1950. године на Интернационалном конгресу педијатара "*The Presence in Wheat of a Factor Having a Deleterious Effect in Cases of Coeliac Disease*", а тада је уведен нови термин назив "фактор пшенице" (11). Докторска теза Др Дикија из 1950. године утврдила је да искључење пшенице, ражи и овса из исхране, доводи до драматичног побољшања стања пацијената са ЦБ. Токсична компонента протеина, названа је глутен. Дики и Ван де Камер, показали су да мерење масти у столици одражава тренутно клиничко стање пацијената. Ране студије које су се проводиле у педијатријских пацијената, такође су утврдиле да мерење количине масти у столици, може се успешно користити за дијагнозу ЦБ и у одраслих (8). Након успостављања технике биопсије црева за дијагнозу ЦБ, постало је очигледно да би безглутенска исхрана требало да се проводи дужи период пре него што се постигне адекватан одговор, као што је Дики и предвиђао (10).

Увођење интестиналне биопсије било је кључно за потврду дијагнозе ЦБ, истичући карактеристичне промене слузокоже при изложености глутену. Ово откриће је дефинисао *Paulley* 1954. године, путем узорака црева добијених лапаротомијом у одраслих особа са идиопатском стеаторејом. Тешкоће у добијању узорака који би пружили податке, сугерисале су потребу за једноставнијом методом добијања интестиналних биопсија у ових пацијената (3, 5, 12).

Wood и сарадници су у Мелбурну осмислили једноставну биопсијску цев која је била флексибилна и могла се користити за интестиналне биопсије. *Marcelo Royer* и сарадници

у Буенос Ајресу 1955. године, као и *Margot Shiner* у Лондону 1956. године, одвојено су развили технике пероралне дуоденалне биопсије под контролом рентгена, засноване на уређају дизајнираном од стране *Wooda* (5). Када сонда дође до првог дела дванаестопалачног црева, балон од гуме причвршћен на дистални крај главе био је надуван и тако је омогућено глави сонде да путује кроз трећи и четврти део дванаестопалачног црева и тако достигне јејунум (8). Биопсијски тубус *Margot Shiner* био је прилично незграпан. Потребу за флексибилнијим инструментом за добијање биопсија јејунума препознао је потпуковник Америчке војске *W.H.Crosby* Разматрани су различити окидачи за покретање акције ножа на опрузи. Тајмере, соленоиде и магнете одбацили су у корист механизма на бази вакума. Године 1957. године, *Crosby* и *Heinz W. Kugler* објавили су детаље онога што је постало познато као Крозбијева капсула. Биопсијска глава успешно је пласирана у дванаестопалачно црево у 12 од 19 покушаја (7, 8).

Кортизол

Makajver, 1952. године, први је указао, да дијета без глутена, позната као ефикасна у лечењу целијакије у деце, такође помаже одраслима са синдромом малапсорпције. У наредним годинама, више објављених студија широм света потврђују ово запажање. Такође, кортизол и сродне супстанце су се показале корисним у лечењу пацијената са синдромом малапсорпције, али је избегавана његова рутинска употреба, да си се правилно проценила успешност дијете без глутена. Кортизол је даван пацијентима који су имали слабији одговор на безглутенску исхрану, а након његове примене у ових пацијената апетит се побољшао, осећали су се боље, столице су постале формираније (12).

HLA

Појава ЦБ у једнојајчаних близанаца сугерисала је на улогу и генетске компоненте.

Веза са дерматитисом херпетиформис показана је од стране *Sammana* 1955. године, а ово је потврђено од стране *Shustera* и *Маркса* 1965. и 1968. године (8).

Интерлакен критеријуми

Друштво за целијакију (данас Целијакија УК) основано 1968. године у Великој Британији, а слична друштва се оснивају и широм света (8). Године 1969. Европско друштво за педијатријску гастроентерологију (претеча данашњег Европског друштва за педијатријску гастроентерологију, хепатологију и нутрицију – *ESPGHAN*) установило је прве критеријуме за постављање дијагнозе ЦБ. Критеријуми су добили име Интерлакен – критеријуми, по швајцарском граду у коме је одржан састанак. Критеријуми су наредних 10 година прихваћени као дијагностички стандард за дијагнозу ЦБ (13, 14). Године 1977. Европско друштво за дечју гастроентерологију ревидирало је ове критеријуме. Једна од промена се огледала у томе да поред критеријума у хистопатолошком налазу са потпуно спљоштеним вилусима (тотална вилусна атрофија), при иницијалној биопсији, прихваћена је и делимична (парцијална), јер је примећено да су неки пацијенти имали делимично оштећене, али не и потпуно спљоштене вилусе (парцијална вилусна атрофија). Указано је на потребу за трећом биопсијом, након оптерећења глутеном у периоду од 3 до 6 месеци. Ови критеријуми су били у употреби до 1990. године. У ревидираним *ESPGHAN* критеријумима, објављеним 1990. године, уклоњена је потреба за оптерећењем глутеном код деце старије од 2 године, а серолошки

тестови су додати у дијагностичком поступку. За потврду дијагнозе била је потребна једна биопсија дуоденума, те ако је она уредна, уз клиничко и серолошко побољшање након увођења дијете без глутена, даље биопсије нису биле потребне (15).

Критеријуми за дијагнозу успостављени у Интерлакену 1969. су пропустили важно откриће антиглијадинских антитела, које су немачки истраживачи на челу са др *Bergerom* открили 1964. године. Они су открили да особе са ЦБ имају повишена антиглијадинска антитела (AGA) која нападају овај протеин (16).

Године 1971. у часопису *Lancet* објављен је рад под називом *Seah, P. P. i sar. "Anti-reticulin antibodies in childhood coeliac disease"*. Истраживање је обухватило 19 пацијената са ЦБ у детињству и 28 контролних особа ради утврђивања присуства AGA. Антитело је пронађено у 14 од 19 пацијената са ЦБ. Од ових 19, 10 је било на нормалној исхрани и имали су позитивна AGA, док је у 9 пацијената на безглутенској исхрани, антитело пронађено у њих 5. Такође, антитело је пронађено код 1 од 28 контролних особа. Анти-ретикулинско антитело се чинило специфичнијим за ЦБ од AGA, те се сматрало да је од помоћи у дијагнози ове болести (17).

Наредно велико откриће уследило је 1984. када су откривена антиендомизијумска антитела. Антитела IgA анти-ендомизијална (IgA-ЕМА) усмерена су против интермиофибрилне супстанце глатких мишића, која може одговарати или структури сличној ретикулину, површинском саставу миофибрила глатких мишића. Ова антитела су се појавила у око 80% случајева са дерматитисом херпетиформис (DH), као и око 70% пацијената са ЦБ и у око 20% пацијената са другим ентеропатијама. Анти-глијадинска антитела класе IgG (AGA IgG), такође су била присутна у свакој од ових болести. Обе врсте антитела детектоване су на езофагусу мајмуна помоћу имунофлуоресценције. IgA ЕМА није могла да се детектује у серуму пацијената са другим обољењима, као што су на пример: улцерозни колитис (UC) или линеарни булозни дерматитис. Титар антитела IgA ЕМА је био у складу са тежином промена у јејунуму у пацијената који су боловали од ЦБ (14,18).

Италијански истраживачи су показали да користећи строге клиничке и лабораторијске критеријуме, ЦБ се може дијагностиковати у 95% случајева само једном биопсијом. Као резултат тога, дошло је до промена у дијагностичким смерницама 1985. године.

Године 1997, немачки гастроентеролог *Detlef Schuppan* повезао је транслутаминазу ткива (TTG) са имунолошким одговором који покреће ЦБ. Открио је да се у особа са ЦБ, ензим ткивна транслутаминаза ослобађа из танког црева када глутен прође цревну баријеру. На основу тога, развио је серолошки тест (14, 19).

Веза са другим болестима

Од 1980. године, постало је очигледно да постоји веза између ЦБ и других стања. Утврђене су везе са другим аутоимунским стањима, попут *Diabetes Mellitus* тип 1 (DM-тип1). Такође, утврђена је веза између ЦБ и DH.

Године 1989. открића имунолога *Ludviga Sollida* и његовог тима сузила су генетске факторе ризика повезане са ЦБ. Истраживачи из Осла били су први који су идентификовали две верзије хистокомпатибилног леукоцитног антигена (HLA), као главне генетске факторе ризика за болест. Целијакија је сада широко прихваћена као аутоимуно стање повезано са структуром гена HLA (DQ2 и/или DQ8) (20).

Зонулин и Пропусна Црева (“gut licky sy”)

Године 2010. Др *Alessio Fasano* открио је зонулин док је покушавао да развије вакцину против колере. Зонулин је протеин који регулише пропустљивост црева. Фасано и његов тим открили су повећане нивое зонулина код пацијената са ЦБ. "Зонулин функционише као диригент, односно чувар капије ткива нашег тела", објашњава Фасано. "Наша највећа капија је црево са својим милијардама ћелија. Зонулин отвара просторе између ћелија такозване тесне везе (“tight junctions”), омогућавајући пролазак неких супстанци, док истовремено спречава улазак штетних бактерија и токсина (21).

1.3. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ

Општи појмови: преваленција и инциденција

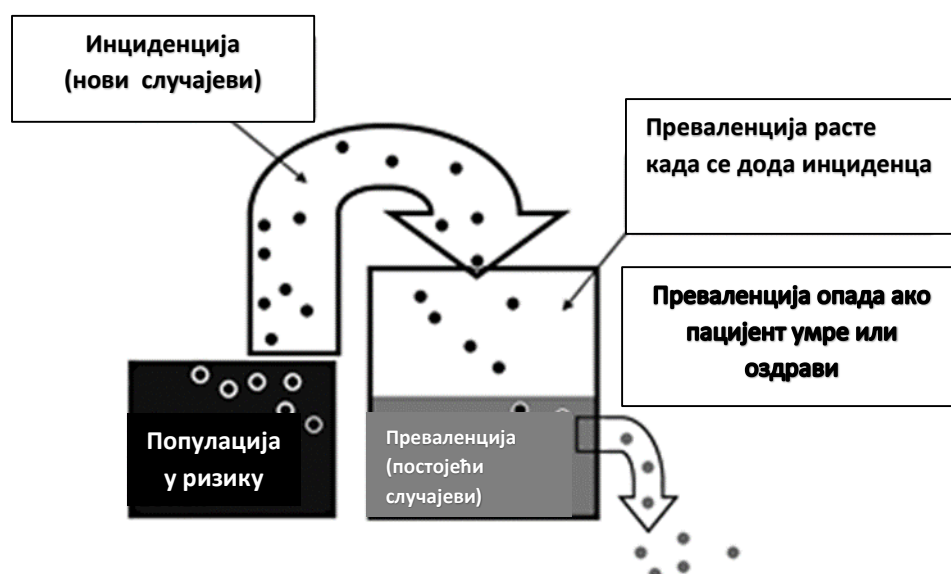
Преваленција дефиниција:

Преваленција се односи на укупан број особа у одређеној популацији које имају одређену болест у одређеном тренутку или током одређеног периода. Обично се изражава као проценат. Преваленција може да буде “тренутна” или “периодична”. Тренутна преваленција је проценат људи са одређеном болешћу у одређеном тренутку. Периодична преваленција је проценат људи са одређеном болешћу током одређеног временског периода. Преваленција може да се мења када људи са одређеном болешћу или одређеним стањем, оздраве или умру. Већа преваленција не значи нужно већи проблем. То може значити продужено преживљавање или повећање нових случајева, или обоје. Мања преваленција може значити да више људи умире уместо да се излечи, или бржи опоравак и/или мали број нових случајева.

Инциденција дефиниција:

Инциденција је стопа нових случајева болести у одређеној популацији током одређеног временског периода (као што је месец или година). Постоје две врсте инциденције: “пропорција инциденција” и “стопа инциденција”. Пропорција инциденција, ризик или кумулативна инциденција, односи се на број нових случајева у одређеној популацији током одређеног временског периода. Стопа инциденције укључује време директно и може се израчунати на следећи начин: број нових случајева током одређеног временског периода, подељен са годинама живота под ризиком током истог временског периода. Године живота под ризиком, значе укупно време (у годинама) током којег свака особа у студијској популацији има ризик од болести током интереса.

Преваленција се разликује од инциденција, јер укључује све случајеве (нове и постојеће) у популацији у одређеном тренутку, док је инциденција ограничена само на нове случајеве (слика 1.) (22,23).

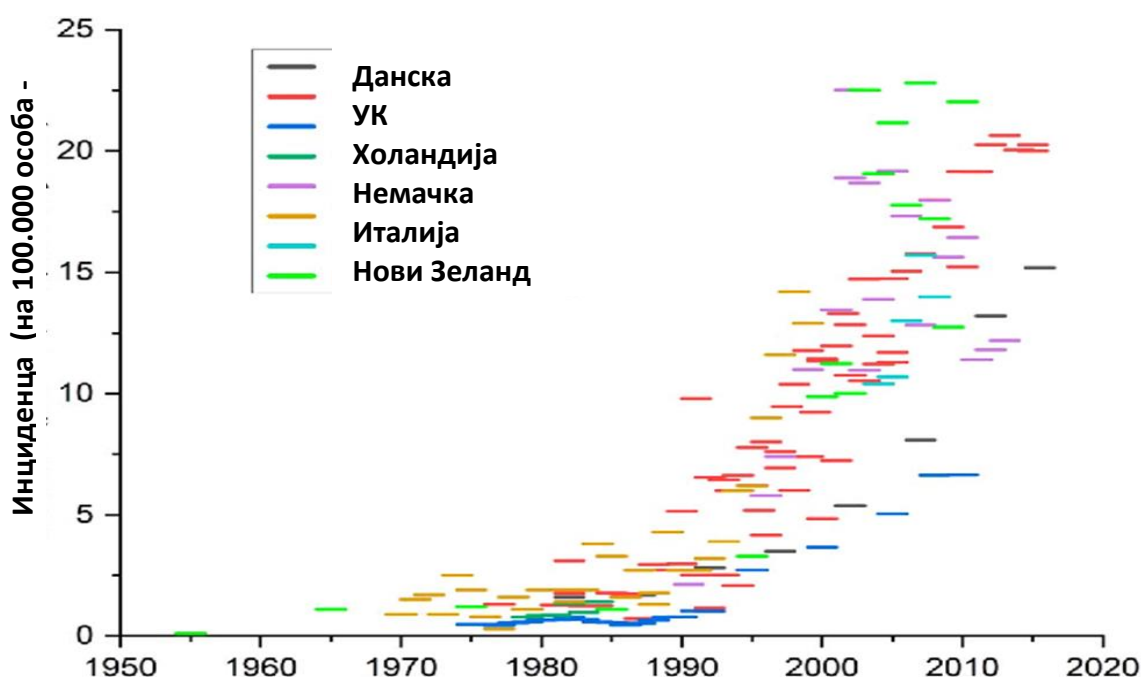


Слика 1. Однос инциденције и преваленције - схематски приказ

(22, 23).

ЦБ - инциденција и преваленција

Глобална инциденција ЦБ у 21. веку, за педијатријске пацијенте износи 21,3 на 100.000 становника, а у одраслих особа је скоро дупло мања и износи 12,9 (24). Током последњих 50 година, инциденција ЦБ је у сталном порасту, а то се може приписати делимично повећаној свести и информисаности како лекара, тако и пацијената о самој болести, али и појаву нових техника дијагностике. У протеклим деценијама, инциденција ЦБ у педијатријској популацији изразито се повећала у многим развијеним земљама (слика 2.). Као илустративни пример, инциденција ЦБ у деце у Канади се троструко повећала након увођења серолошких тестова на анти-ендомизијална антитела (ЕМА) (24, 25, 26). Такође, у округу Омлстед у САД, инциденција се повећала у просеку за 8,1% у периоду од 1950. до 2010. Године (27). У Шведској је забележен брз пораст педијатријске инциденције у периоду од 1998. до 2003. од око 22% да би се стабилизовала у периоду од 2003. до 2009. године, на око 3%. Стопа инциденције у Финској је стабилна након 2007. године. Забележен је и благи пад инциденције за 3%. У другим европским земљама, као што су на пример: Јужни Велс и Енглеска, инциденција је била стабилна од 2005. до 2011. године, а износила је у просеку око 5% (24). У САД дијагноза ЦБ се повећала пет пута у периоду од 1975. до 2000. године (28). Осим тога, уочено је да у неким земљама, као што је Финска проценат дијагностикованих пацијената са ЦБ расте са узрастом и креће се од 1% у деце до 2,45% у старије популације. На то могу утицати следећи фактори околине као што су: социјално-економски статус, излагање већим количинама глутена у раној фази живота, цревне инфекције, већа употреба инхибитора протонске пумпе (24, 27). Такође, уочено је да вакцина против Рота вируса, може деловати протективно на развој ЦБ (26, 27).



Слика 2. Глобална преваленција ЦБ у Свету на примеру појединих држава у периоду од 1950-2020 (24)

Глобална средња вредност серолошке преваленције ЦБ износи око 1,4%, са варијацијама од 0,4 – 1,3% у Јужној Америци до 0,5-1,8% у Азији (24, 27). Биопсијски дијагностикована преваленција ЦБ износи 0,7%, то јест дупло мање од серолошке преваленције. Највећа биопсијски потврђена преваленција је у Европи и Океанији и износи 0,8%, а најмања у Јужној Америци 0,4% (29). Ова разлика је највероватније последица увођења нових водича добре праксе у педијатријској популацији, који за крајњи исход имају смањење инвазивне дијагностике, односно биопсије слузокоже танког црева, уколико се испуне одређени критеријуми серолошке дијагностике (24, 30). Такође, ови подаци се не односе на подручја у свету која показују изузетно ниску фреквенцу ЦБ, генетску предиспозицију, ниску стопу заступљености глутена у исхрани, као што суб-Сахарска Африка и Јапан. Запажен је пораст глобалне преваленције током времена од 0,6% у 1991- до 0,8% у 2000. години. (30). Увођење неинвазивног серолошког тестирања за ЦБ крајем 20. века, учинило је дијагностиковање ефикаснијим и економичнијим, јер на једноставан начин, серолошким анализама могу се дијагностиковати нови случајеви, нарочито субклиничких форми ЦБ (25, 27). То је свакако утицало на пораст инциденције ЦБ, која је последично довела и до пораста њене преваленције (27). Утицај серолошких тестова, као временски оквир започињања масовнијег коришћења, били су један од главних фактора који је допринео глобалном порасту дијагнозе ЦБ. Као илустрација напред наведеног је пример два периода, од увођења серолошких тестова 1991. до 2000. године и период од 2001. до данас, где је мета анализом утврђено да је комбинована просечна глобална преваленција ЦБ током периода од 1991. до 2000. износила 0,6% у односу на период од 2011. до 2016. где је износила 0,8%, што свакако указује на повећање преваленције ЦБ током овог временског периода. На преваленцију ЦБ могу да утичу и други фактори, као што су: пол, узраст, географска локација (30).

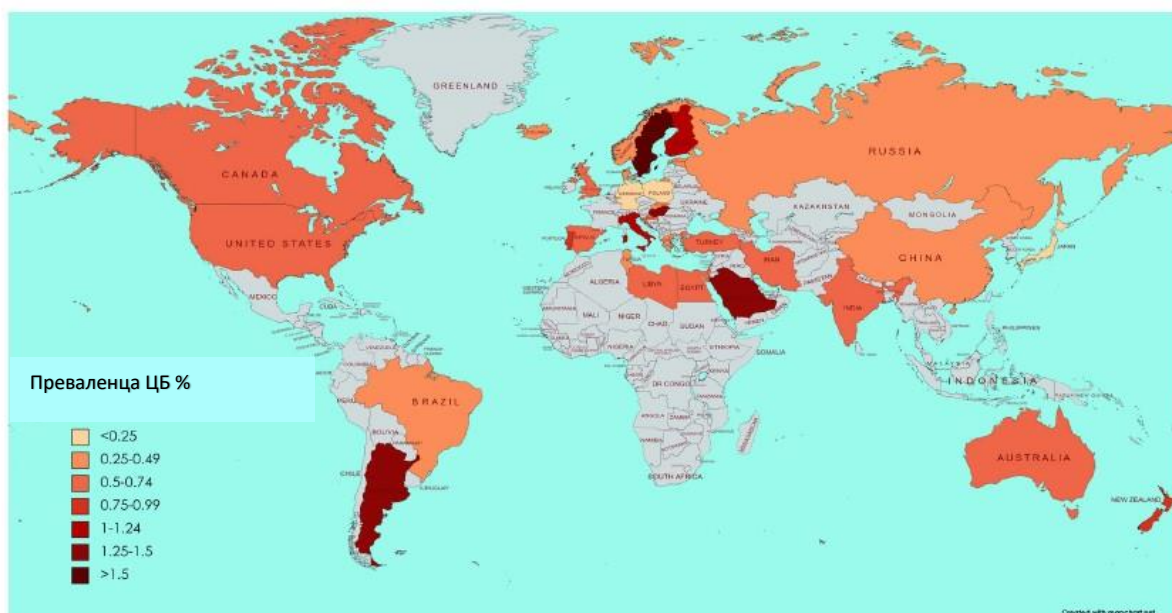
Међутим, иако су технике дијагностиковања ЦБ и смернице добре праксе ажуриране током времена, а свест и знање о ЦБ су у порасту, глобално до 95% пацијената са ЦБ остаје и даље недијагностиковано. Нека истраживања показују да се кашњење у дијагнози ЦБ креће од 4 до 10 година. Чак и у развијеним земљама, постоји много недијагностикованих случајева, при чему већина пацијената испољава атипичне знакове или неспецифичне симптоме. Ограничен приступ дијагностичким серолошким тестовима и недостатак искусних стручњака могу бити разлог за кашњење или изостанак дијагнозе ЦБ, у земљама у развоју (26, 27). Стопа дијагностикованих пацијената са ЦБ варира у различитим земљама, на пример висока је у Финској, где износи 70%, у поређењу са, на пример САД, где се креће од око само 5% (31).

1.4. ГЕОГРАФСКА ДИСТРИБУЦИЈА ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ

Историјски гледано, сматрало се да је ЦБ ограничена само (или претежно) у Северној и Западној Европи или на људе европског порекла (тј. Северно-американце или Аустралијанце). Међутим, напредак у доступности серолошких тестова за ЦБ, нарочито високо сензитивних и специфичних тестова као што су анти-трансглутаминска и анти-ендомизијална антитела, показао је да је инциденција висока не само у особа европског порекла, већ и код оних који потичу из земаља у развоју где је главни прехранбени производ пшеница (24, 31). Епидемиолошка истраживања проведена у подручјима која су сматрана да имају ниску инциденцију ЦБ у прошлости, као што су Блиски Исток, Јужна Азија, Африка и Јужна Америка, указала су на то да је ЦБ у ранијем периоду била недовољно дијагностикована у овим регионима (31).

Серолошка преваленција ЦБ, процењује се да варира од 0,5–2% у различитим деловима света. Масовно тестирање на ЦБ у четири највеће европске државе, открило је преваленцију од око 1% , а она је највиша у Европи (0,8-1%) и Океанији (0,8-1%), а најнижа у Јужној Америци (0,2- 0,4%) и Јапану 0,2% (27). Разлози за ову разлику вероватно су генетски (укључујући HLA и non-HLA гене) и факторе околине, укључујући обрасце конзумирања пшенице, узраст када се уводи пшеница у исхрану, праксе храњења одојчади, гастроинтестиналне инфекције, употребу антибиотика и инхибитора протонске пумпе, као и стопе царског реза (24, 32). У остале факторе од значаја убрајају се: социјално-економски статус, миграција становништва и фактори животне средине (33).

Географска епидемиолошка дистрибуција ЦБ дуж север-југ и запад-исток градијент, већа је на северу и на западу (слика 3.)



Слика 3. Преваленција ЦБ у свету. Преузето са - <https://mapchat.net/>

Европа

Епидемиолошким студијама у појединим земљама Европе утврђено је да преваленција ЦБ износи: у Немачкој од 0,3% до 0,9%, у Италији 1,2%, у Финској 2%, а у другим европским земљама, као што су: Велика Британија, Шведска, Холандија преваленција износи од 1,0% до 2,0% (34).

Северна Америка

У САД преваленција ЦБ код одраслих износи око 0,95%, што је слично стопи у Европи, док је преваленција педијатријске ЦБ израчуната на 0,31%, са укупном преваленцијом у распону од 0,69% до 0,75%. Међутим, уколико се посматра само популација белаца европског порекла преваленција ЦБ износи 1,01%, док црнци и хиспаноамериканци у САД имају знатно нижу преваленцију ЦБ од 0,2% до 0,3% (31).

Јужна Америка

Преваленција ЦБ у Јужној Америци значајно варира између земаља, упркос њиховој географској близини. Генерално, преваленција ЦБ у Јужној Америци је слична као и у Европи, посебно у регионима где живе особе европског порекла. Ипак, у одређеним земљама са значајним европским наслеђем, као што је Уругвај, тачна преваленција ЦБ остаје непозната. Студије проведене у Бразилу на здравим даваоцима крви, утврдиле су просечну преваленцију ЦБ од 1,5%. У урбаним подручјима Аргентине она просечно износи 0,6%. Нешто већа серо-преваленција је забележена у следећим популацијама које живе на овом континенту: холандска популација 1,22%, немачка 1,57% и белгијска 0,86%. Интересантан податак је да је преваленција ЦБ међу Менонитима (хришћанска протестантска група) у јужном Бразилу, импресивно висока и износи чак 3,47%. Најмања преваленција од 0,24% забележена је области Парана у Бразилу (29, 31).

Северна Африка

Преваленција ЦБ у Северној Африци у појединим земљама је следећа: Либија 0,79%, Тунис 0,6%, Египат 0,53% (34). Највиша серо-преваленција на овом континенту је забележена код изолованог народа Сахарави у Западној Сахари и износи импресивних 5,6% (29). Сахарави је народ који је аутохтон за западни део Сахаре, од којих многи живе као избеглице у Алжиру, а потичу од арапског и берберских народа и традиционално показују висок степен сродства. Повећана преваленција ЦБ у овој популацији може се објаснити и генетским факторима, јер Сахарави имају веома високу фреквенцију HLA-DQ2 хаплотипа, као и факторима околине, због промена у њиховим навикама у исхрани током последњих неколико деценија. Као други фактори овако високе преваленције су наведени смањено трајање времена дојења, као и велике количине глутена у исхрани одојчади и деце, као део њихове основне исхране, због помоћи у храни која се обезбеђује од стране западних земаља као део континуираних хуманитарних програма (31).

Азија

У Индонезији, Јужној Кореји, Филипинима и Јапану инциденција ЦБ је мала и износи око 0,2%. На овако ниску инциденцију утичу два фактора: ниска заступљености пшенице у исхрани у односу на пиринач, као и ниска фреквенција хаплотипа HLA-DQ2. Са друге стране, преваленција у Индији и Кини је слична, а износи око 0,7% (31, 34).

Блиски исток

До увођења серолошке дијагностике, почетком деведесетих година прошлог века ЦБ се сматрала веома ретком на Блиском истоку. Међутим, са увођењем серолошких испитивања утврђено је да се ЦБ све више дијагностикује у развијеним земљама Блиског истока, са стопом сличном оној у западним земљама и варира од 0,6% до 1,17% у популацијама са ниским ризиком, односно и до од 2,4% до 3,2% у популацијама са високим ризиком (31). Највиша преваленција ЦБ је забележена у Саудијској Арабији 3,2%, док је најнижа била у Тунису 0,5%. Остала регионална истраживања на Блиском истоку утврдила су стопу преваленције у Ирану од 0,88% и Турској од 0,6% (34).

1.5. ЦЕЛИЈАЧНА БОЛЕСТ ПОЛ И УЗРАСТ

ЦБ и пол

Целијачна болест се јавља више у жена, са односом женско:мушко од 2:1 до 3:1. Такође, запажено је да се ЦБ у жена дијагностикује у ранијој доби јер су имале више симптома, као што су на пример: нижи индекс телесне масе и анемија. На ово могу утицати два фактора: прво, жене заиста имају већу преваленцију ЦБ него мушкарци, као друго, чињеница да жене чешће траже медицинску помоћ и стога се чешће поставља дијагноза, ако су развиле симптоме који указују на ЦБ. Упркос повећаној преваленцији, стопа дијагнозе је ниска и у жена. У просеку дијагноза ЦБ се поставља око 4 године раније у жена, него у мушкараца. Такође, у мушкараца се више испољавају атипични симптоми, што може да буде разлог касније дијагнозе ЦБ. Такође, у жена постоји већа удруженост ЦБ и аутоимуних болести (24, 31, 35, 36).

Разлика у преваленцији биопсијски потврђене ЦБ код деце и одраслих

Преваленција ЦБ је већа у деце и износи 0,9%, него у одраслих где износи 0,5% (30). Први пик је у детињству после друге године живота, док се други пик јавља између треће и четврте деценије живота (26). Дијагноза ЦБ постаје све учесталија, посебно међу старијима, тако да око 20% пацијената у време постављања дијагнозе има преко 60 година живота. Иако 1% од укупне популације има ЦБ, и даље се дијагностикује само мали број пацијената. Разлог томе је атипична презентација ЦБ у каснијем педијатријском узрасту и у одраслих, то јест однос асимптомске и симптомске ЦБ износи 7:1, што представља главни разлог зашто ови пацијенти остају непрепознати. Шта више, у каснијој доби око 40% пацијената са ЦБ може да буде гојазно, а 20% да има констипативне тегобе, које се јављају нарочито у особа женског пола (36).

1.6. ПАТОФИЗИОЛОГИЈА ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ

Глутен

Глутен је комплексно хемијско једињење које се налази у пшеници, ражи, јечму и другим житарицама (37). Када се пшенично брашно помеша са водом формира се тесто, а протеини глутена формирају континуирану мрежу, која пружа кохезију и вискоеластичност, омогућавајући да тесто “нарасте” што је битно за прављење хлеба. Садржај протеина у пшеници варира између 7% и 22%, при чему глутен чини 80% од укупних протеина семена (38).

Глутен је дефинисан као већинска маса која остаје када се тесто направљено од пшеничног брашна и воде пажљиво опере у вишку воде или разблаженом раствору соли, како би се уклонили већина скроба и растворљивих материјала. Преостали материјал представља глутен и чини 75–80% суве материје (39).



shutterstock.com · 2177465763

Слика 4. Схематски приказ састава глутена

У поређењу са другим житарицама, глутен садржи више пролина и глутамина, као и мање наелектрисаних аминокиселина. Има молекулску тежину од 10–30 kDA (37). Састоји од дугих филамената (полукружне овалне структуре) који се називају глутеин и он тесту даје вискозитет, односно густоћу, док глијадина даје еластичитет и кохезију (слика 4). Пшенични глутен био је један од првих протеина који су били научно

проучавани, а истраживање је спровео *Jacopo Vessari* (професор хемије на Универзитету у Болоњи) у свом чланку "*De Frumento*" (О жити) 1745 године. Глутен и сродни протеини из других житарица класификују се као "проламини". Ово име је сковао Американац *Т.Б. Осборн* који се бавио хемијом биљних протеина почетком 20. века. Проучавајући различите врсте житарица (око 32 врсте), објавио је око 250 радова на ову тему. Осборн је у овим радовима класификовао протеин житарица на основу њихове секвенцијалне екстракције у низу, а у литератури се назива "Осборново фракционисање", при чему се разликују четири фракције: албумини (растворљиви у води), глобулини (растворљиви у разблаженом раствору соли), проламини (растворљиви у 60–70% алкохола) и глутеин (нерастворљив у другим растварачима) (39).

Проламини

Име проламин потиче од њиховог високог садржаја пролина и амидског азота (који потиче од глутамина). Ова фракција добија специфична имена у различитим врстама житарица: глијадин у пшеници, хордеин у јечму, секалин у ражи, зеин у кукурузу, итд. Међутим, последња фракција (глутеин) се теже дефинише, зато што у суштини обухвата све протеине који су нерастворљиви у претходна три растварача, али се могу растворити под условима екстремног рН (39).

Овај полиморфизам протеина пшенице представља изазов у покушајима елиминисања "токсичних" протеинских компоненти у добијању нових врста пшенице без глутена, а путем коришћења природне варијације пшенице или генетског инжењеринга (39).

Лектини

Лектини се налазе у различитим биљкама, посебно у семенкама, где служе као механизми одбране против других биљака и гљивица. Због своје способности везивања за готово све типове ћелија и изазивања оштећења ткива, лектини су широко препознати као антинутријенти у храни. Већина лектина је отпорна на топлоту и деловање ензима за варење и способна је да се веже за различите ткива и органе. Администрација лектина експерименталним животињама изазвала је хиперпластични и хипертрофични раст танког црева, хипертрофични раст панкреаса и атрофију тимуса. Активност лектина доказана је у пшеници, ражи, јечму, овсу, кукурузу и пиринчу, али најбоље проучаван је лектин WGA (39).

Глијадин и имунитет

Лоша компонента у глутену је глијадин, који је одговоран за имунолошку реакцију у генетски осетљивих особа. Глијадин је полипептид дужине 33 аминокиселине, који је значајан у патогенези ЦБ (37). Постоји најмање 50 епитопа глијадина, који узрокују имуномодулаторне и цитотоксичне ефекте, путем активације Т лимфоцита (38). Глијадин се тешко ресорбује. Резистентан је на деградацију од стране дигестивних ензима као што су пепсин и протеазе у танком цреву (37). Глијадин узрокује отпуштање зонулина, протеина који модулира пермеабилитет "*tight junctions*" (тесне везе) између ентероцита.

Зонулин

Зонулин је идентификован први пут пре око две деценије (40). То је протеин идентификован као прехаптоглобулин-2, који је регулатор пропусности црева. Хаптоглобулин-2 заједно са хаптоглобулином-1 повезан је са повећаним ризиком од

настанка ЦБ. Хаптоглобулин-2/зонулин алел има фреквенцију од око 0,6% у Европи и САД, али варира широм света у зависности од расног порекла (38).

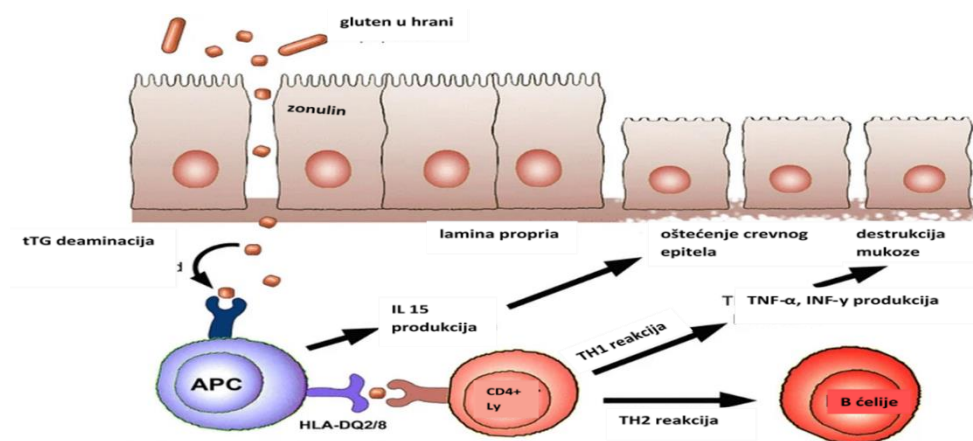
“*Tight junctions*” (тесне везе) представљају комплекс веза који повезује суседне епителне и ендотелне ћелије. Први пут су описане 1963. године од стране *Farquhar-a i Palade-a* и састоје се од трансмембранских протеина, укључујући: оклудин, клаудин, молекуле адхезије трицелулин и ангулин. Тесне везе контролишу пролаз молекула кроз парацелуларни простор. Регулација тесних веза у цревима је од суштинског значаја за одржавање хомеостазне баријере, како између компартмента тела, тако и између тела и спољног окружења. Већина истраживања о регулацији тесних веза је фокусирана на дисфункције посредоване цитокинима, које за последицу имају развој хроничне инфламације, посебно оне које утичу на цревну мукозу. Тумор некрозис фактор (TNF- α) и интерферон гама (IFN- γ) утичу на баријеру тесних веза у цревима. Ефекат TNF- α на цревну баријеру повезан је са развојем инфламаторне цревне болести - IBD, *graft-versus-host* болешћу, али и са ЦБ. Високи нивои зонулина утврђени су у аутоимуним и инфламаторним болестима укључујући: IBD (*inflammatory bowel disease*)- UC i M.Crohn, IBS (*irritably bowel disease*) - синдром нервозних црева, мултиплу склерозу, реуматоидни артритис, DM tip-1, астму, некротизирајући ентероколитис и поремећаје аутистичног спектра (38, 41). Под нормалним физиолошким условима, већина антигена пролази кроз транс ћелијски пут, док мањи део прелази пара целуларним путем. Зонулин се истиче као главни регулатор тесних веза, а његово ослобађање може бити изазвано бактеријама и глијадином. Губитак функције цревне баријере, путем повећаног зонулина, представља кључни корак у покретању инфламаторног процеса. Истраживања су показала да глијадин може активирати ослобађање зонулина и довести до дисфункције цревне баријере. У другим аутоимуним болестима, специфичан иницијатор повећаног ослобађања зонулина није познат, али се претпоставља да је цревна дисбиоза главни покретач. Ларазотид ацетат, антагонист зонулина, потврђује патогену улогу зонулина у многим аутоимуним болестима и отвара могућност терапијске примене не само у ЦБ, већ и у другим аутоимуним болестима где је улога зонулина хипотетичка или доказана (41). Пропусност црева је мера функције цревне баријере, која се односи на парацелуларни простор око четкастог покрива површине ентероцита и спојева који се састоје од тесних веза, дезмозома и јонских спојева. Под физиолошким околностима постоји чврста контрола транспорта мукозних антигена. Дисбиоза црева изазива неадекватну продукцију количине зонулина, са накнадним функционалним губитком цревне баријере, што за последицу има продор антигена различитих микроорганизама и ендотоксина из лумена у ламину проприју. Ако се овај процес настави, покреће се имунолошки одговор, што доводи до продукције проинфламаторних цитокина, укључујући IFN- γ и TNF- α (40, 41).

Зонулин и глијадин

Неуситњени фрагменти глијадина се везују за хемокин-рецептор CXCR3 на ентероцитима. Зонулин комплекс са CXCR3 и глијадин ослобађају зонулин из ентероцита, који изазива преуређења актинских филамената, што узрокује преуређивање протеина зоне оклуденс. Последица овога је пуцање веза зоне оклуденс, што доводи до повећане интестиналне пермеабилност, која дозвољава глијадину да доспе до ламине проприје. На тај начин омогућена је пара целуларна транслокација глијадина, који интеракцијом са имунолошким системом доводи до инфламације. Код особа са ЦБ, количина и трајање произведеног зонулина је много већа, што за последицу има значајно повећање пропустљивости црева (40,42). На овај начин се ствара циклус у којем ће, услед трајне присутности проинфламаторних медијатора, пропусност црева додатно расти

(38). У експерименталним моделима *in vivo* и *in vitro* у трансгеничних животиња, активност зонулина се може спречити инхибитором зонулина - АТ1001 (сада названог ларазотид ацетат) у трансгеничном животињском моделу ЦБ, где је ларазотид ацетат спречио глутен-зависну инфламацију и оштећење црева (40).

Повећана цревна пропустљивост олакшава продор глутенских пептида у ламину проприју, што има за последицу покретање ослобађања интерлеукина (IL-15) од стране дендритичних ћелија. Такође, глијадин стимулише и ентероците да ослобађају IL-15. Интерлеукин-15 узрокује активацију и пролиферацију интраепителних лимфоцита, да на својој мембрани експресионарају рецепторе *NKG2D*. Лиганд за *NKG2D* рецептор је *MIC-A* који се експресионара на површини ентероцита када су у стању стреса, на пример у случају бактеријске инфекције или карцинома. У одређених особа и сам глијадин може да узрокује експресију *MIC-A* (42). Збир кључних фактора као што су: врста стресора, структурне карактеристике лиганда, алеличне варијанте и врста ћелија, одређује експресију једног или више, али не свих лиганда на површини ћелије. Активирајући рецептор *NKG2D* је посебан по својој способности да се веже за бројне и високо диверсификоване МНС класе и сличне молекуле присутне у организму. Ови лиганди су слабо присутни на нормалним ћелијама, али се могу индуковати на оштећеним, трансформисаним или зараженим ћелијама (43). Када доспе до ламине проприје глијадин пролази кроз процес деаминације. Процес деаминације глијадина се одвија помоћу ткивних транслутаминаза – TTG, које катализују деаминацију неутралних глутаминских остатака у негативну глутаминску киселину. Ова деаминација повећава потентност глутенских пептида, који постају још имуногенији. Ткивна TTG покреће специфични Th1 (IFN γ) одговор и Th2 одговор на ткивну транслутаминазу (IgA и IgG анти-TTG) и глијадин (42, 44). Следећи процес настаје на антиген презентујућим ћелијама (дендритичним ћелијама), МСН II рецептор HLA DQ2 Или HLA DQ8 T-helper CD4 лимфоцитима. Ово резултује активацијом T-helper лимфоцита и продукцијом цитокина, који доприносе даљем оштећењу ткива (слика 5.). Када их антиген-презентујуће ћелије (АПЦ) презентују, ови антигени се препознају од стране Т ћелијских рецептора на CD4⁺ T-helper ћелијама, активирајући их и индукујући њихову пролиферацију. Активиране Т ћелије производе проинфламаторне цитокине укључујући INF, IL-21 и IL-2. Интерферон усмерава CD4⁺ Т ћелије према Th1 цитокинском профилу, инхибира Th2 имунолошки одговор и смањује преживљавање регулационих Т ћелија. Надаље, CD4⁺ Т ћелије појачавају активност CD8⁺ цитотоксичних Т лимфоцита, који затим повећавају Т-helper ћелије, такође активирају В ћелије, које продукује антитела против TTG и ЕМА. **Мерење ових антитела у крви је представља серолошку дијагностику ЦБ.**



Слика 5. Схематски приказ напред описаног механизма настанка оштећења слузокоже црева у ЦБ (45)

1.7. HLA СИСТЕМ И ЦЕЛИЈАЧНА БОЛЕСТ

Функција HLA система у организму

Главни комплекс хистокомпатибилности (МНС) или Хумани леукоцитни антиген (HLA) код људи регулише ћелијски посредовани адаптивни имунолошки одговор. HLA молекули су гликопротеини на површини ћелије и имају улогу у контроли имуног система у свих кичмењака. Примарна функција је у презентацији ендогених и екзогених антигена Т лимфоцитима, у сврху препознавања и одговора (46). Откриће HLA се везује за име француског научника *Jean Dausset* (1916–2009), 1958. године. Ово откриће допринело је развоју нових техника лечења, поготову трансплантационе медицине. Полиморфизам HLA система је јединствен за сваку особу, а његово откриће је допринело разумевању основних система имуногености, односно препознавању и диференцијацији сопствених од страних пептида, захваљујући презентацији страних пептида од стране HLA система. За откриће HLA система овај научник је добио Нобелову награду 1980. године (47).

HLA молекули су подељени у две главне класе: HLA класа-I и HLA класа-II. Молекули HLA класе-I имају круцијалну улогу у имунолошкој одбрани против интрацелуларних патогена, док су HLA класа-II молекули претежно укључени у приказивање пептида из екстрацелуларних патогена. HLA регион је веома полиморфан. Полиморфизам у HLA локусу доприноси генетској разноврсности код људи и разликама у осетљивости на болести међу генетски различитим групама, нудећи тако еволуционе предности.

HLA систем се налази у региону који се протеже на око 4.000 кило база (*kb*) ДНК на кратком краку хромозома 6 (*6p21*). Овај регион кодира три главне класе протеина:

1. HLA класа-I (HLA-A, HLA-B и HLA-C)

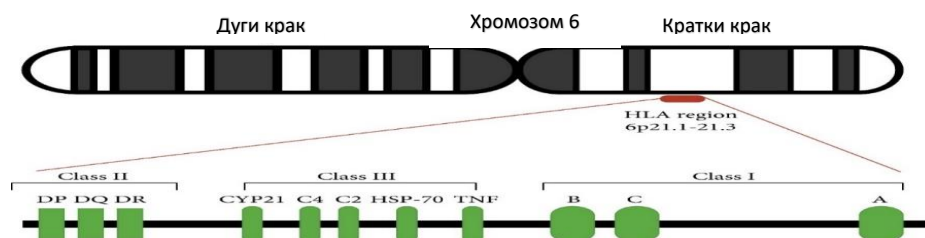
HLA класа-I молекули су присутни као трансмембрански гликопротеини на површини готово свих ћелија са једром. Ови молекули представљају интрацелуларне *self* или *non-self*-антигене CD8⁺ цитотоксичним Т ћелијским рецепторима и рецепторима за NK ћелије.

2. HLA класа-II (HLA-DP, HLA-DQ i HLA-DR)

HLA класа II молекули су присутни на површини антиген презентујућих ћелија (АПЦ), као што су макрофаги, В ћелије и дендритске ћелије, и приказују кратке антиген пептидне фрагменте CD4⁺ Т- helper лимфоцитима и њиховим рецепторима. HLA класа II молекули се састоје од два полипептидна ланца (α и β ланац)

3. HLA класа-III (компоненте система комплемента, 21-хидроксилаза, протеин за шок од топлоте – *heat shock* и фактори туморске некрозе)

HLA класа III регион се протеже на 700 *kb* ДНК и налази се између центромерних класе-II (HLA-DRA) и теломерних класе-I региона (MICB) (46)



Слика 6. Схематска презентација HLA локуса на хуманом хромозому 6. (46)

HLA и аутоимуност

Особе са одређеним HLA антигеном чешће развију одређене аутоимуне болести, као што су: DM-тип1, ЦБ, реуматолошке болести: анкилозирајући спондилитис, системски еритемски лупус (СЛЕ), Сјогренов синдром, или неке неуролошке болести: миозитис или миастенија гравис (48, 49, 50).

HLA-DQ

Гени који кодирају ланце HLA-DQ2 и DQ8 хетеродимер су неопходни, али не и сами по себи довољна имуно-генетска основа за развој ЦБ. Сами HLA-DQ хаплотипови доприносе до додатних 25-40% генетског ризика за ЦБ и наводи се да су присутни код око 35-40% опште популације. Већина пацијената са ЦБ генерално има хетеродимер HLA-DQ2.5 хаплотип у око 90% случајева, а само мањи број, око 5% пацијената са ЦБ, имају HLA-DQ8, HLA-DQ2.2 или HLA-DQ7.5, а 5% преосталих особа носи барем један од ова два гена. Преваленција ЦБ варира по регионима у свету (51, 52, 53). Већина пацијената има HLA-DQA1*05 и HLA-DQB1*02 алеле који кодирају HLA-DQ2 протеин, док су у осталим случајевима најчешће утврђени HLA-DQA1*03 и HLA-DQB1*03 алели, који кодирају HLA-DQ8 протеин (54). **Идентификација специфичних алела који кодирају DQ2.5 и DQ8 (HLA-DQA1*05, HLA-DQB1*02, HLA-DQA1*03 и HLA-DQB1*02) чини основу генетског теста, који се користи у дијагностици ЦБ.**

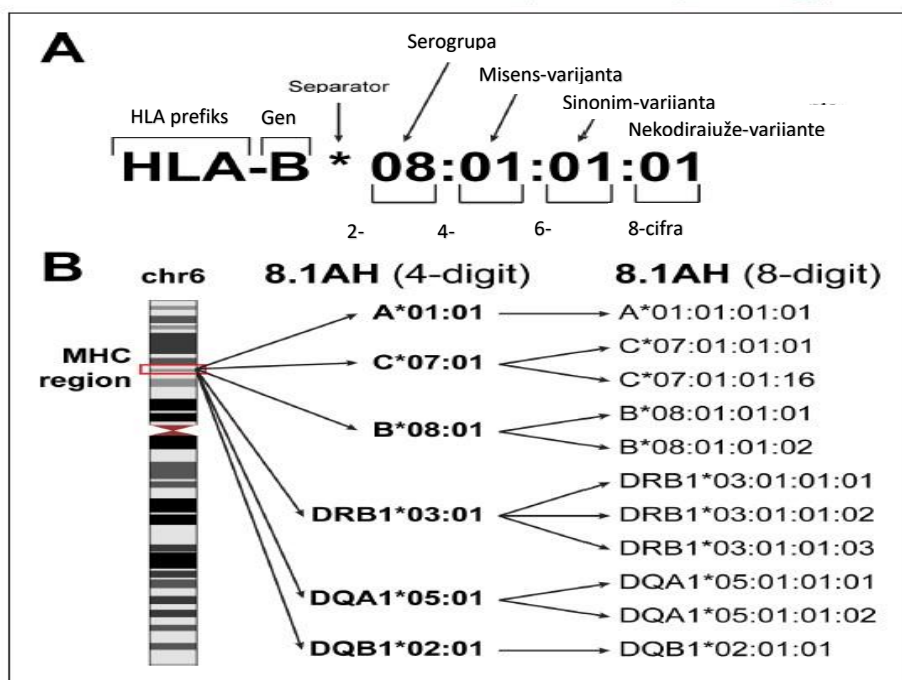
HLA-DQ2/DQ8

Молекул HLA-DQ2 је грађен од β ланца кодираног од стране алела HLA-DQB1*02 (HLA-DQB1*0201 или HLA-DQB1*0202) и α ланца, кодираног од стране алела HLA-DQA1*05 (DQ 2.5). Још једном треба истаћи да свака особа има два хаплотипа, који су наслеђени од сваког од родитеља. Хетеродимер DQ2.5 може бити у цис конфигурацији, као и транс конфигурацији (DQ2.2 и DQ7.5) (55). Молекули HLA-DQ2 и DQ8 имају кључну улогу у интеракцији између молекула МНС класе II и пептида добијеног од глијадина и покретању свих имунолошких догађаја укључених у патогенезу ЦБ. Наиме, висок садржај пролина и остатака HLA-DQ2 епитопа глијадина показао се фундаменталним за интеракцију и везивање за молекуле МСН класе II. Одређени остаци DQ2 ланца, који учествују у формирању у везивању пептида (посебно Arg-70 и Lys-71 ланца кодираног од стране DQ2), углавном су одговорни за интеракцију епитопима глијадина и стога могу бити кључни за предиспозицију за ЦБ (52).

Хомозиготи и хетерозиготи за ЦБ

У наслеђивању HLA-DQ2 и DQ8 постоји ефекат дозе гена. Особе са DQ2.5 имају већи ризик за развој ЦБ када носе два алела HLA-DQB1*02, од особа које носе само један овај алел. Такође, хомозиготне особе за HLA-DQ8 имају већи ризик за развој ЦБ у односу на хетерозиготе. Хетерозигот за HLA-DQ8 не повећава знатно ризик од развоја ЦБ у односу на општу популацију. У особа са DQ2.5 генерално је потврђен висок ризик за развој ЦБ. Међутим чак и једна "доза" HLA-DQ2.5 повезана је са значајном шансом за развој ЦБ. Проучавање хомозиготног DQ 2.5 је важно, јер је двострука доза овог алела повезана са раним испољавањем симптома ЦБ, као и вишим нивоима анти-ТТГ (52) са једним HLA-DQB1*02 алелом (51). Стога, ризик за настанак ЦБ код особа које су

хомозиготне за DQ 2.5 је приближно пет пута већи него код хетерозигота, са умереним ризиком код хетерозигота DQ2.5/DQ8 (56). Код хетерозиготних пацијената, такође постоје високе концентрације молекула HLA-DQ2.5, слично као код DQ2 хомозиготних ћелија. Као последица тога, снага одговора CD4⁺ Т ћелија специфичних за глијадин углавном зависи од дозе антигена (57).



Слика 7. HLA номенклатура (53)

а) Опис HLA алела (типа која користи стандардну номенклатуру. Прве две цифре описују серолошки антиген. Трећа и четврта цифра описује HLA тип који се разликује у једној или више мисенс варијанти. Пета и шеста цифра описују HLA тип који се разликује у једној или више синоним варијанти. Седма и осма цифра описују HLA типове који се разликују по некодирајућим варијантама

б) Наслеђени хаплотип се састоји од шест HLA гена и типично представља резолуцију средњег нивоа од четири цифре.

1.8. ЦЕЛИЈАЧНА БОЛЕСТ - СЕРОЛОГИЈА

Антиглијадинска антитела и Деаминирана антиглијадинска антитела (DGP)

Ера серолошког испитивања ЦБ, започела је 1970. године, након открића антиглијадинских антитела, класе IgA и IgG, која су била једини серолошки тест дужи низ година, до појаве анти транслутаминских (анти-TTG) и антиендомизијумских антитела (ЕМА), која се данас користе у стандардној пракси. Глијадински пептиди, присутни у храни која садржи пшеницу, јечам и раж, модификују се ензимом ткивне транслутаминазе (анти-TTG). Претварање глутаминских остатака у глутаминску киселину олакшава везивање глијадинских пептида за HLA антигене класе II - DQ2 или DQ8, који се налазе на АПЦ. Код особа са оваквом генетском предиспозицијом, односно са HLA-DQ2 и/или DQ8, може се покренути имунолошки одговор који доводи до

стварања специфичних антитела на TTG и AGA (58). Тестови за AGA IgA и IgG који користе пречишћене екстракте глутена нису били задовољавајући због ниже сензитивности (Sn) и специфичности (Sp), а за AGA IgA вредности су износиле: Sn (око 63-90%) и Sp (79%), а за AGA IgG: Sn (42%–90%) и Sp (69%) (58, 59). Иако више није препоручена за стандардну иницијалну дијагнозу AGA се и даље је користе повремено у пацијената који имају дигестивне симптоме ЦБ, а имају негативна: TTG и ЕМА.

Недавно откриће деаминираних глијадинских пептида (DGP), који могу покренути специфичан Т-ћелијски одговор у пацијената са ЦБ, омогућило је развој знатно специфичнијих и осетљивијих тестова за AGA. Код пацијената млађих од 3 године, корисно је спровести овај тест у комбинацији са анти-TTG IgA (58).

Антиретикулинска антитела

Серолошки тест антитела (IgG и IgA) против ретикулина помоћу теста имунофлуоресцентне анализе (IFA) први пут је описан 1977. Године. Овај тест детектује антитела против ретикуларних влакана ендомиозијума. Постоје пет различитих ретикуларних влакана ендомиозијума, од R1 до R5, али само је R1 повезан са ЦБ. Међутим, ова антитела се ограничено користе, зато што је потребно за извођење теста користити ткиво глодара. У данашње време врло мало лабораторија користи антиретикулинска антитела, у поређењу с другим серолошким тестовима за ЦБ (60).

Антиендомиозијумска антитела (скраћенице у литератури: анти- ЕМА, ЕМА, ЕМА)

Антиендомиозијумска антитела (ЕМА) су откривена 1984. године и користила су се као биомаркер у дијагностици дерматитиса херпетиформиса (DH) и ЦБ. Истраживачи су у свом раду утврдили да су IgA анти-ендомиозијална антитела (IgA-ЕМА) усмерена против ендомиозијума, односно интермиофибриларне супстанце, која се налази око глатких мишића и може одговарати или ретикулину сличној структури или површинском саставу миофибрила глатког мишића (61, 62). Ендомиозијум садржи облик трансклутаминазе назване - ткивна трансклутаминаза (TTG), а антитела која се везују за ову врсту трансклутаминазе називају се ендомиозијална аутоантитела (ЕМА). Антитела су детектована у око 80% пацијената са DH, односно у око 70% пацијената са ЦБ, а утврђено је да су заједно са ЕМА антителима, позитивна и AGA IgG. Такође, ЕМА и AGA антитела нису била детектована у контролној групи пацијената са другим болестима црева, као што је IBD-UC или дерматолошким болестима као што је линеарни булозни дерматитис (62). Тест на антитела на ендомиозијум је хистолошки тест, који користи серум пацијента за везивање за ткиво једњака примата. Детекција се изводи помоћу имунофлуоресценције (IF), а за антигенски супстрат се користи пресек замрзнутог мајмунског једњака (глатки мишић). Недостаци IF технике су следећи: квалитативни резултати, високи трошкови теста, потребу за обученим особљем, субјективно тумачење теста и етичко неслагање – жртвовање животиње (63). Иако се ЕМА сматрају високо осетљивим и специфичним тестом за дијагнозу ЦБ, у пракси се углавном не користи за скрининг и праћење пацијената због својих ограничења (скуп, квалитативно и субјективно) (59).

У новије време развијен је и ELISA тест за детекцију ЕМА, који може да замени IF детекцију и који превазилази њене недостатке. У свакодневној пракси, тестирање на

ELISA антитела често се врши заједно са тестирањем на анти-TTG антитела, с обзиром да ова комбинација обезбеђује готово 100% осетљивост и специфичности (63).

Трансглутаминска антитела (скраћеница у литератури: anti- tTG, tTG, TTG, TG2)

Откриће ЕМА довело је у каснијем периоду и до идентификације ткивне трансглутаминазе, за које се и везују ова антитела, а која су била мање захтевна у односу на ЕМА антитела, јер је кориштен *ELISA* тест, а не имунофлуоресценција. Године 1997. идентификован је циљни антиген ЕМА као ензим ткивне трансглутаминазе (TTG). У пацијената са ЦБ и високим нивоима ЕМА IgA у серуму, када се у серум прво додају TTG, а након тога и анти-TTG антитела, серум постаје негативан на ЕМА, што указује да ова антитела препознају исти антиген као ЕМА. С обзиром на високу осетљивост имуноензимских тестова (*ELISA*) који се користе за испитивање анти-TTG IgA антитела, овај тест постепено замењује ЕМА тест у иницијалној серолошкој дијагнози ЦБ. (64). Ткивна трансглутаминаза (TTG) је мултифункционални ензим која катализује стварање изопептидних веза између протеина путем епсилон-гама-глутамил-лизинске везе (ова активност је важна у деаминацији глијадинских пептида), играјући на тај начин важну улогу у патологији ЦБ (65). Ензим TTG се налази углавном екстрацелуларно, али може да буде присутан у мањој мери интрацелуларно, а присутан је цитосолу, митохондријама и у једру. За своју активност, захтева калцијум као кофактор (66). Неке од функција TTG у организму су следеће: игра улогу у зрастању рана, апоптози, развоју екстрацелуларног матрикса, као и у диференцијацији и адхезији ћелија (67). Такође, TTG има улогу у инфламацији и биологији тумора, укључујући: леукемију, карцином дојке, карцином простате, карцином панкреаса и карцином грлића материце. Његово присуство у различитим типовима малигних ћелија повезано је са отпорношћу тумора на лекове и склоност ка метастазирању, односно TTG доприноси преживљавању малигних ћелија (68). Такође, TTG има значајну улогу и у неуродегенеративним поремећајима, чија је карактеристика абнормална агрегација протеина као што су: Алцхајмерова, Паркинсонова и Хантингтонова болест (69, 70).

1.9. ЦЕЛИЈАЧНА БОЛЕСТ- ХИСТОПАТОЛОГИЈА

До појаве серолошке дијагностике, дијагноза ЦБ је постављана на основу биопсије слузокоже танког црева и описа патолога. Биопсија слузокоже танког црева (БТЦ) је важила за „златни стандард“ у дијагностици ЦБ.

Да би описали промене које се виђају у ЦБ, потребно је најпре познавати нормалну грађу слузокоже танког црева.

Грађа нормалне слузокоже танког црева

- Вилуси су прстоликог изгледа. У нормалним условима однос висине вилуса и дубине крипти узноси 3:1, у корист вилуса.
- Интраепителних лимфоцитни: број интраепителних лимфоцита (ИЕЛ) подложен је индивидуалној варијацији. Већина нормалних налаза, има мање од 25 ИЕЛ на

100 епителних ћелија. Број ИЕЛ изнад 25/100 епителних ћелија, сматра се патолошким. Бројање интраепителних лимфоцита је веома важно посебно у почетним лезијама у ЦБ.

- У криптама се налазе групе епителних ћелија, ендокрине ћелије, пехарасте (*goblet*) ћелије и Панетове ћелије. Број митоза у криптама износи 1 митоза за сваку крипту.
- У ламини проприји се нормално налазе плазма ћелије, еозинофили, хистиоцити, мастоцитне ћелије и лимфоцити. Неутрофили су генерално одсутни, осим у случајевима активног дуоденитиса повезаном са инфекцијом *Helicobacter pylori* (HPU). Број еозинофила не сме да буде већи од 5 по пољу највећег увећања микроскопа.

Патолошки налаз слузокоже у ЦБ

Хистолошка дијагноза ЦБ састоји се од интегрисане процене 3 основне лезије:

- Повећање ИЕЛ (Т-лимфоцита) чија је вредност већа од 25 ИЕЛ/100 ентероцита, се сматра патолошким налазом.
- Хиперплазија крипти: продужење регенеративних епителних крипти, повезано с присуством више од 1 митозе по крипти.
- Атрофија вилуса: смањење висине вилуса, промена нормалног односа крипта/вилус (3:1) до потпуног нестанка вилуса. За ову процену је потребна правилна оријентација биопсијског узорка (71).

Ниједна од ових основних лезија није специфична за ЦБ, зато и саме хистопатолошке промене у ЦБ морају да се корелирају са клиничким и серолошким налазима. Данас постоје стандардизоване схеме описа хистопатолошког налаза, *Oberhuber-Marsh* класификација (тј. модификована Маршова класификација од стране Оберхубера) и других, прихваћена је као светски стандард (72). Модификована Маршова класификација посебно процењује број интраепителних лимфоцита на 100 ентероцита, архитектуру крипте и дужину ресица (73). На основу присуства једне или више ових основних лезија, хистопатологија ЦБ се дели у различите дијагностичке категорије према Маршовој класификацији:

Тип 1. или инфилтративна лезија

1. Вилуси унутар нормалних морфолошких граница (нормалан однос вилус/крипта 3:1);
2. Повећан број ИЕЛ (више од 25/100 епителних ћелија).

Тип 2. или хиперпластична лезија

1. Вилуси су унутар нормалних морфолошких граница (као у тип 1);
2. Повећан број ИЕЛ (више од 25/100 епителних ћелија) (као у тип 1);
3. Хиперплазија крипти (наглашен регенеративни аспект, деплеција муцина и повећан број митоза).

Тип 3. или деструктивна лезија

1. Различити степени атрофије вилуса повезани са хиперплазијом крипти;

2. Површински ентероцити са смањеном висином, неправилним четкастим покровом и понекад цитоплазматским вакуолама

3. Повећан број ИЕЛ (као тип 1 и 2 лезије).

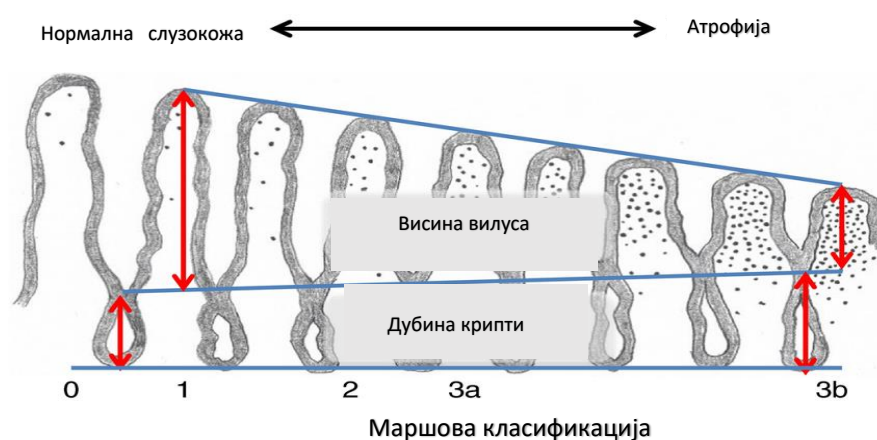
Модификација ове класификације предложена је од стране Оберхубера и сарадника су поделили лезију типа 3 према Маршу-у у три подгрупе:

3а - блага атрофија вилуса и патолошко повећање ИЕЛ;

3б - умерена атрофија вилуса и патолошко повећање ИЕЛ;

3ц - потпуна атрофија вилуса и патолошко повећање ИЕЛ (71).

Патолошка евалуација ЦБ подложна је различитим замкама, а посебну пажњу треба посветити броју биопсија, исправном руковању и обради, као и методи класификације патолошких промена слузокоже дуоденума. Битна ствар у хистопатолошком налазу, је узимање довољног броја узорка, као и правилна оријентација сваког узорка. Промене у слузокожи нису равномерно распоређене дуж танког црева и зато су подложне понекад нетачном тумачењу због неправилног уграђивања у калуп, што наглашава важност правилног руковања биопсијским материјалом, као и оријентацију самог узорка (71, 74). Препорука је да се у дијагностици ЦБ узму четири оријентисане биопсије у другом делу дуоденума (Д2 дуоденума), као и једна до две правилно оријентисане биопсије из булбуса дуоденума (75).



Слика 8. приказује Маршову класификацију: повећање ИЕЛ, хиперплазију крипти и атрофију цревних вилуса у различитим степенима цревне атрофије у ЦБ. Преузето са: Daveson, A. J. M. et al. Baseline quantitative histology in therapeutics trials reveals villus atrophy in most patients with coeliac disease who appear well controlled on gluten-free diet. *GastroHep* 2, 22–30 (2020).

1.10. ТИПОВИ ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ

Класификација ЦБ

Према Осло класификацији из 2011. године, ЦБ се дели у четири категорије: класична (типична), некласична (атипична), субклиничка и потенцијална. Класична ЦБ укључује три карактеристике: малапсорпција, хистолошке промена на биопсији танког

црева - цревну вилусну атрофију и опоравак слузокоже танког црева на исхрани без глутена, у периоду од неколико недеља до неколико месеци. У раном детињству ЦБ се манифестује најчешће као типична. Касније, ЦБ се испољавање чешће са атипичним манифестацијама, које су више екстра интестиналне. Некласични или атипични симптоми све се више препознају, а у последњих неколико деценија постају и чешћи од класичне презентације ЦБ (слика 9) (76, 77).

Типична ЦБ

Типични симптоми, који подразумевају гастроинтестиналну симптоматологију, описани су још у античко време од стране Аратеуса, а први прецизнији опис је дао Др Ги 1883. године.

Типична симптоми ЦБ су: стеатореја, губитак тежине и малапсорпција хранљивих материја, заостајање у расту и развоју – *“failure to thrive”* (78). Ови симптоми су присутни у око половине пацијената у млађој педијатријској популацији пацијената. Насупрот томе, у адолесценцији, симптоматологија је слична као и у одраслих у доби испод 50 година, а испољава се чешће у виду хроничног абдоминалног бола. У адултној доби преко 50 година живота, ЦБ се манифестује више диспептичним тегобама, а ендоскопски могу бити присутне ерозивне промене на слузокожи желуца и танког црева, које се клинички манифестује и са меленом (79), а могу бити присутни и неспецифични симптоми, као што су синдром нервозних црева (IBS) и понављајући афтозни стоматитис (80).

Атипична ЦБ

Напретком у дијагностици ЦБ, детектовани су различити симптоми, који су се испољавали у различитим облицима, названим атипичним (79). У атипичној ЦБ, симптоми малапсорпције су минимални или одсутни, карактеристични су више за старији узраст деце. Дијагноза субклиничке форме поставља се на основу позитивног налаза специфичног серолошког теста за ЦБ и биопсијског доказа о вилусној атрофији. Ови случајеви се обично откривају прегледом високоризичних група нпр. блиски рођаци или DM-t1p1 (76). У овој форми ЦБ пацијенти немају увек испољене гастроинтестиналне симптоме. Од других симптома могу да буду присутни: сидеропенијска анемија, која се испољава у око 15% пацијената, као и блага хипоалбуминемија. Такође, већина пацијената има нормалну концентрацију калцијума у серуму, али око 50% пацијената има снижен ниво витамина Д. Скоро четвртина нових случајева ЦБ испољава се са атипичним симптомима, а половина њих има нормалан ХП налаз на БТЦ. Верује се да је пораст атипичног облика ЦБ са или без било каквих симптома узрокован порастом аутоимунских болести у општој популацији, али и делом побољшањем дијагностике, нарочито серолошке (79).

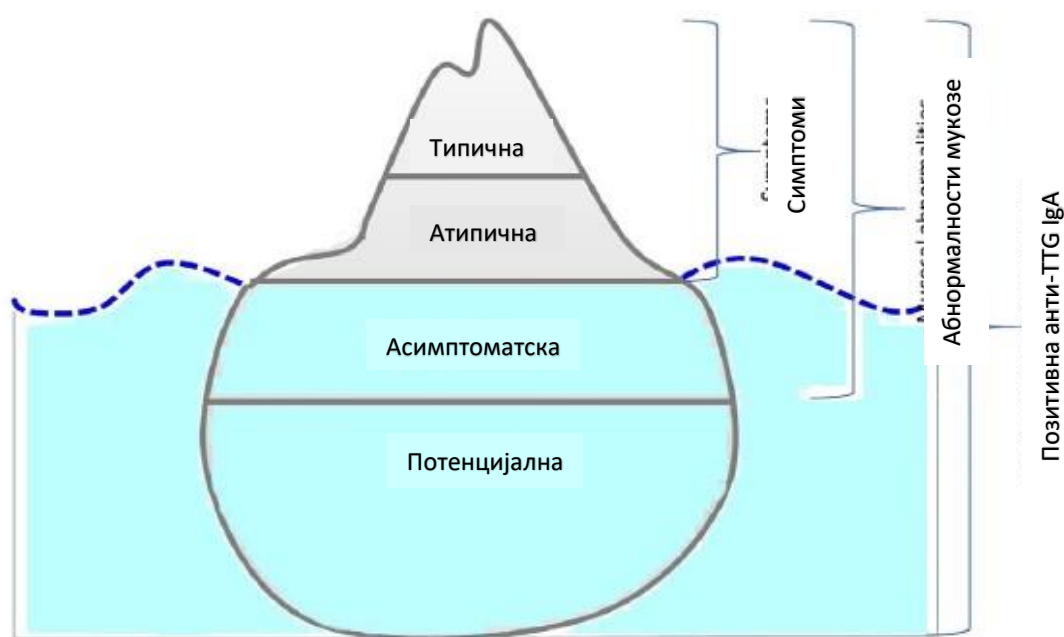
Асимптоматски (Тихи облик) ЦБ

Пацијент је обично без симптома малапсорпције или су они минимални. Од симптома спорадично могу да се јаве: повраћање или затвор, хронични абдоминални бол, као и екстраинтестинални симптоми. Тихи облик се посебно испољава у старије деце и одраслих. Субклиничка ЦБ се дијагностикује на основу позитивног серолошког налаза антитела и хистолошког налаза биопсије танког црева (76, 78).

Потенцијални (Латентни облик) ЦБ

Ови случајеви углавном се откривају прегледом високоризичних група као што су: блиски рођаци, Даунов синдром (Sy Down), DM-t1p1. У потенцијалној ЦБ присутна су позитивна анти-TTG антитела и карактерише га најчешће нормална хистологија БТЦ. Пацијенти са овим обликом ЦБ су често без клиничких симптома (76, 78).

Рефрактерни облик: Пацијент не показује побољшање на безглутенској исхрани (78).



Слика 9. Схематски приказ у виду санте леда приказује сваку од карактеристика ЦБ (81)

Екстраинтестиналне манифестације ЦБ

Екстраинтестиналне манифестације ЦБ јављају се чешће у старије деце и одраслих и то у око 60% случајева. Међутим, клиничке манифестације се разликују у ове две старосне групе. Неке од екстраинтестиналних манифестација у деце су: губитак тежине, умор, ниска телесна висина и кашњење у пубертету. Насупрот томе, на пример анемија услед недостатка гвожђа, чешћа је манифестација у одраслих. Такође, у деце постоји бржа ремисија обољења и повлачење симптома након увођења исхране без глутена у односу на одрасле. Субклиничко и екстраинтестинално испољавање ЦБ, најчешћи су узрок кашњења у дијагнози и то у просеку од једне године у деце и више од четири године код одраслих (80).

1. Успорен раст и развој/ниска телесна висина

Ниска телесна висина може да буде изолована почетна манифестација ЦБ. То је једна од најчешћих екстраинтестиналних манифестација ЦБ у деце и јавља се од 10 до 40%

случајева, углавном у млађе деце. Такође, присутно је и кашњење у коштаном зрелости, нормалан или смањен одговор на стимулацију хормоном раста и нижи ниво инсулину-сличном фактору раста-1 (*IGF-1*). Поред тога могу се јављати и други симптоми, као што су: хронични умор, поремећаји понашања, попут иритабилности, као и смањен успех у школи. Пацијенти млађег узраста добро реагују на безглутенску исхрану, те успостављају убрзан раст, уколико се ЦБ дијагностикује пре пубертета.

2. Одложени пубертет и аменореја

Учесталост одложеног пубертета виђа се до 20% деце са ЦБ. Одложени пубертет настаје највероватније због хипогонадизма или хормонске резистенције, коју узрокује појава антитела против хормона и/или њихових рецептора, као и због малапсорпције. Ови пацијенти добро реагују на безглутенску исхрану, а знаци пубертета се јављају у року од 6–8 месеци.

3. Хронична анемија услед недостатка гвожђа

Апсорпција гвожђа се дешава у проксималном делу танког црева, који је најчешће захваћен у ЦБ, што објашњава анемију услед недостатка гвожђа (Fe). Преваљенција у деце износи око 15%. Већина деце са ЦБ има благу анемију, а она може да буде и једина манифестација ЦБ, посебно у старије деце. Анемија услед недостатка Fe и низак феритин, могу бити једини показатељ у асимптоматског облика ЦБ. Такође, може бити присутан и недостатак витамина B12 и фолне киселине. Могући су други механизми развоја анемије, нпр. због дефицита цинка. Увођење безглутенске исхране и суплементацији препаратима Fe, обнавља своје залихе гвожђа у року од 12 месеци.

4. Повишење серумских трансаминаза

Повећање серумских трансаминаза се јавља у око 10% пацијената са ЦБ у дечијем узрасту, а обично је у корелацији са серолошким вредностима антитела за ЦБ и степеном атрофије танког црева у ХП налазу. Оштећење дуоденума узрокује повећану интестиналну пермеабилност, која за последицу има продор и преципитирање анти-ТТG антитела у јетри, која делују хепатотоксично. Понекад поремећена функција јетре, се испољава и коагулопатијом због смањене апсорпције К-витамина. Исхрана без глутена доводи до нормализације нивоа јетрених трансаминаза у деце до 95% у року до једне године (80).

5. Манифестације ЦБ које се јављају у усној дупљи

Најчешће се јавља дефект зубне глеђи, који је присутан од 10 до чак 90% случајева деце са ЦБ, а захвата најчешће секутиће и кутњаке на симетричан начин. Од осталих оралних манифестација у ЦБ се могу да се јаве и друге промене, као што су: рецидивантни афтозни стоматитис, *lingua geographica*, атрофични глоситис, *cheilitis*, *lichen planus* (80, 82).

Дерматолошке манифестације ЦБ

Инциденција дерматолошких манифестација је око два пута чешћа у жена (39%) у поређењу са мушкарцима (18%). Најчешћи дерматолошки налази су: атопијски дерматитис (17%) и ксероза (10%). Промене на ноктима: леуконихија и заноктице се јављају у око 4% пацијената. Кожне аутоимуне болести повезане са ЦБ укључују: дерматитис херпетиформис (DH), алопецију ареату, васкулитис коже, линеарни

имуноглобулин А дерматитис, дерматомиозитис, витилиго, кожни лупус еритематозус, *lichen sclerosus* и псоријазу (82).

1. Атопијски дерматитис, хронична уртикарија и ЦБ

Атопијски дерматитис има већу преваленцију и инциденцију у аутоимуним болестима, укључујући и ЦБ. Пацијенти са атопијским дерматитисом су показали повећан ризик за развој ЦБ (82).

Неке од кожных манифестација, као што су нпр. хронична идиопатска уртикарија у ЦБ, се смањују или нестају након увођења безглутенске исхране (83).

2. Дерматитис херпетиформис- ДН и ЦБ

Дерматитис херпетиформис углавном погађа старију децу и одрасле и најчешће се јавља у атипичних облика ЦБ. Гастроинтестинални симптоми су ретки код пацијената са ДН, али неки облик ентеропатије у ХП налазу БТЦ, може бити присутна у око 70% пацијената (80). Типично за ДН, су лезије које се развијају симетрично на екстензорским површинама лакта (90%), колена (30%), рамена, средњој линији леђа, глутеалног и сакралног подручја. Понекад су укључене и друге локације, попут капилицејума, лица и врата. Епидермална трансглутаминаза TG-3, а не TG-2, главни је ауто-антиген у ДН и може објаснити зашто се кожные манифестације јављају код дела пацијената са осетљивошћу на глутен. Патогномично је стварање гранулираних IgA депозита у кожи. Иако нису детектована циркулишућа ауто-антитела специфична за компоненте кожног базалног слоја коже или друге адхезионе структуре, пацијенти са ДН имају IgA анти-TG-2 и анти-TG-3 позитивна антитела. Иако имају високу позитивну предиктивну вредност, само позитивност анти-TG2 није довољна за дијагнозу ДН, јер позитивност може бити и лажна. С друге стране, TG2 негативност не искључује могућност ДН (80). Антиендомизијумска антитела (ЕМА) су од великог значаја за дијагнозу ДН.

3. Алопеција ареата и ЦБ

Алопеција ареата се јавља у пацијената са ЦБ, али може бити и секундарна последица дефицита цинка, узрокованог малапсорпцијом. Дефицит цинка у пацијената са ЦБ је повезан са крустозним и еритематозним-сквамозним дерматитисом. У пацијената са дефицитом цинка виђају се још: стоматитис, баланитис, вулвитис и проктитис (80, 83).

4. Остале кожные манифестације у ЦБ:

Инфламаторни поремећаји повезани са ЦБ су псоријаза и *pityriasis rubra pilaris*, као и витилиго (82).

Зглобови, мишићно-скелетни и скелетни поремећаји и ЦБ

Као пропратни симптоми у ЦБ се могу јавити: артралгија, артритис и миопатије. Патолофизиологија мишићно-коштаног система у ЦБ није потпуно разјашњена, а увођењем безглутенске исхране, симптоми се понекад не повлаче у потпуности.

Приближно 75% педијатријских пацијената има остеопенију (ниску густину костију), док 10–30% има остеопорозу (кртост костију). Узрок је посредан, низак ниво витамина Д, који поспешује секрецију паратхормона, а за последицу има повећано отпуштања калцијума из костију, узрокујући остеопенију и остеопорозу (80)

Удруженост ЦБ са другим болестима и ЦБ породични ризик

1. Селективни IgA дефицит и ЦБ

Селективни дефицит IgA антитела дефинише (IgAD) се уколико је вредност укупног IgA мања од 0,07 mg/l. Удруженост са ЦБ износи од 2% до 10%, зависно од популације пацијената (84, 85).

2. Аутоимунске болести и ЦБ

Diabetes mellitus тип 1 (DM-тип1): серопреваленција ЦБ у DM-тип1 износи од 11% у деце и око 4% у одраслих, на супрот општој популацији која износи око 1% (78, 86).

3. Аутоимунски хепатитис (АИХ) и ЦБ: преваленција ЦБ у АИХ износи око 3,5% (87).

4. Инфламаторне цревне болести (*Inflammatory bowel disease*) – IBD (UC и M. Crohn) и ЦБ

Када је реч о преваленцији ЦБ у IBD, зависи како ову појаву посматрамо. Уколико посматрамо појаву ЦБ у IBD, она износи око 1% (биопсијска преваленција), а иста је и за UC и M. Crohn. Значи, биопсијска преваленција је нешто већа у односу на нормалну популацију, која износи од 0,6% до 0,8%. Међутим, уколико посматрамо ствари обрнуто, појава IBD у ЦБ, преваленције је око 2%. Закључак је да је ЦБ већи ризик фактор за настанак IBD него што је IBD за настанак ЦБ (88).

Блиски рођаци и ЦБ

Преваленција ЦБ била је највиша код браће и сестара и износи 8,9%, затим код првог колена потомства (деца) 7,9% и родитеља 3,0%. Жене имају већу преваленцију у поређењу са мушкарцима (8,4% наспрам 5,2%). Сестре и ћерке болесника имали су највећи ризик од развијања ЦБ, са ризиком од 1:7 за сестре и 1:8 за ћерке. Ризик за синове био је 1:13, за браћу 1:16, за мајке 1:32, и за очеве 1:33. Ова преваленције зависи и од географске локације (89, 90). Због високе преваленције код блиских рођака првог степена са ЦБ, препоручено је како серолошко испитивање, тако и HLA типизација.

Sy Down: особе са Sy Down имају 16-18 пута већу преваленцију за настанак ЦБ у односу на нормалну популацију (91).

ЦБ и неуролошке компликације

Веза ЦБ са неуролошким и психијатријским компликацијама уочена је шездесетих година прошлог века. Пацијенти осетљиви на глутен могу да имају низ неуролошких и психијатријских компликација. До 20% пацијената са ЦБ може да има и неке од неуролошких Или психијатријских поремећаја, а чак до 50% особа са неуролошким поремећајима непознатог порекла, могу имати позитивна антиглијадинска антитела (AGA) (92). Неуролошки симптоми су чешћи код деце са ЦБ, него у одраслих особа. Главобоља је најчешћи неуролошки симптом и виђа се у око 18% пацијената и добро реагује на безглутенску исхрану. Други неуролошки симптоми укључују периферну неуропатију и епилептичне нападе, који се обично побољшавају на исхрани без глутена.

Антиглијадинска антитела (AGA), заједно са недостатком хранљивих материја попут витамина Б12, Е и Д, могу имати улогу у неуропатији. Ови симптоми могу бити присутни у деце чак и у одсуству ентеропатије, што сугерише на друге механизме, попут укрштених реакција између антитела на глијадин и синапсин (80).

1. Епилепсија и ЦБ

Епилепсија (ЕПИ) је још једна документована компликација ЦБ. Клиничка слика обично укључује специфичне промене, калцификацију окципиталног региона мозга и ЕПИ нападе који потичу из различитих региона мозга (80, 92).

2. Глутенска атаксија и ЦБ

Глутенска атаксија се карактерише позитивним антителима на глијадин, променама у церебелуму и атаксичним симптомима. Промене у церебелуму на постморталном испитивању укључују губитак Пуркињијевих ћелија са атрофијом церебелума и Бергмановом астроцитозом (80, 92).

Психијатријске компликације и ЦБ

Најчешће су анксиозни и депресивни поремећаји, поремећај расположења, хиперактивност са поремећеном пажњом (АДХД), поремећаји аутистичног спектра (ПАС) и схизофренију. Постоје лимитирана истраживања у повезаности ЦБ и већине психијатријских поремећаја.

1. Депресија и поремећаји расположења и ЦБ

Једно истраживање је открило да пацијенти ЦБ у каснијој фази болести могу да испоље симптоме депресије, али не и биполарне поремећаје, у поређењу са особама без ЦБ (92).

2. Поремећаји аутистичног спектра (ПАС) и ЦБ

За сада није утврђена јасна узрочно последична веза између ПАС и ЦБ. У последњих неколико година, нека истраживања су подржала доказе о повећаној интестиналној пермеабилности црева, која за последицу има и повећану имунску реактивност, која се испољава у повећаној преваленцији AGA-IgG и DGP-IgG у пацијената са ПАС, у поређењу са здравом популацијом. Такође, у поређењу са контролним групама особе са ПАС и њихови чланови породице имају повишену интестиналну пермеабилност у великом проценту. Пацијенти са ПАС, који су били на безглутенској исхрани и исхрани без казеина, имали су бољу контролу интестиналне пермеабилности у поређењу са пацијентима на нормалној исхрани са глутеном. Такође, утврђено је у појединих пацијената са ПАС, присуство антитела против Пуркињијевих ћелија и AGA. (92). За сада не постоји препорука за рутинско тестирање пацијената са ПАС на ЦБ (AGA и анти-TTG). Међутим, уколико пацијенти са ПАС показују трајне типичне и/или атипичне гастроинтестиналне манифестације треба их тестирати на ЦБ, узимајући у обзир да "бол" као симптом може да буде присутан и као симптом само у оквиру ПАС (93).

3. Схизофренија и ЦБ

Схизофренија је чешће повезана са ЦБ у односу на остале психијатријске поремећаје. Почетком шездесетих година прошлог века, примећено је да деца са схизофренијом имају склоност за развој ЦБ, а такође преваленција шизофреније је била нижа у подручјима с мањом заступљеношћу житарица у исхрани. Такође, је утврђено да исхрана без глутена убрзава опоравак пацијената са схизофренијом. Ови пацијенти су били двоструко брже отпуштени из болнице, од оних који нису били на дијети без глутена.

Такође, примећено је да се у ових пацијената опоравак поремети, када се глутен поново уведе у исхрану.

Претпостављени ефекти неуролошких и психијатријских компликација:

Анти-глијадинска антитела (AGA): недавна истраживања на мишевима и ефекту различитих AGA антитела утврдила су неке значајне резултате који могу помоћи у разјашњењу улоге неуролошких манифестација и њиховог односа према AGA.

Ткивна трансглутаминаза-6 (TG6): могућа је унакрсна реактивност између епитопа Пуркињијевих ћелија и пептида глутена. Недавно је идентификована и ткивна трансглутаминаза-6 (TG6). Слична је TG2, повезана је са ЦБ, као што је и TG3, повезана са ДН, али се углавном испољава у одређеном подскупу неурона у ЦНС-у. Преваленција анти- TG6 антитела, је већа у пацијената са ЦБ са симптомима ентеропатије (80, 92).

Серотонински ефекат

Интолеранција на глутен може да има утицај и на функцију серотонина. Уочено је да већина адолесцената са ЦБ, који испољавају симптоме депресије, имају ниске нивое слободног триптофана. Безглутенска дијета се показала као ефикасна у побољшању депресивних симптома. Након једне године на безглутенској дијети, пацијенти са ЦБ имали су значајан пораст концентрација главних метаболита серотонина и допамина. Ова теорија сугерише да су *L-tryptofan* и серотонин можда укључени у патофизиолошку везу између имунолошких реакција изазваних глутеном и психијатријским коморбидитетом (92).

1.11. ТЕРАПИЈА ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ

Безглутенска исхрана

Критичан корак у патогенези ЦБ је уношење глутена, односно његове фракције глијадина. Глијадин је отпоран на протеолитичко разлагање од стране желудачних, панкреасних и интестиналних протеаза, због високог садржаја пролина (94). Такође, улога микробиоте и/или вирусних/бактеријских инфекција, доводи се у везу са поремећајем имунолошке толеранције на глутен (95).

У овом тренутку једини основни вид лечења ЦБ је трајна (доживотна) безглутенска дијета (*gluten free diet - GFD*) (95, 96, 97, 98). Међутим, *GFD* има своје недостатке који се испољавају у свакодневном животу. Строго придржавање *GFD* има значајне финансијске и социјалне последице. Осим тога, потпуни опоравак слузокоже танког црева се не постиже у једног броја пацијента са ЦБ, иако су без симптома обољења (98). Избегавање уноса глутена у свакодневном животу је веома тешко, јер се глутен налази у многим намирницама као што су на пример: јогурт и замрзнута риба или индустријским производима, на пример: паста за зубе и кармин. Глутен је латинска реч за "лепак" (*glue*), а његова вискоеластична својства чине га изузетно привлачним за прехранбену индустрију. Уклањање глутена мења физичка својства и трајност хране (99). Чак и пацијенти који се стриктно придржавају *GFD*, често се сусрећу са проблемом да утврде садржај глутена у комерцијалним производима. Ова чињеница постаје посебно важна када се узме у обзир да елиминација глутена из свакодневне исхране захтева смањење са >10 g/дан на < 10 mg/дан, који представља безбедни дневни праг глутена, према

смерницама за лечење ЦБ (100). Хронична изложеност малим количинама глијадина може изазвати дозно зависно испољавање симптома ЦБ на пример: 10 mg глијадина дневно узрокује минималне промене у хистопатологији танког црева, док је конзумирање више од 50mg дневно показало значајне промене у хистоморфологији слузокоже дуоденума. Међутим, дебата о толерабилном прагу уноса глутена и даље је контроверзна. Дијета је ефикасна само уколико се пацијенти придржавају ове исхране (98, 101). Други проблем је социјални моменат. Излазак на ручак или вечеру може бити изазов, јер је тешко контролисати контаминацију хране глутеном, што може довести до социјалне изолације, анксиозности и смањења квалитета живота (100, 102). Исхрана *GFD* може бити заморна за пацијенте са ЦБ, нарочито у периоду адолесценције када постоји повећано кршење ове дијете. Томе доприноси и укус саме хране, иако је прехранбена индустрија направила значајан напредак током времена (100). Још једна препрека *GFD* је нехотична контаминација глутеном у храни. У просеку 70–80% пацијената који се придржавају *GFD*, сусреће се са контаминацијом глутена у исхрани, са просечним изложеношћу глутену у исхрани од око 150 mg/дан, што је много више од сматране безбедне количине до 10mg/дан и више од прага – 50 mg/дан, а који може изазвати мукозну атрофију. Треба напоменути да је садржај глутена у типичној западној исхрани око 15–20 g/дан (99). Такође, финансијски момент је препрека у провођењу *GFD*. У многим земљама ово се решава финансијском подршком пацијентима (100). Иако је прехранбена индустрија покушала да безглутенске производе учини укуснијим, повратне информације од многих пацијената са ЦБ, често укључују смањено задовољство, повезано са уношењем производа без глутена у поређењу са храном која садржи глутен. Такође, цена може бити битан фактор, јер укусни производи могу да буду још скупљи. Због свега наведеног кршење *GFD* се креће у свету од 8% до 59% у пацијената са ЦБ (99, 100). У Великој Британији, према једном истраживању, 40% пацијената са ЦБ је било незадовољно *GFD* због наметнутих дијететских и социјалних ограничења, као и већих трошкова и понекад мање пријатног укуса безглутенских намирница. (97). У мање од 50% пацијената са ЦБ постиже се дугорочно придржавање *GFD*. Дијететски режими су најмање привлачне медицинске стратегије, будући да су један од режима лечења са најнижом стопом придржавања, за разлику од лекова који имају највишу стопу придржавања (100). У складу са тим, током последњих неколико година постоји све већи интерес за алтернативне опције лечења (94).

Нове потенцијалне терапије у лечењу ЦБ

1. Терапије засноване на модификацији глутена: модификација хране
4. Генетска модификација
5. Пробиотска терапија
6. Терапија ендопептидазама - Латиглутен (некадашњи АЛВ003)
2. Имуномодулаторна терапија: екстралуминална
7. Терапија цревним паразитима (<i>Necator americanus</i>)
3. Терапија модулацијом интестиналне пермеабилности: екстралуминална
8. Ларатозил ацетат (АТ-1001)
4. Терапија регулацијом адаптивног имунског одговора: интралуминална
9. Инхибитори TG2 (ЗЕД 1227)
10. HLA-DQ2/DQ8 блокатори
5. Терапија усмерене на ћелије имунолошког система: интралуминална
11. Антагонист IL-15 (АМГ 714)
6. Вакцина за ЦБ:
12. NexVax2
7. Остале терапије:
13. Анти TNF α терапија: Инфликсимаб и Адалимуаб
14. Анти интегрин $\alpha 4 \beta 7$: Ведолизумаб
15. Трансплантација коштане сржи (за рефрактерни облик ЦБ)
16. Терапија матичним ћелијама (за рефрактерни облик ЦБ)
17. Друга биолошка терапија у експерименталној фази

Терапије засноване на модификацији глутена пре уноса у организам**Генетски модификована пшенична зрна и претходно третирана брашна**

Варијанте пшенице које се тренутно користе сматрају се имуногенијим од древних или “дивљих” варијанти попут тритордеума или тритикума. Постоје генетски модификоване диплоидне врсте пшенице у којима потпуно недостају или имају ограничену количину имуногених пептида глутена, али су ове врсте тешке за узгајање (97). Генетски модификована пшеница (*Triticum aestivum*) има имунотоксична својства која су кодирана хромозомима 1 и 6. Манипулацијом ових гена смањују се имунотоксичне компоненте глутена. Уклањање гена са хромозома 1, који кодирају β , γ и ω глијадинске фракције, токсичност је ублажена, док су механичка својства пшенице остала нетакнута (98). Генетска модификација, може да промени и сама гастрономска својства пшенице. Међутим, још увек није пронађена варијанта пшенице која је сигурна и погодна за комерцијалну производњу.

Проламини и друге варијанте пшенице, такође су тестирани у пацијената са ЦБ. Иако је варијанта, формирана уклањањем претежно токсичних епитопа у глијадину, забележено је повећање проинфламаторних цитокина, попут INF- γ и TNF- α .

Псилијум је недавно проучаван као могућа замена за глутен, јер минимално утиче на мирис или текстуру пшенице, док задржава одговарајућа пекарска својства. Хлеб направљен од псилијума оцењен је високо, како од стране пацијената са ЦБ, тако и од стране особа које немају ЦБ, због своје текстуре и укуса (98, 103).

Пробиотици

Као терапијска мера разматра се и употреба различитих пробиотика, попут Лактобацила (*Lactobacillus*). Лактобацили поседују пептидазе, које када се додају киселом тесту за ферментацију, могу хидролизovati глутаминске и пролином-богате глутен пептиде. Пацијенти који су јели хлеб направљен са квасцем развили су повећану интестиналну пропустљивост, што се мерило повећаним излучивањем угљених хидрата као што су лактулоза и рамноза, док пацијенти који су јели хлеб претходно третиран са Лактобацилима нису показали никакве промене у интестиналној пропустљивости (97).

Хемијски и термички обрађена пшеница

Још један терапијски приступ који се тренутно тестира у претклиничким студијама, је инкубација глијадина са анти-ТТГ и лизин-метил естром. Као резултат, лизином модификовани глијадин губи свој афинитет за HLA-DQ2, што доводи до смањене активације интестиналних Т-лимфоцита. (97).

Термички обрађена пшеница, коришћењем микроталаса, може да смањи њену имуногеност за 99%. Међутим, конзумирање хлеба направљеног од овако обрађене пшенице, иако није довело до појаве симптома ЦБ, на ХП налазу је показало и даље оштећење слузокоже танког црева (98).

Имуномодулаторна терапија – екстралуминална

Ендопептидаза

Латиглутен (некадашњи АЛВ003) је комбинација АЛВ001, ендопептидаза која потиче из ендосперма клијања јечма, и АЛВ002, пролин ендопептидазе из *Sphingomonas capsulata*. АЛВ003 је показао способност смањења оштећења слузокоже танког црева изазваног глутеном код пацијената са ЦБ, који су били подвргнути шестонедељном оптерећењу глутеном. У ових пацијената није забележено значајно оштећење слузокоже танког црева, у поновљеним биопсијама дуоденума у групи пацијената са ЦБ, која је примала АЛВ003, што представља обећавајуће откриће (94).

Цревни паразити - Инфестација кукурузном глистом (*Necator americanus*)

Према "хипотези о хигијени", недостатак раног излагања цревним паразитима у детињству створио је предиспозицију за развој аутоимуних болести у развијеним земљама. Инфестација цревним паразитима помаже у регулисању имунолошког система у спречавају аутоимуних и алергијских болести (94). Инфестација кукурузном глистом, може изменити имунолошки одговор Th1, што помаже у контроли различитих аутоимунских болести, као што су IBD и ЦБ. Након инфестације са *N.Americanus* и увођења глутена у исхрану, нису примећена значајнија хистопатолошка оштећења слузокоже танког црева. Такође, забележено је и смањење нивоа анти-ТТГ антитела. Ово сугерише да дуготрајна инфестација цревним хелмитима, помаже у спречавању имунолошког одговора на глутен без већих нежељених ефеката (94, 97).

Терапија модулацијом интестиналне пермеабилности – екстралуминална

Модулятор зонула оклуденс : Ларазотид ацетат

Ларазотид ацетат (АТ-1001) је синтетисани октапептид, који је изведен из токсина зонуле оклуденс који лучи *Vibrio Cholerae*. Зонулин је структурно сличан токсину зоне оклуденс *Vibrio Cholerae* и понаша се као контролор епителне пермеабилности. У зонулинском путу, глијадин се везује за хемокин рецептор *CXCR3* на луминалном делу интестиналног епитела. На тај начин *CXCR3* повећава формирање зонулина, што релаксира интерепителне везе зонуле оклуденс пута (99, 103). Ларазотид ацетат делује тако што побољшава интегритет зонуле оклуденс, спречавајући пермеабилност изазвану глијадином, смањујући на тај начин упалу танког црева (94, 97). Третман са АТ-1001 је у корелацији са симптоматским побољшањем након уноса глутена, а посебно добар одговор је био у пацијената са симптомима дијареје повезане са уносом глутена (98).

Терапија регулацијом адаптивног имунског одговора – интралуминална

Инхибитори TTG – ЗЕД 1227

Ензим ткивне трансглутаминазе (TTG) игра фундаменталну улогу у патогенези ЦБ јер је повезан са повећаном транс ћелијском пропустљивошћу за глијадинске пептиде (97, 98). Инхибиција интестиналних TTG спречава деаминацију глутенских пептида и спречава нежељени имуни одговор CD4 Т лимфоцита на интестинални епител (92, 104). Ова инхибиција TTG показала је да имуна активација индукована глутеном, није присутна *in vitro* и *in vivo* у интестиналним биопсијама пацијената са ЦБ, а додатна испитивања су показала да смањује ентеропатију у анималним моделима (99). Фаза II клиничког испитивања има за циљ да покаже заштитни ефекат ЗЕД 1227 током 6-недељног уноса глутена са дневним уносом од 3 грама глутена, односно смањено је оштећење цревне слузокоже у пацијената са ЦБ, као и да је дошло до значајног побољшања у мереном односу висине вилуса и дубине крипти (95). Познато је да је ензим повезан са патогенезом не само ЦБ, већ и неких карцинома и Паркинсонове, Алцхајмерове и Хантингтонове болести; стога се инхибитори TTG испитују у многим од наведених обољења (103). Ови подаци чине инхибиторе TTG обећавајућим лековима, који треба да буду предмет даљих студија. (105).

HLA-DQ2/HLA-DQ8 блокатори

Преко 99% пацијената са ЦБ имају HLA-DQ2/DQ8 антиген. У генетској predispoziciji, HLA-DQ2 и HLA-DQ8 игра кључну улогу у индукцији имунолошког одговора на глијадин. HLA-DQ2/8 индукује CD4 Т лимфоците да препознају антигенске пептиде глутена. Један од могућих терапијских приступа је блокада HLA-DQ2/8 молекула (94, 98). Деаминирани глијадински пептиди имају висок афинитет за везивање са HLA-DQ2 или DQ8 који се налазе на мембрани АПЦ. HLA блокатори спречавају интеракцију са АПЦ, а које презентују имуногене епитопе глутена користећи своје MCH II лиганде који су део HLA система, Т ћелијским рецептором на CD4+ Т-helper лимфоцитима. То доводи до спречавања имунотоксичног каскадног процеса, који је део адаптивног имунитета у ЦБ. Модификовани глутенски пептид показао је већи афинитет за HLA-DQ2 у поређењу с природним глутенским пептидима, али се сматра недовољним за значајно потискивање активације реактивних Т лимфоцита у цреву у пацијената са ЦБ. (94). Орална примена омогућава да блокатор допре до интестиналног епитела у пацијената са ЦБ. Међутим, није познато да ли овај тип HLA-DQ2/DQ8 блокатора може допрети до своје мете у ламини проприји. Такође, није познато какве nuspojave може да

изазове, као што су: реакције преосетљивости или потенцијална имуносупресија, узрокујући секундарне инфекције (97).

Терапије усмерене на ћелије имунолошког система - Антагонисти IL-15

Интерлеукин -15 (IL-15) је цитокин који регулише активацију и пролиферацију Т лимфоцита и *natural killer* (NK) лимфоцита [94, 98]. Молекул IL-15 је један од главних проинфламаторних цитокина који су укључени у развој ЦБ и њен напредак ка рефракторној ЦБ (РЦБ) (95, 106). Синтетише се у танком цреву од стране АПЦ и епителних ћелија и зато је присутан у великој количини у интестиналној мукози код пацијената са ЦБ. Осим тога, сматра се главним фактором у активацији и пролиферацији ИЕЛ, који су претежно CD8 лимфоцити, а који су одговорни како за апоптозу ентероцита, тако и за вилусну атрофију, главну хистопатолошку карактеристику у ЦБ (99, 100, 107). АМГ 714 је хумано имуноглобулинско моноклонско антитело које инхибира функцију IL-15 и блокира IL-15 индиковану пролиферацију Т-ћелија (107). Резултати су показали знаке побољшања клиничких симптома, посебно дијареје (95). Тофацитиниб је инхибитор пан-ЈАК који блокира IL-15. Одобрен је од стране FDA и за третман реуматоидног артритиса. (94).

Вакцине за ЦБ

Хиперсензибилизација је добро позната терапија за алергијске болести и потенцијални терапијски приступ и код аутоимуних болести. Вакцине се сада тестирају и за десензибилизацију. Као примери, наводе се терапија дендритичких ћелија код мултипле склерозе и у случају ЦБ, вакцину на бази пептида названу *NexVax2*. Циљ вакцине је комплекс HLA-DQ2 (94). Вакцина је заснована на скупу глутенских пептида, који могу десензибилизацијом повећати толеранцију на ове пептиде. У трансгеним моделима мишева HLA-DQ2, поновно давање одабраних имуногених глијадинских пептида потискивало је пролиферацију Т-ћелија и смањивало проинфламаторне цитокине, попут IL-2 и INF- α . Десензибилизујућа вакцина се састоји од три имуногена пептида глутена из пшенице, јечма и ражи. Развијена је као имуно-терапијско и профилактичко средство за обнављање толеранције на глутен. Након прве дозе, ова вакцина даје пролазне гастроинтестиналне симптоме, који су подсећали на оне повезане са оралним уносом глутена, а јављају се два до пет сати након почетне дозе. Вакцина је давана два пута недељно, интрадермално, током осам недеља. Ова доза модификовала је имунолошки одговор без погоршања хистопатолошког налаза на дуоденуму (98). Иако за сада вакцина за ЦБ представља нови терапијски концепт, она није уврштена у терапију за РЦБ (105).

2. ЦИЉЕВИ РАДА

- 1. Испитати поузданост трансглутаминских антитела као основних неинвазивних серолошких дијагностичких параметара у дијагностици целијачне болести (ЦБ).**
- 2. Испитати поузданост типизирања хуманог леукоцитног антигена (HLA) DQ2/DQ8 као допунске методе у комбинацији са серолошким и хистопатолошким поступцима у дијагностици ЦБ**
- 3. Испитати корелацију хистопатолошког налаза биопсије танког црева са вредностима трансглутаминских антитела код деце са сумњом на целијачну болест.**

Хипотезе испитивања:

1. Трансглутаминска антитела (анти-TTG) имају високу поузданост као основни серолошки дијагностички параметар у дијагностици ЦБ.
2. Типизирање хуманог леукоцитног антигена (HLA) DQ2/DQ8 је поуздан допунски метод, уколико се користи у комбинацији са серолошким и хистопатолошким поступцима у дијагностици ЦБ
3. Инвазивна дијагностика ЦБ може бити избегнута код већине болесника са клиничком сумњом на целијачну болест, уколико је дијагноза са високом прецизношћу постављена на основу серолошких параметара у комбинацији са налазом типизирања HLA- DQ2/DQ8.

3. МЕТОДОЛОГИЈА ИСТРАЖИВАЊА

3.1. Врста студије

Истраживање ће бити реализовано по типу опсервационе ретроспективне кохортне студије.

3.2. Популација која се истражује

Истраживачку популацију чиниће пацијенти узраста од 12 месеци до 18 година, лечени у Институту за здравствену заштиту мајке и детета Републике Србије „Др Вукан Чупић“ у Београду, током периода од јануара 2003. године до јануара 2023. године, а који су задовољили клиничке и лабораторијске критеријуме за укључивање у студију.

3.3. Критеријуми за укључивање у студију су следећи:

- а) пацијенти који имају најмање један гастроинтестинални клинички или лабораторијски налаз који побуђује сумњу на ЦБ: неинфективна дијареја трајања минимум месец дана, са најмање две неформирани столице дневно, користећи Бристол класификацију конзистенције столице; телесна маса пацијента испод 2 стандардне девијације у односу на доб (-2SD); хронична констипација резистентна на стандардну терапију омекшивачима столице дуже од 2 месеца; сидеропенијска анемија резистентна на терапију препаратима гвожђа у трајању најмање 2 месеца; пораст вредности серумских трансaminaза најмање два пута у односу на горње нормалне вредности за узраст без јасног узрока, функционални гастроинтестинални бол без јасног узрока у трајању најмање 3 месеца.

ИЛИ

- б) имају дијагностикована стања или обољења која су удружена са повећаним ризиком за ЦБ: Дефицит имуноглобулина А, Аутоимунски хепатитис, Кронова болест, *Diabetes Mellitus*-тип1, Даунов синдром.

Сви пацијенти из група означених са (а) и (б) морају имати спроведене следеће дијагностичке процедуре:

- 1) Утврђена концентрација анти-TTG IgA и IgG антитела пре започињања лечења, односно започињања безглутенске исхране.
- 2) Обављена биопсија слузокоже танког црева најкасније до 4 недеље од одређивања концентрације анти-TTG антитела.
- 3) Учињена HLA-DQ2/DQ8 типизација.

Критеријуми за искључивање из студије су следећи:

- а) дијета без глутена започета пре студијског испитивања
- б) повреда протокола истраживања.

3.4. Узорковање

Узорак пацијената за испитивање обухватиће све пацијенте Службе за гастроентерологију и хепатологију Института за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић“, који су у дефинисаном временском периоду задовољили претходно наведене критеријуме.

За ову студију постоји сагласност Етичког одбора установе у којој се истраживање спроводи, односно Института за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић“.

3.5. Варијабле које се мере у студији

а) Зависна варијабла:

- Хистопатолошки налаз према Маршовој (*Marsh*) класификацији атрофије слузокоже танког црева, односно хистопатолошка потврда дијагнозе целијачне болести.

б) Независне варијабле:

- Концентрација анти-TTG IgA и анти-TTG IgG антитела одређена пре започињања лечења, односно започињања безглутенске исхране
- Резултат HLA типизирања: позитиван или негативан налаз DQ2/DQ8 типизирања

в) Збуњујуће (*confounding*) варијабле:

- пол
- узраст
- коморбидитети: (дефицит имуноглобулина А, аутоимуни хепатитис, Кронова болест, *Diabetes mellitus*- тип1, као и евентуална друга хронична стања)

3.6. Снага студије и величина узорка

Испитаће се поузданост вредности транsgлутаминских антитела као неинвазивног параметра у дијагностици целијачне болести. На основу литературних података, минимална очекивана разлика у вредности транsgлутаминских антитела између особа са ЦБ и без ЦБ је 80%. За снагу студије (β) од 80% и α вероватноћу 0,05, израчуната величина узорка односно број пацијената које је неопходно укључити у ово истраживање износи најмање 170. За анализу је коришћен софтверски пакет *G Power*. Величина ефекта је утврђена на основу рада Сердар и сарадника из 2021. године у којем је дефинисан оптимални оквир релевантних параметара од интереса за клиничко испитивање овог типа.

3.7. Статистичка анализа

Сви статистички подаци биће анализирани користећи SPSS (IBM corp.) статистички софтвер. Подаци ће бити презентовани као вредности учесталости и медијане у зависности од типа. Хи квадрат (χ^2) тест и према потреби *Mann-Whitney U* тест ће се

користити за утврђивање разлике између група. *Spearman* корелација ће се користити да би се тестирале асоцијације између две варијабле. Дијагностичка прецизност ће бити презентована као сензитивност (Sn), специфичност (Sp), позитивна предиктивна варијабла (PPV) и негативна предиктивна варијабла (NPV). *ROC* анализа биће коришћена за одређивање *cut-off* вредности за анти-TTG антитела. Вредности p испод 0,05 сматраће се статистички значајним. Резултати ће бити презентовани табеларно и графички.

*Напомена: у овом раду, сходно савременој терминологији која се користи у гастроентерологији, користићу интернационалне скраћенице (које су изведене из енглеских речи, да би лакше пратили цео текст.

Скраћенице:

IBD- *inflammatory bowel disease* (упална болести црева)

IBS – *irritably bowel disease* (синдром нервозних црева)

GFD – *gluten free diet* (исхрана без глутена)

ULN – *upper limit normal* (горња граница нормале)

U/ml – *unit per mililitar* (јединица у милилитру)

4. РЕЗУЛТАТИ РАДА

4.1. Укупан број пацијената у студији

Укупно је испитано 184 пацијента узраста 1–18 година, према наведеним утврђеним критеријумима: урађено серолошко испитивање анти-TTG IgA i IgG, а према потреби антиендомизијумска антитела (ЕМА), урађена HLA-DQ2/DQ8 типизација, урађена је биопсија слузокоже танког црева, са најмање 4 узорка, и то 3 из Д2 порције дуоденума и 1 узорак из булбуса дуоденума.

Број пацијената који задовољава ове критеријуме, за студију са Или без ЦБ, приказан је у табели 1.

Табела 1. Укупан број пацијената укључен у студију са и без дијагнозе ЦБ

ЦБ	Број пацијената	%
ДА	104	56,52%
НЕ	80	43,48%
Укупно	184	100%

4.2. Узраст пацијената и ЦБ

Такође, у табели 2 приказана је и узрасна дистрибуција испитиваних пацијената, да би се утврдило, да ли постоји, одређен узраст пацијената, када се дијагноза ЦБ најчешће поставља.

Табела 2. Узраста дистрибуција пацијената у тренутку дијагностичког поступка због сумње на ЦБ

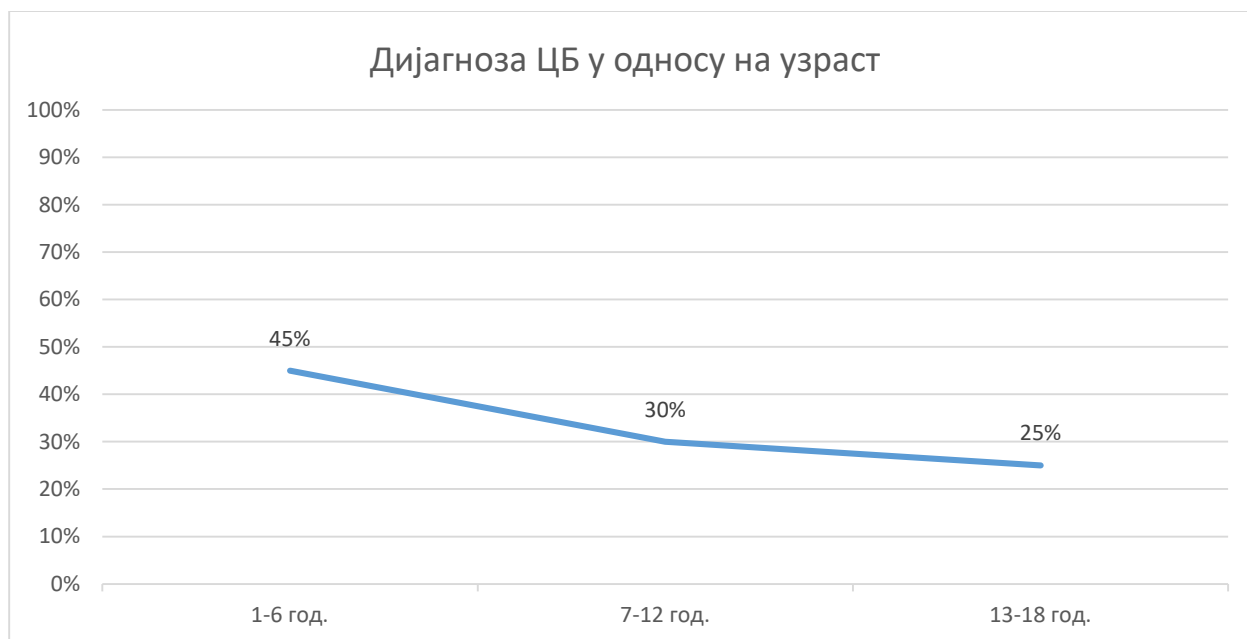
ЦБ							
Узраст пацијенат	1-3 год.	4-6 год.	7-9 год.	10-12 год.	13-15 год.	16-18 год.	укупно
ДА	29	17	19	12	12	15	104
НЕ	23	15	11	14	8	9	80
Укупно	52	32	30	26	20	24	184

Од укупног броја пацијената у којих је било неопходно провести допунско испитивање, а у којих је постављена сумња на ЦБ, као што се види у табели 2, највећи је испитиван у узрасту до треће године живота, односно 52 пацијента, што износи 28% од укупног броја свих испитиваних пацијената. ЦБ је била дијагностикована у 29 пацијената у овом узрасту, што процентуално, такође износи 28%.

Уколико ЦБ схватимо као болест чији се симптоми испољавају у раном детињству, до шесте године живота дијагностиковано је укупно у 45% пацијената, односно скоро једна половина од укупног броја пацијената. Након овога периода запажа се тренд постепеног

опadaња броја дијагностикованих пацијената са дијагнозом ЦБ, те она износи између 7-12 године живота око 30%, а у периоду који може да одговара почетку пубертета до осамнаесте године живота износи око 25%. Овај тренд приказан је на графикону 1.

Графикон 1. Тренд дијагностикованих пацијената са ЦБ у односу на узраст

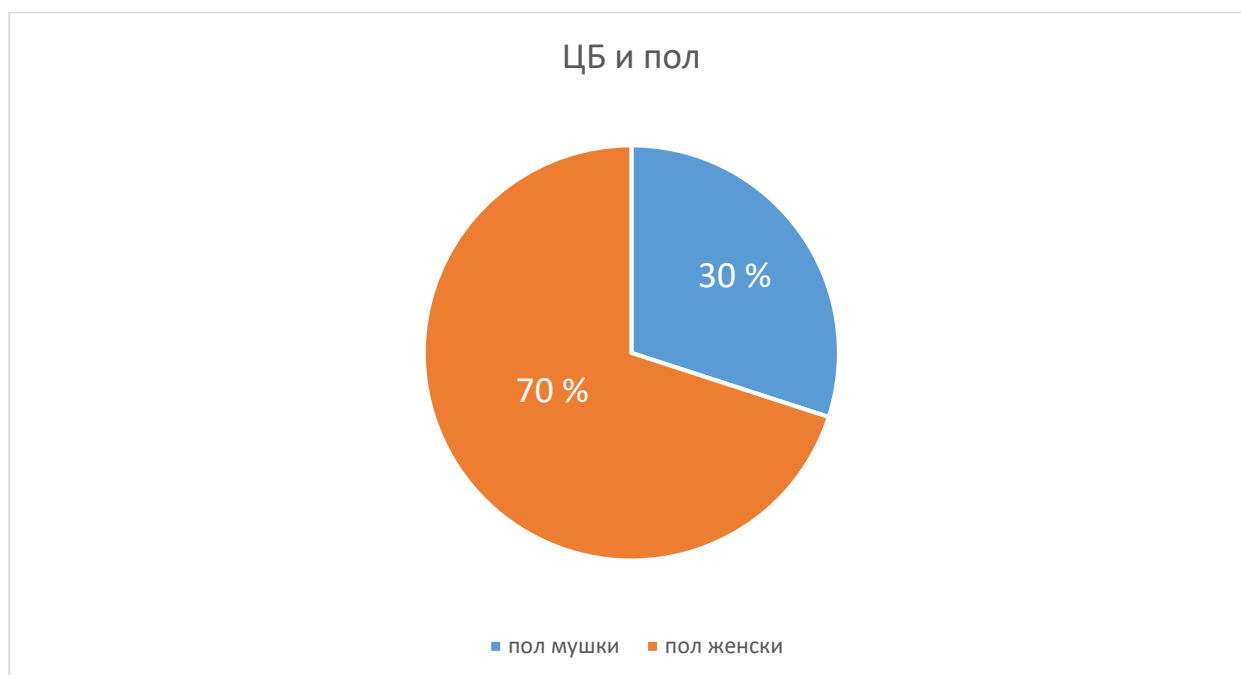


4.3. Пол пацијената и ЦБ

Испитана је полна дистрибуција свих пацијената који су укључени у ову студију. Добијени резултати приказани су у табели 3, а процентуални однос мушког и женског пола је приказан на графикону 2.

Табела 3. Полна дистрибуција испитиваних пацијената

ЦБ	Број пацијената	Пол мушки	Пол женски
ДА	104	31	73
НЕ	80	41	39
Укупно	184	72	112

Графикон 2. Пацијенти са дијагностикованом ЦБ у односу са пол

До сада су приказани општи подаци о пацијентима, који су били доступни за анализу, а у њу су били укључени и пацијенти са дефицитом укупног IgA антитела.

4.4. Дефицит укупног IgA антитела и ЦБ

Снижене вредности укупног IgA антитела се често виде у лабораторијским анализама и карактеристичне су за млађу педијатријску популацију, поготову у узрасту до 2 године живота. Да би се поставила прецизна дијагноза IgA дефицита (IgAD), без обзира за узраст, користили смо критеријум, да је концентрације IgA антитела једнака или мања од 0,07mg/l, без обзира на узраст пацијента. Такође, у свих пацијената, према смерницама ESPGHAN, уз анти-TTG IgA, одређивана је и концентрација укупног IgA антитела. Према критеријумима, у групи испитиваних пацијената, дијагностиковано је укупно 5 пацијената са IgAD. У три пацијента дијагностикована је ЦБ, а у преостала два, након дужег праћења дошло до нормализације анти-TTG IgG антитела, током времена, на нормалној исхрани, са уносом глутена. С обзиром на то, да је у свих пацијената са IgAD, вредност анти-TTG IgA била нула, ови пацијенти нису уврштени у статистичку обраду података, јер би овакав налаз могао да утиче и ремети статистичке анализе, као што су одређивање сензитивности и специфичности анти-TTG антитела, а то би посредно могло да утиче и на компарацију нивоа анти-TTG антитела и тумачења хистопатолошког налаза. Добијени подаци су приказани у табели 4.

Табела 4. Пацијенти са IgAD (укупни IgA $\leq 0,07\text{mg/l}$), анти-TTG IgA и IgG (U/ml)

ЦБ	пол	узраст	HLA	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	XII Марш
ДА	м	9	DQ2	0	>200	3с
ДА	м	16	DQ2	0	>200	3с
ДА	ж	17	DQ2	0	>200	3с
НЕ	ж	3	DQ2	0	0	0
НЕ	ж	1	DQ5	0	14	0

4.5. Кохортна група пацијената

Зато је формирана за потребе статистичке анализе нова кохорта пацијената, у коју нису уврштени пацијенти са IgAD. Кохортна група пацијената без IgAD, приказана је на табели 5.

Табела 5. КОХОРТНА ГРУПА - Укупан број пацијената у студији без пацијената са IgAD

ЦБ	Број пацијената	%
ДА	101	56,42%
НЕ	78	43,56%
Укупно	179	100%

Уколико упоредимо податке из табеле 1. и табеле 5. проценат пацијената у кохорти за статистичку обраду је остао готово идентичан (није статистички значајан), те ће се надаље сва обрада података односити на ову кохорту пацијената, како би се добила адекватна платформа за узајамно поређење свих параметара који су унети у статистичку обраду.

У нашој кохорти пацијената од (n=179) пацијената, ЦБ је дијагностикована у (n=101) пацијента. Сви параметри ових пацијената који су добијени и коришћени у статистичкој обради су приказани у табели 6.

Табела 6 : Збрини основни параметри пацијената коришћени у испитивању

	n (%) / med (25 th -75 th perc)
Узраст	7 (3-12)
Пол мушки - ДА	70 (39.1%)/69
ЦБ - ДА	101 (56.4%)
HLA-DQ2/DQ8 - ДА	133 (74.3%)
TTG IgA	44 (0-200)
TTG IgA вредности	
0-10	79 (44.1%)
11-50	16 (8.9%)
51-100	11 (6.1%)
>100	73 (40.8%)
TTG IgG	0 (0-48)
TTG IgG вредности	
0-10	95 (53.1%)
11-50	40 (22.3%)
51-100	15 (8.4%)
>100	29 (16.2%)
Марш (1 – 3) - ДА	113 (63.5%)
Марш	
0	65 (36.5%)
1	8 (4.5%)
2	2 (1.1%)
3а	21 (11.7%)
3б	20 (11.2%)
3ц	62 (34.7%)

4.6. Узраст пацијената (кохортна група) и ЦБ

Медијана за узраст у групи пацијената са дијагностикованом ЦБ износила је 7 година, односно 7.5 година за пацијенте без дијагнозе ЦБ. Уколико се упореде ове две групе пацијената није добијена статистички значајна разлика ($p=0.984$), што доприноси томе да су обе групе пацијената са или без ЦБ, упоредиве када је реч о узрасту. Подаци су приказани у табели 7.

Табела 7. Узрасна дистрибуција кохорте пацијената са и без ЦБ

	ЦБ		p value
	Да (n=101)	Не (n=78)	
Узраст медијана - године	7 (3-13)	7.5 (3-11)	0.984

4.7. Пол пацијената (кохортна група) и ЦБ

Када је реч о заступљености пола у пацијената са дијагностикованом ЦБ, постоји јасна статистички значајна разлика у корист женског пола ($p=0,001$), што је и једна од карактеристика ЦБ, поготову у педијатријском узрасту. Овакав налаз је у складу са досадашњим подацима из доступне литературе. У нашем испитивању ЦБ је 2,33 пута чешћа у пацијената женског пола, а износила је приближно 70%. Подаци су приказани у табели 8.

Табела 8. Полна дистрибуција дијагностикованих пацијената са ЦБ

	ЦБ		p value
	Да (n=101)	Не (n=78)	
Пол - мушки	29 (28.7%)	41 (52.6%)	0.001

4.8. Узраст испод 2 године живота и дијагноза ЦБ

Према напред наведеним подацима из литературе поједине студије указују на могући проблем уколико се у дијагнози ЦБ, у дијагностичком поступку користе анти-TTG антитела. Анализа је мање сензитивна и специфична у овом узрасту. Зато је предложено да се у деце испод 2 године живота уместо анти-TTG антитела у дијагностици користе AGA (DGP) антитела, која имају већу сензитивност и специфичност у овом узрасту. На основу овога намеће се закључак да употреба анти-TTG антитела у серолошкој дијагностици, очекивано има и мањи проценат дијагностикованих пацијената у узрасту мањем од две године живота.

У нашој групи пацијената коришћењем серолошке дијагностике: анти- TTG антитела уз HLA типизацију и ХП дијагностику, добијени су следећи подаци: у узрадној групи испод 2 године живота ($n=36$), ЦБ је потврђена у 58 % ($n=21$), а у групи старијој од 2 године живота ($n=142$), у 56% пацијената ($n=80$). Процентуално не постоји (или је занемарљива) разлика у успешности дијагностике у односу на узраст испод и изнад 2 године живота, уколико се у дијагностичком поступку користе анти-TTG антитела.

Табела 9. Дијагноза ЦБ у односу на узраст испод и изнад 2 године живота

ЦБ	Узраст		укупно
	≤2 године	>2 године	
ДА	21	80	101
НЕ	15	63	78
Укупно пацијената	36	143	179
%	58%	56%	p* N/A

У кохорти испитиваних пацијената, уочена је група од (n=26) пацијената, с претходно дијагностикованим ЦБ у узрасту до 2 године живота, на основу следећих дијагностичких параметара: позитивним антиглијадинским антителима (AGA) и/или лезијама Марш 3а, б у ХП налазу биопсије слузокоже танког црева, у којих је након периода од две године, рађено оптерећење глютену у периоду од 3-6 месеци. Такође, лезије Марш 3ц су сматране као коначна потврда ЦБ и ти пацијенти нису поново оптерећивани глютену. Увођењем нових серолошких анализа анти-TTG антитела и HLA типизације, као и ребиопсије слузокоже дуоденума, након оптерећења глютену 3-6 месеци ЦБ је потврђена у само (n=2) пацијената, који су испунили сва 3 критеријума за дијагнозу ЦБ, односно: позитивна серологија на анти-TTG, присутан HLA-DQ2/DQ8, Марш 3ц у ХП налазу. Следећих (n=6) пацијената умали су позитивну HLA-DQ2, HLA-DQ8 или HLA-DQ7.5, уз нормалан ниво анти-TTG и нормалан налаз биопсије слузокоже дуоденума, према Марш критеријумима (Марш 0). Ови пацијенти, су наставили нормалну исхрану и захтевали само периодичну проверу нивоа анти-TTG антитела. Остали пацијенти (n=18) су имали негативну HLA-DQ2/DQ8 типизацију и с обзиром на то отпуштени су из даљег праћења.

4.9. Аутоимуне болести и ЦБ

У кохорти пацијената са симптомима који одговарају ЦБ или су повезани са ЦБ, уочени су пацијенти са следећим аутоимунским дијагнозама: DM- тип1 (n=4) пацијената, са инфламаторном цревном болешћу (IBD): Кронова Болест (M. Crohn) (n=2) пацијента, аутоимунски хепатитис (АИХ тип I) (n=3) пацијента.

DM-тип1 и ЦБ

У кохорти пацијената испитивано је (n=4) пацијената, са DM- тип1. У свих пацијената је дијагностикована ЦБ, на основу критеријума који су постављени у овој студији. Овакав податак је очекујући из два разлога. У свих пацијената са DM- тип1 у стандардној дијагностици се ради скрининг за ЦБ, који подразумева одређивање укупног IgA антитела, као и нивоа анти-TTG антитела. У свих пацијената укључених у студију са DM-тип1, са позитивним анти-TTG IgA и/или IgG антителима, учињена је HLA типизација, а у случају присуства HLA- DQ2 и/или DQ8 и биопсија слузокоже танког црева.

IBD-M.Crohn и ЦБ

У оквиру студије у (n=2) пацијента постављена је дијагноза М.Crohn. Први пацијент у лабораторијским анализама је имао присутан HLA-DQ2 хаплотип, као и вредности анти-TTG IgA изнад 200 U/ml, и анти-TTG IgG између 50-100 U/ml. У овог пацијента су одређена ЕМА, која су била позитивна. Учињена је и биопсија слузокоже танког црева, а ХП налазом је дијагностикована тотална вилусна атрофија - Марш 3ц. Други пацијент је био је HLA- DQ2/DQ8 негативан, са умерено позитивним анти-TTG IgA (између 51-100 U/ml), али анти-TTG IgG негативним антителима, а хистолошке промене биопсије слузокоже танког црева указивале су на лезију Марш 1. С обзиром на негативну HLA-DQ2/DQ8 типизацију, није увођена GFD, а вредности анти-TTG IgA су се спонтано нормализовале, током даљег праћења. Налази оба пацијента са дијагнозом М.Crohn и ЦБ су приказани у табели 10.

Табела 10. ЦБ и М. Crohn вредности анти TTG IgA и IgG (U/ml), ЕМА антитела, HLA типизација DQ2/DQ8, ХП Марш

М.Crohn (n=2)	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	ЕМА	HLA DQ2/DQ8	Марш	ЦБ
1.	> 200	77	Позитивна (+)	DQ2	3ц	ДА
2.	51	Негативна (-)	Негативна (-)	Негативна (-)	1	НЕ

**Легенда:* зеленом бојом су истакнути негативни налази

ЦБ и Аутоимунски хепатитис тип I

У оквиру студије испитивана су три пацијента (n=3) са АИХ- тип1 и сумњом на ЦБ.У два пацијента са дијагностикованим АИХ тип 1 (n=2), оба пацијента су имала вредности анти-TTG IgA изнад 100 U/ml, као и присутан HLA-DQ2/DQ8 хаплотип. Међутим, оба пацијента су имала негативна анти-TTG IgG антитела, као и додатно урађена ЕМА. Хистопатолошким налазом БТЦ утврђена је нормална слузокожа танког црева (Марш 0). По започињању основног лечења болести АИХ, кортикостероидима и имуномодулаторном терапијом - азатиоприм, на нормалној исхрани са глутенем, вредности анти-TTG IgA су се спонтано нормализовале. Трећи пацијент (n=1) имао је у серолошким анализама о анти-TTG IgA и IgG изнад 200 U/ml, позитивна ЕМА, као и Марш 3ц лезије у ХП налазу. По започињању лечења основне болести АИХ, кортикостероидном и имуномодулаторном терапијом- азатиоприм, а с обзиром на раније искуство са прва два пацијента, сачекано је са увођењем безглутенске исхране краћи период око 1 месец, да би се потврдило, да ли ће доћи до спонтаног пада анти-TTG антитела. С обзиром на даље одржавање њихових високих вредности, као и присутан Марш 3ц у ХП налазу, започета је безглутенска исхрана, након које долази до постепеног пада и нормализације TTG антитела. У табели 11. приказане су лабораторијски и ХП налази ових пацијената са АИХ и сумњом на ЦБ.

Табела 11. ЦБ и АИХ тип 1

АИХ тип 1 (n=3)	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	ЕМА	HLA DQ2/DQ8	Марш	ЦБ
1.	150	Негативна (-)	Негативна (-)	Позитивна (+)	0	НЕ
2.	101	Негативна (-)	Негативна (-)	Позитивна (+)	0	НЕ
3.	> 200	169	Позитивна (+)	Позитивна (+)	3ц	ДА

*Легенда: зеленом бојом су истакнути негативни налази

4.10. HLA-DQ2/DQ8 и ЦБ

У свих пацијената укључених у ову студију урађена је HLA-DQ2/DQ8 типизација. У пацијената са дијагностикованом ЦБ (n=100) пацијената је било DQ2 и/или DQ8 позитивно. Од тога (n=97) пацијената је било носац DQ2 и/или DQ8 алела, (n=3) пацијента је носио DQ8 алела, а (n=1) пацијент је био HLA-DQ2/DQ8 негативан и то са HLA-DQ 7.5 хаплотипом. Тридесет и три (n=33) пацијента, у којих није дијагностикована ЦБ, била су носиоци HLA-DQ2/DQ8. Статистички је добијена високо значајна разлика ($p < 0.001$), да је HLA-DQ2/DQ8 присутан у ЦБ. Подаци су приказани у табели 12.

Табела 12. ЦБ и HLA-DQ2/DQ8 типизација

ЦБ	ДА	НЕ	p value
HLA -DQ2 и/или DQ8 Позитиван (+)	100 (99%)	33 (42%)	<0.001
HLA-DQ2 и/или DQ8 Негативан (-)	1 (1%) – HLA- DQ7/5	45 (58%)	
Укупно пацијената	101	78	

*Легенда: црвеном бојом је истакнуто нон- HLA-DQ2/DQ8 хаплотип у ЦБ

За HLA-DQ2/DQ8 типизацију у нашој групи испитиваних пацијената одређена је Сензитивност (Sn), Специфичност (Sp), позитивна предиктивна вредност (PPV) и негативна предиктивна вредност (NPV). Добијене вредности приказане су у табели 13.

Табела 13. HLA-DQ2/DQ8 - Sn, Sp, PPV, NPV

HLA-DQ2/DQ8	Sn	Sp	PPV	NPV
value	99,00 %	57,69 %	70,00 %	98,30%

**Легенда:* зеленом бојом су истакнуте позитивне карактеристике HLA типизације

Уочава се да су сензитивност (Sn 99%) и негативна предиктивна вредност (NPV) одлични (98%) - близу 100% (али не и обавезно 100%), али су са друге стране, позитивна предиктивна вредност (PPV 70%), а нарочито специфичност (Sp 58%) знатно мање. Све наведене вредности чине да HLA-DQ2/DQ8 типизација није идеална да буде самосталан тест за дијагнозу ЦБ. С обзиром на овакве вредности највећи значај HLA-DQ2/DQ8 типизације је у искључењу ЦБ са великом вероватноћом. Међутим, уколико би ове вредности посматрали са укљученим HLA-DQ 7/5, онда би Sn и NPV износиле 100%.

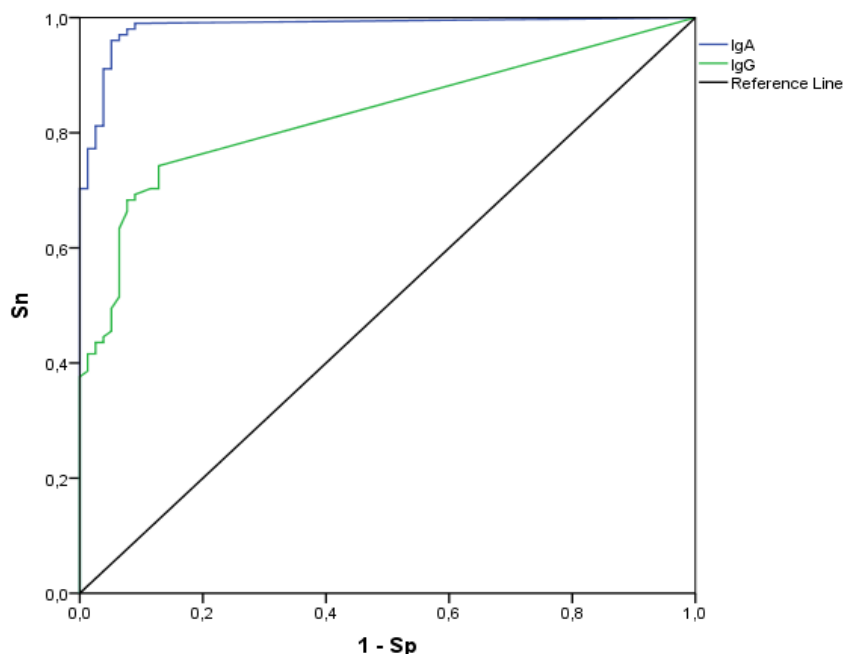
4.11. Трансглутаминска антитела IgA и IgG „cut-off“ вредности

Сваки произвођач китова за серолошку дијагностику, предлаже *cut-off* вредност теста, која обично износи, 10 до 20 пута у односу на јединицу мерења, која износи 1 U/ml. У овом истраживању коришћена је серолошка анализа произвођача *Органон* из Сједињених Америчких држава. Тестирање *cut-off* вредности је неопходно, како би се избегли лажно позитивни или лажно негативни налази током тестирања. Стога, тестирали смо препоруку произвођача, да ли у праски коришћење серолошког кита овог произвођача одговара декларисаним вредностима. За ову проверу коришћена је крива оперативног пријемника (*receiving operating curve* - ROC) и вредност испод криве (*area under the curve* - AUC) , како би детерминисали најбољу *cut-off* вредност, која има најбољу сензитивност и специфичност за анти-TTG IgA и IgG и нашој кохорти пацијената са и без ЦБ (n=179). Добијени резултати приказани су у табели 14 и на графикону 3.

Табела 14 . ROC (*receiving operating curve*) и AUC (*area under the curve*), одређује најбољу *cut-off* вредност уз најбољу сензитивност (Sn) и специфичност (Sp) за анти-TTG IgA и IgG

Тест	P value	AUC	cut-off	Sn	Sp
TTG IgA	<0.001	0.984 (0.968-1.000)	13 U/ml	99.9%	91%
TTG IgG	<0.001	0.832 (0.771-0.892)	5 U/ml	74.3%	87.2%

Графикон 3. ROC (receiving operating curve) и AUC (area under the curve), одређује најбољу cut-off вредност (value) за TTG IgA (плава боја) и TTG IgG (зелена боја), референтна линија (reference line – црна)



Површина испод криве (AUC) указује да за оба антитела: анти-TTG IgA и IgG постоји статистички значајна разлика $p < 0.001$. Површина испод криве (AUC) је већа за анти-TTG IgA и износи 0,984 (0,968-1,000), у односу на анти-TTG IgG, чија вредност AUC је мања и износи 0,832 (0,771-0,892).

Добијене вредности указују да анти-TTG IgA има бољу сензитивност и специфичност од класе IgG, на вредностима од 13 U/ml, сензитивност (Sn) је била скоро 100% (99,9%), а специфичност (Sp) преко 90% (91%), што представља добру вредност за коришћење овог теста. За анти-TTG IgG cut-off вредност је мања и износи 5U/ml, такође знатно је мања и Sn која је износила 74.3%, а Sp је приближна, као и у анти-TTG IgA и износила је 87,2%.

Због тога коришћење анти-TTG IgG антитела, као јединог антитела у дијагностици ЦБ се не препоручује. Одређивање анти-TTG IgA антитела, као јединог антитела, уз обавезно одређивање укупног IgA антитела, се може користити у клиничкој пракси. Уколико је вредност укупног IgA антитела мања од 0,1-0,2 U/ml потребно је допунски урадити и анти-TTG IgG антитела. У нашој кохорти пацијената користили смо истовремено одређивање укупног IgA антитела, као и анти-TTG IgA и IgG.

4.12. Лабораторијске вредности анти-TTG антитела IgA и IgG

Трансглутаминска IgA антитела, испитивана су у складу са раније описаним нормалним вредностима укупног IgA антитела. Укупно ($n=71$) пацијент или око 70%, је имао анти-TTG IgA преко 10xULN (*upper limit normal*), горња граница нормале, што што је у складу са препорукама, у неинвазивном серолошком приступу у дијагностици ЦБ,

односно без БТЦ. Наредних (n=10) и 9,9% пацијената је имало вредности анти-ТТГ IgA антитела између 51-100U/ml, у којих према препорукама је потребно урадити БТЦ. Са друге стране лажно позитивни налази у пацијената без дијагнозе ЦБ, су били присутни за анти-ТТГ IgA, за вредности преко 100U/ml антитела у (n=2) пацијента, односно 2.6%, а за вредности анти-ТТГ IgA између 51 и 100U/ml, лажно позитивни налази су нађени у (n=1) пацијента што износи 1,3%. Пацијенти са лажно позитивним налазима анти-ТТГ IgA преко 100 U/ml су управо она два пацијента са АИХ тип I, у којих су се налази спонтано нормализовали током лечења основног обољења. Такође, у једног пацијента са лажно позитивним налазима анти-ТТГ IgA, у кога је дијагностикована IBD-M.Crohn, како је већ на поменуто, дошло је до спонтане нормализације ових антитела, на нормалној исхрани. Сва три пацијента у даљем праћењу нису имала пораст анти-ТТГ IgA антитела, иако су све време била на нормалној исхрани.

Уколико би ову табелу посматрали без напред наведена три пацијента, са лажно позитивним налазима и аутоимунским стањима, у групи пацијената са серумским анти-ТТГ IgA изнад 50 U/ml, није било лажно позитивних налаза. Проценат лажно позитивних налаза у групи пацијената између 11-50 U/ml је износио 6.4% (n=5) пацијената. Трансглутаминска IgA антитела (анти-ТТГ IgA) представљају, основни вид серолошке дијагностике, док анти-ТТГ IgG представља практично помоћно серолошко антитело, поготово у IgA дефициту. У овој кохорти пацијената, уочено је да у већ помињана 2 пацијената са АИХ тип I, иако је било за очекивати да вредности анти-ТТГ IgG буду неспецифично повишени, због високих укупних IgG који се јављају у овом обољењу, њихова вредност била је негативна. Добијени резултати су приказани у табели 15. за анти-ТТГ IgA и табели 16. за анти-ТТГ IgG.

Табела 15. анти-ТТГ IgA антитела вредности и ЦБ

	ЦБ		p value
	ДА	НЕ	
анти-ТТГ IgA (U/ml)			
0-10	9 (8.9%)	70 (89.7%)	<0.001
11-50	11 (10.9%)	5 (6.4%)	
51-100	10 (9.9%)	1 (1.3%)	
>100	71 (70.3%)	2(2,6%)	

Табела 16. анти-TTG IgG антитела вредности и ЦБ

	ЦБ		p value
	ДА	НЕ	
анти-TTG IgG (U/ml)			
0-10	27 (26.7%)	68 (87.2%)	<0.001
11-50	32 (31.7%)	8 (10.3%)	
51-100	13 (12.9%)	2 (2.6%)	
>100	29 (28.7.6%)	0	

Поредећи податке из табеле 15. и 16. види се да анти-TTG IgG нема лажно позитивних налаза на вредностима преко 100 U/ml, али је зато број лажно позитивних налази већи у односу на анти-TTG IgA.

Уколико упоредимо анти-TTG IgA и IgG у ове две ситуације, пацијенти са дијагностикованом ЦБ, највећи број пацијената у време постављања дијагнозе је имао титар антитела преко 10xULN, то јест у преко 3/4 пацијената у односу на IgG чија је вредност износила само 1/3 пацијената. У вредностима између 5-10xULN вредности анти-TTG IgA су приближно исте за анти-TTG IgA и износе око 11%, а за TTG IgG око 13%, али зато на вредностима испод 5xULN, три пута је више пацијената са анти-TTG IgG у односу на анти-TTG IgA. Овакав тренд је очекиван јер анти-TTG IgG антитело има нешто спорију кинетику, у односу на анти-TTG IgA, односно оно спорије расте, али и спорије опада током времена. Добијени резултати су приказани у табели 17.

Табела 17. Поређење титра анти-TTG IgA и IgG у пацијената са ЦБ у тренутку дијагнозе

	ЦБ	
	ДА	ДА
Вредност U/ml	TTG IgA	TTG IgG
11-50	11 (10.9%)	32 (31.7%)
51-100	10 (9.9%)	13 (12.9%)
>100	71 (70.3%)	29 (28.7%)

Када је реч о лажно позитивним налазима за анти-TTG IgA и IgG, из табеле 18. се види да се лажна позитивност испољава у вредностима до 5xULN, у нашој групи пацијената 6.4% за анти-TTG IgA и нешто више за анти-TTG IgG, односно 10.3%. Надаље за вредности између 5-10xULN, уколико одбацимо аутоимунско стање – М.Сроhn није било лажно позитивних резултата за анти-TTG IgA. Са друге стране за анти-TTG IgG у овом опсегу уочено је 2.6% (n=2) пацијената са лажно позитивним налазом које не укључује неко аутоимунско стање. За вредности преко 10xULN и за анти-TTG IgA (са искључених 2 аутоимунска стања – АИХ), као и за анти-TTG IgG, није било лажно позитивних налаза. Из резултата се види да је број лажно позитивних налаза анти-TTG IgA у односу на анти-TTG IgG, дупло мањи, уколико је искључе аутоимунских стања (АИХ и IBD). Резултати су приказани у табели 18.

Табела 18. Поређење титра анти-TTG IgA и IgG у пацијената без ЦБ, лажно позитивни налази

	ЦБ	
	НЕ	НЕ
Вредност U/ml	TTG IgA	TTG IgG
11-50	5 (6.4%)	8 (10.3%)
51-100	1 (1.3%) – IBD M.Crohn	2 (2.6%)
>100	2 (2.6%) - АИХ	0

Дијагностичка тачност анти- TTG IgA на различитим тачкама пресека (10, 50, 100 U/ml)

Тестирана је дијагностичка тачност анти-TTG IgA и IgG на различитим тачкама пресека (10, 50, 100 U/ml), како би одредили најбољу вредност нивоа анти-TTG који су прихватљиве за дијагностику. Очекивано је што је вредност анти-TTG U/ml мања да је сензитивност теста већа, као и обрнуто са порастом вредности анти-TTG у U/ml, расте специфичност самог теста, а сензитивност опада. Потребно је утврдити прихватљиву сензитивност, која не би ремета специфичност теста. Сензитивност за анти-TTG IgA > 100 U/ml је износила 77,2 (67,6-84,7), специфичност 97,4% (90,2-99,5), односно PPV 97,5 (90,4-99,5). Уочено је да у две вредности у опсегу анти-TTG IgA између 50 – 100 U/ml нема посебне разлике између специфичности у односу на вредности анти-TTG IgA антитела >100 U/ml, а она је износила 96,1%, на према 97.4%, односно разлика износи само 1.3%. Специфичност теста за анти-TTG IgA > 100 је била 97.4%, односно 96.7% за вредности од 50 – 100 U/ml. Вредности за анти-TTG IgA и TTG IgG у различитим тачкама пресека су приказане у табели 19 и 20.

Табела 19. Дијагностичка тачност анти- TTG IgA на различитим тачкама пресека (10, 50, 100 U/ml)

TTG IgA	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
IgA >10	99.0 (93.8-99.9)	89.7 (80.3-95.1)	92.6 (85.5-96.5)	98.6 (91.3-99.9)	9.65 (5.00-18.61)	0.01 (0.01-0.07)
IgA >50	89.1 (80.9-94.2)	96.1 (88.4-99.0)	96.7 (90.2-99.2)	87.2 (77.8-93.1)	23.17 (7.62-70.42)	0.11 (0.06-0.19)
IgA >100	77.2 (67.6-84.7)	97.4 (90.2-99.5)	97.5 (90.4-99.5)	76.7 (67.0-84.4)	30.12 (7.63-118.7)	0.23 (0.16-0.33)

**Легенда:* Sn- сензитивност, Sp- специфичност, PPV – позитивна предиктивна варијабла, NPV – негативна предиктивна варијабла, LR – Likelihood ratio, зеленом бојом су истакнуте значајне позитивне вредности за анти-TTG IgA

Табела 20. Дијагностичка тачност анти-TTG IgG на различитим тачкама пресека (10, 50, 100 U/ml)

TTG IgG	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
IgG >10	73.3 (63.4-81.3)	87.2 (77.2-93.3)	88.1 (78.7-93.8)	71.5 (61.2-80.1)	5.71 (3.16-10.31)	0.31 (0.22-0.42)
IgG >50	41.6 (31.9-51.8)	97.4 (90.2-99.5)	95.4 (83.3-99.2)	56.3 (47.5-64.7)	12.22 (4.05-64.94)	0.59 (0.51-0.71)
IgG >100	28.7 (20.4-38.7)	1 (94.1-1)	1 (85.4-1)	52 (43.7-60.2)	-	0.71 (0.63-0.81)

**Легенда:* Sn- сензитивност, Sp- специфичност, PPV – позитивна предиктивна варијабла, NPV – негативна предиктивна варијабла, LR – Likelihood ratio, зеленом бојом су истакнуте позитивне вредности за анти-TTG IgG

Уколико посматрамо вредности за анти-TTG IgG у различитим тачкама пресека, уочено је да је специфичност TTG IgG антитела веома добра и креће се за вредности од 50- 100 U/ml 97,4%, а за вредности >100 U/ml износи 100%. Међутим, уколико посматрамо сензитивност у ове две тачке пресека она је била знатно испод 50%, односно 41,6% за вредности између 50-100 U/ml, односно само 28,7%, за вредности анти-TTG IgG >100 U/ml. Са друге стране, специфичност анти-TTG IgG антитела вредност IgG >50U/ml је износила 97.4%, као и PPV чија је вредност 95.4%, што је задовољавајући резултат за употребу у клиничкој пракси.

Као што је приказано у табели 20. намеће се закључак да анти-TTG IgG антитело не може се са великом поузданошћу користити као самостално антитело у дијагностици ЦБ, али у комбинацији са анти-TTG IgA антителом због своје специфичности, која износи за вредности IgG> 100U/ml 1 (100%) и PPV 1, што може да представља добар је алат за потврду дијагнозе ЦБ.

Вредности анти-TTG у опсегу < 100 U/ml

Надаље, посматрајући табелу 15. уочено је да у (n=11) пацијената са вредностима анти-TTG IgA у опсегу од 50-100 U/ml, само 1 пацијент (n=1) је имао лажно позитивни налаз, повезан са аутоимуним стањем - М. Crohn. У осталих 10 пацијента потврђена је дијагноза ЦБ. У овом случају урађена су поред анти-TTG антитела и ЕМА антитела, која су била позитивна у свим дијагностикованим случајевима ЦБ, осим у случају аутоимунског стања – М. Crohn, када су била негативна, као и анти-TTG IgG антитела. Сви пацијенти су имали HLA-DQ2 антиген позитиван, осим пацијента са М. Crohn, који је имао HLA-DQ5 хаплотип. Резултати су приказани у табели 21.

Табела 21. вредности анти-TTG IgA у опсегу $> 50\text{U/ml} < 100\text{ U/ml}$ и пратеће вредности анти-TTG IgG антитела ml (n=11)

ЦБ	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	ЕМА	HLA	ХП Марш	Узраст године
да	98	10	+	DQ2	3б	1
да	93	10	+	DQ8	3ц	3
да	77	10	+	DQ2	3б	3
да	72	10	+	DQ2	3а	2
да	69	10	+	DQ2	3б	2
да	63	0	+	DQ2	3ц	2
да	57	10	+	DQ2	0	2
да	57	0	+	DQ2	0	2
да	51	0	+	DQ2	3а	2
да	51	10	+	DQ2	3а	2
не	51	0	+	DQ5	1	9 IBD-M.Crohn

**Легенда: TTG – трансглутаминска антитела, ЕМА – анти ендомизијумска антитела, HLA – тип. Црвеном бојом су означени лажно позитивни налази*

Када је реч о анти-TTG IgG за вредности у опсегу $> 50\text{U/ml} < 100\text{ U/ml}$, од 11 пацијената са дијагностикованом ЦБ (n=4) су имала негативан налаз, а у осталих пацијената (n=5), вредност анти-TTG IgG су била гранично негативна.

Надаље, посматрајући табелу 15. за вредност TTG IgA опсегу $\geq 11 \leq 50\text{ U/ml}$, уочено је (n=16) пацијената, у (n=11) пацијената је потврђена ЦБ, док је осталих (n=5) имало лажно позитиван налаз. Ову групу пацијената поделили смо у две подгрупе. Прва група чинила је анти-TTG IgA антитела у опсегу између $\leq 50\text{ U/ml} \geq 30\text{ U/ml}$ (n=10), а друга група пацијената анти-TTG IgA у опсегу $\leq 11 < 30\text{ U/ml}$ (n=6) пацијената. У првој групи пацијената, није било лажно негативних, ни лажно позитивних налаза анти-TTG IgA антитела, а такође у свих пацијената су била позитивна и ЕМА, HLA типизација DQ2, као и Марш 3а,б,ц у ХП налазу у (n=9) пацијената, а један пацијент (n=1) је имао нормалан (Марш 0) ХП налаз. Све вредности су приказане у табели 22.

Табела 22. вредности анти- TTG IgA у опсегу $\leq 50 \text{ U/ml} \geq 30 \text{ U/ml}$ и пратеће вредности анти-TTG IgG (n=10)

ЦБ	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	ЕМА	HLA	ХП Марш	Узраст године
да	47	10	+	DQ2	36	2
да	46	10	+	DQ2	36	2
да	44	10	+	DQ2	0	2
да	44	10	+	DQ2	36	2
да	43	10	+	DQ2	36	2
да	37	0	+	DQ2	3а	2
да	35	0	+	DQ2	3а	2
да	31	0	+	DQ2	3ц	1
да	30	0	+	DQ2	3ц	1
да	30	95	+	DQ2/DQ8	36	10

**Легенда: TTG – трансглутаминска антитела, ЕМА – анти ендомизијумска антитела, HLA – типизација*

Међутим, у другој групи пацијената, уколико се посматрају вредности за анти-TTG IgA $\geq 11 < 30 \text{ U/ml}$ (n=6), (n=5) је имало лажно позитивни налаз, док је у (n=1) пацијента дијагностикована ЦБ, на основу допунски позитивних ЕМА антитела, те присутног HLA DQ2, као и Марш 3ц у ХП налазу. Такође, запажа се да су (n=3) пацијента имала лажно позитивне вредности које су биле у опсегу $< 20 \text{ U/ml}$, а (n=2) пацијента су имала анти-TTG IgA $\geq 20 \text{ U/ml}$. У свих лажно позитивних пацијената за анти-TTG IgA, ЕМА антитела су била негативна, (n=3), а сви ови пацијенти су имали и негативан HLA-DQ2/DQ8. Када је реч о анти-TTG IgG антителима у овом опсегу (n=2) пацијента су имала лажно позитивне налазе. Резултати су приказани у табели 23.

Табела 23. вредности анти-TTG IgA у опсегу $\geq 11 < 30$ U/ml и пратеће вредности анти TTG IgG (n=6)

ЦБ	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	ЕМА	HLA	ХП Марш	Узраст године
да	24	0	+	DQ2	3ц	1
не	22	0	-	DQ3	0	9
не	20	0	-	DQ3	0	13
не	18	0	-	DQ3	0	15
не	16	16	-	DQ5	0	1
не	14	14	-	DQ1	0	2

**Легенда: TTG – трансглутаминска антитела, ЕМА – анти ендомизијумска антитела, HLA – тип. Црвеном бојом су означени лажно позитивни налази.*

На основу добијених података може се закључити да се у пацијената са вредностима анти-TTG IgA $\geq 3 \times \text{ULN}$, позитивним ЕМА антителима, позитивном HLA-DQ2/DQ8 генетиком, са великом вероватноћом може поставити дијагноза ЦБ, неинвазивним приступом. Иако, ови подаци обећавају, за сада је узорак добијених пацијената релативно мали, за конклузивну статистичку анализу. Стога, потребно је значајније проширити ову групу пацијената, да би се у клиничком раду добили што релевантнији подаци, те се заједно са другим студијама које се проводе у свету, покуша да се критеријум за неинвазивну дијагностику ЦБ спусти, ако је реч о вредностима анти-TTG IgA, бар за дупло, односно $5 \times \text{ULN}$.

Као што се види из табеле 15. (n=9) пацијената односно у 8,9% са дијагностикованом ЦБ, када је реч о анти-TTG IgA антителима, имало нормалне вредности TTG IgA, то је у распону од 0-10 U/ml. У тој групи пацијената (n=1) пацијент у са дијагностикованом ЦБ је имао негативна анти-TTG IgA са позитивним ЕМА антителима, HLA-DQ2 генетику, као и Марш 3ц у ХП налазу. Међутим, уколико упоредимо вредности анти-TTG IgA антитела у ових пацијената са анти-TTG IgG антителима, уочава се да је у (n=2) пацијента вредност била 0, али се остале вредности крећу од 31 до >100 U/ml. Такође, највећи број пацијената је био узраста преко 2 године живота. Ова чињеница може да говори у прилог, да је одређивање анти-TTG IgG антитела значајно, сваки пут када се одређују анти-TTG IgA антитела. Осим једног пацијента, сви остали су били старији у узрасту 6 и више година живота. Све вредности су приказане у табели 24.

Табела 24. вредности анти-TTG IgA у опсегу ≤ 10 и пратеће вредности TTG IgG U/ml (n=9)

ЦБ	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	ЕМА	HLA	ХП Марш	Узраст године
да	10	0	+	DQ2	3ц	1
да	10	31	+	DQ2	3а	6
да	10	68	+	DQ2	3б	16
да	10	77	+	DQ2	1	17
да	10	75	+	DQ2	3б	8
да	10	90	+	DQ2	3а	8
да	10	>100	+	DQ8	3а	11
да	10	>100	+	DQ2	3а	11
да	0	0	+	DQ2	3ц	15

*Легенда: TTG – трансглутаминска антитела, ЕМА – анти ендомизијумска антитела, HLA – типизација, црвеном бојом су истакнута поља где је вредност 0 U/ml

Табела 25. вредности анти-TTG IgA 0 (U/ml) и пратеће анти TTG IgG - лажно позитивни налази за анти- TTG, за вредности ≤ 20 U/ml

ЦБ	TTG IgA (U/ml)	TTG IgG (U/ml)	ЕМА	HLA	ХП Марш	Узраст године
не	0	16	-	DQ1	0	2
не	0	14	-	DQ1,7	0	2
не	0	16	-	DQ2,8	0	8
не	0	14	-	DQ2	0	17

*Легенда: TTG – трансглутаминска антитела, ЕМА – анти ендомизијумска антитела, HLA – типизација, црвеном бојом су истакнута поља где је вредност анти- TTG IgG позитивна

4.15. Хистопатолошки налаз и ЦБ

Када је реч о хистопатолошкој дијагнози ЦБ, највећи број пацијената у хистопатолошком налазу је имао Марш 3 (а,б,ц), у око 94%. пацијената. Резултати су приказани у табели 26.

Табела 26. Хистопатолошке промене у ЦБ и Марш класификација

	Да (n=101)	Не (n=78)
Марш		
0	3 (3.0%)	63 (80.7%)
1	2 (2.0%)	6 (7.7%)
2	1 (1.0%)	1 (1.3%)
3а	15 (14.9%)	6 (7.7%)
3б	18 (17.8%)	2 (2.6%)
3ц	62 (61.4%)	0

*Легенда: зеленом бојом је обојено ЦБ са Марш 3 а,б,ц, док је са црвеном обојени лажно позитивни налази Марш 3 а,б

Такође, уочава се да у хистопатолошком налазима пацијената са ЦБ, налаз може да буде нормалан (Марш 0) и то у 3% пацијената. Са друге стране, лажно позитивни хистопатолошки налази за Марш 3 (а,б) били су у око 8% пацијената, али не и Марш 3ц.

Упоредни приказ Марш промена у ХП налазу, за анти-TTG IgA и IgG је приказана у наредној табели 27. Из табеле се види да постоји статистички значајна корелација анти-TTG IgG и IgG и Марш промена у ХП налазу. Корелација је јака, позитивног је смера високо је статистички значајна. Напомена, пошто је мало пацијената има у Марш 1 и 2 ове две категорије су спојене у једну. Вредности су приказане у табели 27.

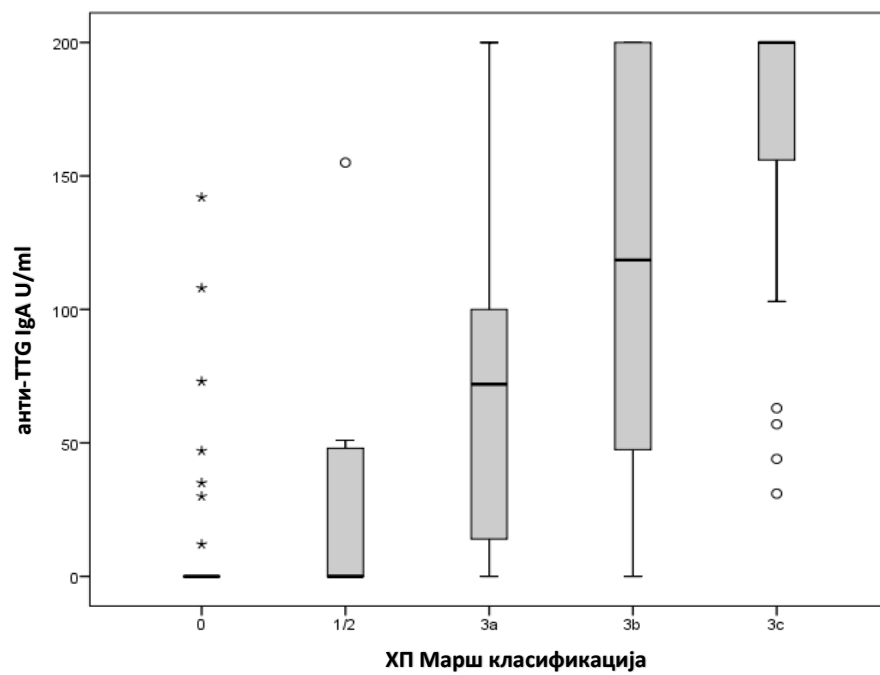
Табела 27. Корелација између концентрације TTG антитела и степена атрофије на ХП – Марш класификација

Марш	анти-TTG IgA	анти-TTG IgG
0	0 (0-0)	0 (0-0)
1/2	0 (0-48)	0 (0-19)
3а	72 (14-100)	0 (0-31)
3б	118.5 (47.5-200)	27 (0-97)
3ц	200 (156,0-200)	63.5 (19-160.5)
Rho (p)	0.842 *	0.640 *

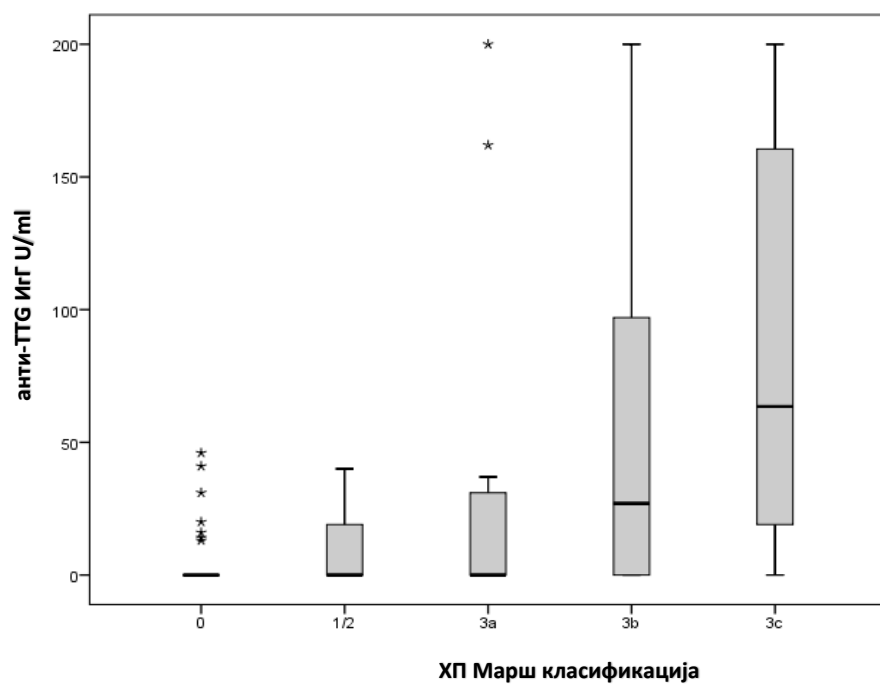
* $p < 0.001$. Легенда: зеленом бојом је обојено ЦБ са Марш 3 а,б, ц а анти-TTG IgA и IgG

Постоји добра корелација у нивоима анти-TTG IgA, IgG и лезија ентеричне слузнице, оцењивање по Марш критеријумима. Статистичка корелација је јака ($p < 0.001$). Посебно, средњи скок је евидентан у лезијама Марш за TTG IgA Марш 3а и за TTG IgG Марш 3б. Код пацијената са потврђеним ЦБ, нивои TTG IgA > 100 U/ml имали су лезије ентеричне слузокоже Марш 3ц, осим неколико (графикон 4). Диференцијација за TTG IgG је на нижем нивоу (графикон 5).

Графикон 4 Корелација TTG IgA и ХП налаза (Марш класификација)



Графикон 5. Корелација анти-TTG IgG и ХП налаза (Марш класификација)



Збирни резултати рада

у раду су сви резултати понаособ приказани у табелама, на различите начине

	ЦБ		p value
	Да (n=101)	Не (n=78)	
Узраст	7 (3-13)	7.5 (3-11)	0.984
Пол мушки	29 (28.7%)	41 (52.6%)	0.001
HLA +	100 (99%)	33 (42.3%)	<0.001
IgA	200 (110-200)	0 (0-0)	<0.001
IgA			
0-10	9 (8.9%)	70 (89.7%)	<0.001
11-50	11 (10.9%)	5 (6.4%)	
51-100	10 (10%)	1 (1.3%)	
>100	71 (70.3%)	2 (2.6%)	<0.001
IgG	36 (0-121)	0 (0-0)	
IgG			
0-10	27 (26.7%)	68 (87.2%)	<0.001
11-50	32 (31.7%)	8 (10.3%)	
51-100	13 (12.9%)	2 (2.6%)	
>100	29 (28.7%)	0	<0.001
Марш +	98 (97%)	10 (12.8%)	
Марш			
0	3 (3.0%)	62 (79.5%)	<0.001
1	2 (2.0%)	6 (7.7%)	
2	1 (1.0%)	1 (1.3%)	
3a	15 (14.9%)	6 (7.7%)	<0.001
3b	18 (17.8%)	2 (2.6%)	
3c	62 (61.4%)	0	
IgA > 10	92 (91.2%)	8 (10.3%)	<0.001
IgG > 10	74 (73.3%)	10 (12.8%)	<0.001
IgA > 50	81 (81.8%)	3 (3.8%)	<0.001
IgG > 50	42 (41.6%)	2 (2.6%)	<0.001
IgA > 100	71 (70.3%)	2 (2.6%)	<0.001
IgG > 100	29 (28.7%)	0	<0.001

5. ДИСКУСИЈА

5.1. ПОЛ И ЦБ

Целијакија је аутоимунска болест, која има генетску предиспозицију. Оно што је разликује од осталих аутоимунских болести је то да је узрочник – глутен унесен из спољне средине.

Такође, запажено је да се ЦБ чешће јавља у особа женског пола. Постоји неколико разлога зашто је то тако. Опсервационе студије запазиле су да је ЦБ чешћа у жена, зато што генерално више брину о свом здрављу од мушкараца и чешће се јављају на лекарске прегледе, те се због тога чешће у њих и дијагностикује ЦБ. У време дијагнозе, женски пол је имао више изражене симптоме малапсорпције, али је мушки пол имао више коморбидитета (108,109, 110). Због овога, вероватно се дијагноза ЦБ у жена поставља и раније, у просеку око четири године у односу на мушкарце (110). Претпоставка је могућа, одржива за адултну популацију, али не и за педијатријску.

Други могући разлог је сама природа аутоимуности. Жене имају четири пута већи ризик за појаву аутоимунске болести у поређењу са мушкарцима. Понуђено је неколико објашњења која укључују: полне хормоне, X хромозом, микрохимеризам, али сви ови постулати остају и даље нејасни и недоречени. Установљено је да естроген повећава експресију калцинеурина на Т ћелијама, а прогестерон у пацијената са Системским лупусом. Са друге стране уочено је да андрогени смањују експресију патогених *Fc gamma RIIb2* на пример у Гравесовој болести. Такође, уочено је да различита изложеност хемикалијама, као што су козметички препарати или сунчева светлост, могу довести до абнормалне инактивације X хромозома и микрохимеризма (111). Иако све ове претпоставке нису дале задовољавајући одговор, постоји могуће много једноставније објашњење везано за женски пол и аутоимунске болести, а то су – антитела. Жене еволуцијски имају склоност ка појачаној активацији В ћелија и производњи виших нивоа антитела, што на крају резултује и појавом већег процента аутоимунских болести. Сматра се да еволуционо повишене вредности антитела у жена штите саму жену, да имају улогу у бољој заштити од бактеријских, паразитарних и вирусних инфекција, а самим тим и боље преживљавање. Захваљујући овој чињеници жене на тај начин штите и њихове потомке, током раног детињства, када су најподложнији инфекцијама, то чине путем мајчиног млека (111).

Као пример да се ЦБ јавља чешће у жена, узете су две студије, прва је проведене у Бразилу и друга у Италији, то јест на два континента. У бразилској студији, пропорција жена и мушкараца са ЦБ била је 3:1, што је у складу са резултатима италијанске студије коју су провели *Ciacci* и сарадници (108).

У нашој студији у пацијената са дијагностикованом ЦБ, женски пол је био заступљен у приближно 70% пацијената, односно 2,33 пута више него у пацијената мушког пола. Постоји јасна статистички значајна разлика ($p=0,001$) у корист женског пола. Добијена је нешто мања пропорција у односу на ове студије 2,33:1 у односу на претходне податке 3:1, а објашњење је могуће потражити у чињеници, да се ове студије односе и на адултну популацију, где може да игра улогу и напред наведена чињеница, где је уочено да се жене чешће јављају на лекарски преглед од мушкараца и генерално имају више испољених симптома те имају већу шансу и за дијагностику ЦБ (31, 35, 36, 108).

Међутим, неке друге студије су добиле податке сличне нашим то јест у ЦБ, када је реч о дистрибуцији ЦБ према полу однос женско: мушко је 2,3:1 (112).

Такође, у старијем узрасту, ЦБ у женског пола се испољава са симптомима констипације, за разлику од млађег педијатријског узраста, где се испољавају типични симптоми као што су најчешће дијареја и симптоми малапсорпције. Физиолошке карактеристике, као што су хормони естроген и прогестерон су највероватније фактор који доприносе појави констипације као симптома ЦБ, у особа женског пола и то до 20% случајева, за разлику од мушкараца која се јавља дупло мање у око 10% случајева (109,110).

5.2. УЗРАСТ И ЦБ

Серолошка дијагностика је основ дијагностичког мозаика у ЦБ. Тренутно је препорука да се за иницијални скрининг ЦБ користе анти-TTG антитела IgA, због своје добре сензитивности и специфичности, како у деце тако у и одраслих (113, 114). Такође, коришћење анти-TTG антитела у иницијалном тесту, знатно је економичније у финансијском и и техничком смислу, од коришћења ЕМА антитела, која су скупља, комплекснија је методологија рада и зависна су од обучености оператера (114).

Међутим, запажено је да у педијатријских пацијената, анти-TTG антитела могу да имају мању сензитивност и специфичност, поготову у деце узраста мањег од 2 године у поређењу са децом старијег узраста. Стога, је предложено у деце узраста мањег од две године живота и додатни тест – DGP (113, 114, 115).

Требало би размотрити два могућа узрока ниже осетљивости анти-TTG код млађе деце. Наиме, деца млађа од две године обично имају ниже вредности укупног IgA антитела, што утиче на нивое анти-TTG IgA. Са друге стране, анти-TTG антитела могу бити мање осетљива на стимулацију глутеном у млађем узрасту, због његовог краћег периода уношења кроз храну. Поред тога, иако мања количина глутена у исхрани одојчади представља слаб стимуланс за пораст анти-TTG, ипак може узрокује абнормалну хистопатологију на цревном епителу (115).

Тренутни водичи за дијагностику ЦБ Северне Америке, заговарају биопсијски приступ у дијагностици ЦБ у свим узрастима, али у последње време овај приступ се мења у у правцу серолошке дијагностике, са препоруком да се у серолошкој дијагностици користи анти-TTG IgA у комбинацији са другим антителима класе IgG као што је DGP-IgG, како би се побољшала дијагностичка тачност код млађе деце испод 2 године живота (116). Међутим, мултицентрична студија Др Khan-а (Бостон, САД) из 2020. године, указује да је анти-TTG IgA веома поуздан за скрининг ЦБ у деце узраста испод 2 године живота (114). Студија је показала да око 98% деце има повишене анти-TTG IgA вредности који кореспондирају са одговарајућим хистолошким налазима. У нашој студији титар анти-TTG IgA антитела је био значајно виши у групи са ЦБ у поређењу са групом без ЦБ и у узрасту до 2 године живота ($p < 0,001$). Ови налази су у складу са недавно објављеним европским смерницама које препоручују да анти-TTG IgA треба да се користе као иницијални тест за скрининг без обзира на узраст (114, 117). У нашој студији узраст у тренутку појаве ЦБ није утицао на тачност коначне дијагнозе. Иако су ранија истраживања сугерисала могућност да је DGP-IgG можда осетљивији од анти-TTG IgA у овој узрасној групи, каснија истраживања указују да је анти-TTG IgA барем једнако осетљив као DGP-IgG (осим код пацијената са дефицијенцијом IgA антитела- IgAD) (117).

Пошто смо из статистичке анализе искључили децу са IgAD, наша студија је показала да дијагностичку вредност анти-TTG IgA треба сматрати поузданом, без утицаја узраста

пацијената ($p = 0.984$). Стога, можемо претпоставити да анти-TTG IgA код веома мале деце није инфериоран у односу на антитела на глиадин (DGP).

Дакле, анти-TTG IgA је ефикасан иницијални тест за скрининг ЦБ и код деце млађе од 2 године живота која имају довољно IgA, то јест више од 0, 1 - 0,2 U/ml. Серолошки тестови засновани на анти- TTG IgG били су корисни за идентификацију ЦБ у деце са IgAD, у кога постоји удруженост са ЦБ од 5 до 10% пацијената. Стога, у иницијалном тестирању треба користити анти-TTG IgG, а ЕМА у другом степену као потврдни тест. Будући да анти-TTG IgG има ограничену специфичност, предложено је истовремено мерење DGP-IgG, ако постоје услови за то. Такође у свих пацијената са IgAD потребно је урадити и биопсију слузокоже танког црева (117).

ЦБ се најчешће дијагностикује у раном детињству, а у нашој студији скоро једна половина пацијената је дијагностикована до шесте године живота, односно 48% пацијената. У каснијим узрастима виђен је благо опадајући тренд, односно 30% пацијената је дијагностиковано у узрасту између седме и дванаесте године живота, а око 20% од дванаесте до осамнаесте године живота. Објашњење је једноставно, ЦБ у раном детињству се испољава више са типичним симптомима, као што су: ненапредовање, хронична дијареја. У каснијим узрастима преовладава више атипична слика ЦБ, те је највећи број пацијената, који су упућивани на преглед имао друге гастроентеролошке дијагнозе, а не примарно сумњу на ЦБ. Највећи број ових пацијената са атипичном сликом, имао је нешто мању тежину од просечне за узраст, а дијагноза ЦБ, постављена у највећем броју кроз скрининг анти-TTG антитела.

Ниједан серолошки тест није 100 % прецизан, те уколико постоји клиничка сумња на ЦБ, биопсију танког црева би ипак требало урадити, чак и у случају уколико су серолошки резултати негативни (117).

5.3. HLA ТИПИЗАЦИЈА И ЦБ

Целијакија (ЦБ) је системски поремећај који карактеришу променљива комбинација клиничких манифестација зависних од уноса глутена - ентеропатија, специфична антитела и генетска предиспозиција HLA-DQ2 и/или HLA-DQ8. Генетски предиспонирајући фактори леже унутар HLA региона. Они кодирају HLA-DQ2 и/или HLA-DQ8 хетеродимере који су присутни на површини ћелија које презентују антигене и укључени су у патогенезу ЦБ. Ови рецептори се сматрају неопходним, иако не довољним за развој ЦБ. На тај начин негативан HLA DQ2/DQ8 има високу негативну предиктивну вредност од скоро 100% (118, 119). Највећи број пацијената са ЦБ носи алеле HLA-DQA105 i DQB102, који кодирају HLA-DQ2 протеин. У готово свим преосталим случајевима пронађени су алели DQA103 i DQB103:02, који кодирају HLA-DQ8 протеин. Веома ретко, пацијенти са ЦБ имају генотипове који кодирају различите нон HLA-DQ2/8 протеине. Другим речима, поседовање одређених варијанти подразумева већи ризик за развој ЦБ, али на крају спољашњи фактори ће бити пресудни за њен настанак (120). HLA-DQ2 и HLA-DQ8 су два хаплотипа (скуп гена који се наслеђују заједно) који су повезани са већом предиспозицијом за њен развој. Готово сви пацијенти са ЦБ носе један од ових хаплотипа. У свету HLA-DQ2/DQ8 пронађен је код 98,4% особа са ЦБ, те у 89,6% оних са ЦБ у породици (52). Међутим, алел HLA-DQ2 је уобичајен у општој популацији и носи га око 30% белаца. Само око 3% особа у општој популацији које носе HLA-DQ2 развиће ЦБ (121). У ЦБ учесталост варијанте HLA-DQ2 је 90-95%, док је учесталост HLA DQ8 између 5% и 10%. Претпоставља се да HLA-DQ8

хетерозиготна форма нема повећан ризик од ЦД, односно ризик је сличан као и за општу популацију (52). Разлике у учесталости HLA-DQ2 и HLA-DQ8 су описане између популација Северне и Јужне Европе, на пример у Италији фреквенција HLA-DQ2 нешто нижа и износи 83,8 %, Грчка 87%, Француска 90%, Скандинавске земље око 92,5%. Са друге стране, на пример у Јужној Америци, у Бразилу проценат HLA-DQ2 је знатно нижи и износи само 68,5%. Када је реч о HLA DQ-8 у Европи у неким од земаља на пример у Холандији, Великој Британији и Ирској, где фреквенција износи до 10 %, а у италијанској популацији износи 12,7%, на супрот томе иранска популација пацијената са ЦБ имају високу фреквенцију HLA-DQ8 од 25-30% као и бразилска 17,8%. У нашем региону према доступним подацима HLA-DQ2 у хрватској популацији је присутан у 93,7%, српској популацији 94,5%, а нешто мање у словеначкој где износи 88,8%. Са друге стране HLA-DQ8 је заступљен у 2,7% у хрватској и српској популацији и нешто више у словеначкој популацији и износи 8,8 %, (54, 120, 122, 123).

ЦБ се дијагностикује у 8–18% код блиских сродника првог степена и достиже чак 49% до 83% код једнојајчаних близанаца, што потврђује његову генетску основу (115). Породична агрегација код пацијената са ЦБ је пронађена у 5-15% случајева (124).

Сами генски HLA локуси нису довољни да у потпуности објасне генетску предиспозицију, јер поред HLA локуса, додатни гени учествују у наследној предиспозицији за развој ЦБ у чак 54% случајева (125). Иако постоје снажни докази о улози HLA молекула и одређених генотипова који могу објаснити њихову улогу у патогенези ЦБ, ови фактори нису довољни да објасне појаву болести код 3% свих особа које носе DQ2 или DQ8 HLA локусе. До данас, је детектовано преко 40 додатних генетских локуса, који играју улогу у настанку ЦБ, а изван су HLA региона. Патогени механизми који повезују ЦБ са неколико генетских варијанти пронађених унутар кодирајућих региона (нпр. *MMEL1*, *SH2B3*, *IRAK1* и *NCF2*), могу да имају важну улогу у адаптивном имунолошком одговору. Повезаност ових *non-HLA* региона са ЦБ, показује и неке географске варијације, нпр. уколико упоредимо популације у Скандинавији и САД. Ови механизми могу да буду одговорни и за појаву аутоимуних поремећаја у ЦБ и њеном повезаношћу са неким аутоимуним стањима, као што су: мултипла склероза (МС), аутоимуни тиреоидитис, псоријаза, витилиго, алопеција, IBD, АИХ, примарна билијарна цироза, DM-тип1, реуматоидни артритис (РА), анкилозирајући спондилитис и Системски лупус (СЛЕ), а који показују одређено генетско преклапање са ЦБ, а посебно IBD, МС и РА показују значајан број повезаних генетских локуса (54, 126). У особа који носе HLA-DQ2 хаплотип постоји и до 50 пута већи ризик за развој ЦБ у односу на општу популацију. Међутим, његово присуство није довољно за развој ЦБ, јер је овај хаплотип присутан и у 20-25% случајева у општој популацији (127). Дакле, HLA-DQ2 или HLA-DQ8 је неопходан за развој болести, али није довољан, јер се процењени генетски ризик се за развој ЦБ креће од само од 25% до 40% (51). Ризици (вероватноће) за развој ЦБ, су израчунати коришћењем Бајесовог правила за сваку генетску категорију и узевши у обзир општу преваленцију ЦБ од 1%, и кретали су се од 1:12 до 1:3857. Као што је очекивано, највиши ризик (1:12) био је присутан код носилаца HLA-DQ2.5 са две копије HLA-DQB1*02. Међу носиоцима HLA-DQ2.5 са једном копијом овог алела, ризик од развоја ЦБ кретао се од 1:35, односно код носилаца HLA-DQ2.5 наслеђеног у транс конфигурацији и цис конфигурацији, до 1:72, као и код оних са DQ2.5 у комбинацији са DQ8. Код особа које не носе HLA-DQ2.5, ризици су значајно нижи износе 1:854 за хетерозиготне носиоце DQ8, 1:929 за носиоце DQ2.2 и 1:3857 за DQ7.5 (у одсуству других ризичних хаплотипова). Једина изузетак је ризик који носи хомозиготност DQ8, који износи 1:25 (119, 128, 129). Стога могу се утврдити четири групе генетског ризика за ЦБ и то: прве две групе обухватају носиоце HLA-DQ2.5 (хомозигот и хетерозигот) и

носиоце хомозиготне за HLA-DQ8, који имају повећани ризик у поређењу са општом популацијом. Трећу групу чине хетерозиготи за HLA-DQ8 и носиоци HLA-DQ2.2. На крају, може се дефинисати и четврта група која обухвата особе са HLA-DQ7.5. Хаплотип HLA-DQ7.5 се јавља као генетски фактор за развој ЦБ, у особа које имају HLA-DQ2/DQ8 негативну генетику. У Италији, HLA-DQ7 се сматра адитивним или независним хаплотипом ризика за ЦБ. Стога је важно да се овај хаплотип узме у обзир када постоји висока сумња на ЦБ пре искључивања ЦБ на основу HLA генотипизације (127, 128).

Категорија	ХЛА	Ризик (од највишег ка најнижем)
Висок	DQ2.5/DQ2.5	
	DQ2.5/DQ2.2	
Умерен	DQ2.2/DQ7	
	DQ8/DQ2.2	
	DQ2.5/DQX	
	DQ2.5/DQ7	
	DQ8/DQ8	
	DQ2.2/DQ2.2	
	DQ2.5/DQ8	
	DQ8/DQX	
	DQ8/DQ7	
	DQ2.2/DQX	
Низак	DQ7/DQX	
	DQX/DQX	
	DQ7/DQ7	

Слика 10. Ризик за ЦБ у зависности од HLA. Највећи ризик има HLA-DQ2.5 – дупла доза гена, а најнижи DQ7 (130).

Одсуство HLA-DQ2 и/или HLA-DQ8 скоро у потпуности искључује дијагнозу ЦБ. Овај податак и функционална улога ових рецептора у патогенези ЦБ наводе нас на закључак да је присуство ових хетеродимера неопходно, али не довољно за развој ЦБ. Тестирање HLA за ЦБ има ниску позитивну предиктивну вредност (PPV), али високу негативну предиктивну вредност (NPV), скоро 100% (99%) (52). Осетљивост генетског теста је процењена на 63%. Дакле, HLA типизација није одговарајући једини маркер за дијагнозу ЦБ. Према *ESPGHAN* смерницама из 2012. године, HLA DQ2/DQ8 типизација је користан алат за искључивање дијагнозе ЦБ са негативном предиктивном вредношћу већом од 99%. Такође се препоручује, да би се ојачала дијагноза (131). Иако HLA-DQ2 и DQ8 молекули представљају најважније генетске факторе у развоју ЦБ, HLA типизација није потребна за рутинску дијагностику. У препорукама *ESPGHAN* из 2020 године, HLA типизацију је потребно урадити само у одређеним случајевима (75).

Препоруке за HLA DQ2/DQ8 типизацију:

1. Сумња у дијагнозу: за особе са клиничком сумњом, овај тест служи за подршку дијагнози (у случајевима са екстраинтестиналним симптомима или симптомима компатибилним са ЦБ).

2. Рана дијагноза: Иако не потврђује постојање ЦБ, процењује предиспозицију за обољевање. У случају позитивног резултата, особа ће бити упозорена на свој ризик и може се редовно тестирати.

3. Тестирање чланова породице: да би се искључила генетска предиспозиција код чланова прве генерације родбине пацијента са ЦБ. Најближи чланови породице пацијента са ЦБ су најважнија ризична група, јер деле гене са њима. Зато би требало да ураде овај генетски тест да виде да ли могу развити болест у будућности.

4. Ризичне групе: као што су особе са *Sy Down*, особе са DM-тип1, аутоимуним тироидитисом, АИХ, IBD.

Ипак, недавно је показано да потврда HLA није потребна у овим случајевима, те је препорука да се HLA типизација ограничи на пацијенте са средњим нивоима антитела како би се искључили лажно позитивни резултати. У сваком случају, HLA-DQ2/DQ8 типизација је и даље актуелна у тренутним дијагностичким смерницама за ЦБ (117).

Наши резултати у вези са типизацијом HLA-DQ2/DQ8 у пацијената са ЦБ показали су готово потпуну подударност са сличним студијама из наше земље 2014. године које су спроведене на педијатријској популацији. Наиме, обе студије показују да више од 94% пацијената дијагностикованих са ЦБ носи хаплотип HLA-DQ2 (120). У поређењу са другим студијама у нашим географским регионима, такође постоји висок степен сличности података: на пример, у хрватској групи са ЦБ, учесталост пацијената са DQ2 генотипом је била 93,7%, слично нашој групи, а виша је и у поређењу са словеначком популацијом која износи 88,8%.

У нашој студији добијене су следеће вредности испитивања у погледу снаге теста : сензитивност (Sn) 99,00 %, специфичност (Sp) 57,69 %, позитивна предиктивна варијабла (PPV) 70,00 % и негативна предиктивна варијабла (NPV) 98,30%. Из података се јасно види с обзиром на високу Sn и NPV да је HLA типизација значајна анализа за искључивање ЦБ, али не као а као самостална с обзиром на ниске вредности Sp и PPV. Негативна предиктивна вредност типизације HLA-DQ2/DQ8 од 98,3% у нашој студији потпуности се поклапа са резултатима претходних студија. Међутим, у нашој студији један пацијент са дијагнозом ЦБ, је имао је негативан HLA-DQ2/DQ8, али имао је HLA-DQ7.5, позитивну серологију анти-TTG, као и атрофију слузокоже танког црева у ХП Марш 3. Уколико додамо и овај хаплотип HLA-DQ7.5, генетика би била позитивна у свих пацијената са ЦБ, односно износи 100%, односно ако Sn и NPV би износила 100%.

Стога, налази су у складу са препорукама ESPGHAN из 2020. године, да HLA типизацију није потребно радити уколико је серолошка дијагностика анти-TTG и ЕМА задовољила критеријуме неинвазивног приступа у дијагнози ЦБ (10xULN), јер не доприноси додатној тачности саме дијагностике. Међутим, HLA типизација има свој значај у следећим ситуацијама, нарочито у аутоимунским стањима и обољењима као што су IBD, АИХ, DM-tip1, где могу постојати и високи лажно позитивни титар антитела, као што је показано у нашим резултатима и више од 10xULN. Ово је од нарочитог значаја у даљем праћењу серолошког статуса пацијената, одлуке о инвазивној дијагностици, биопсији танког црева, односно ребиопсији, као и о увођењу GFD. Са друге стране, уколико се посматра титар анти-TTG IgA антитела при нижим вредностима мањим од 10xULN, што је титар нижи, постоји и већа могућност за лажно позитивне е вредности, те је HLA типизација, користан допунски алат у дијагностици, поготову зато што је ХП налаз најчешће корелацији са висином титра антитела, те понекад хистопатолошке промене не могу са сигурношћу да се тумаче да су у склопу ЦБ. У раду је било нарочито од значаја уколико је титар анти-TTG IgA био мањи од 3xULN. У групи пацијената са

дијагностикованом ЦБ, један пацијент је имао негативна анти-TTG IgA и IgG антитела, али клиничку слику која је била компатибилна са ЦБ, позитиван HLA-DQ2, као ХП налаз Марш 3ц, као и позитивна ЕМА. У овом случају HLA типизација је била од кључног значаја за постављање дијагнозе ЦБ, јер у време дијагностике ЕМА антитела нам нису била доступна и накнадно су урађена.

У нашој групи пацијената без потврђене ЦБ, њих 42% су били позитивни на HLA-DQ2/DQ8. Овај резултат незнатно премашује преваленцију поменутих хаплотипова од 25-30% у општој популацији, и може се приписати породичној агрегацији, која износи напред наведених 5-15%

5.4. СЕНЗИТИВНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ ТЕСТА

Сензитивност и специфичност су статистички параметри за процену тачности дијагностичког теста. Помоћу ових параметара у пракси се процењује вредност прага поузданости за дати тест, који обухвата пропорцију стопе тачних позитивних у односу на стопу тачних негативних, односно лажно негативних и лажно позитивних резултата за одређени тест. Међутим, у пракси, уместо познавања пропорције оболелих пацијената са позитивним или негативним тестом, често је значајније предвидети да ли ће одређена особа заиста имати болест на основу позитивног или негативног теста. У ту сврху се користи позитивна предиктивна вредност (PPV) и негативна предиктивна вредност (NPV). Другим речима, позитивна предиктивна вредност одговара на питање: "ако имам позитиван тест, која је вероватноћа да заиста имам болест?". Супротно томе, негативна предиктивна вредност одговара на питање: "ако имам негативан тест, која је вероватноћа да заиста немам болест?". За разлику од сензитивности (Sn) и специфичности (Sp), које се генерално сматрају стабилним за дати дијагностички тест, PPV и NPV, зависе од вероватноће, при чему позитивна PPV расте са повећаном учесталошћу болести, а NPV расте са смањеном учесталошћу болести (132).

Употреба серолошких тестова се користи као основни дијагностички алат за препознавање у скринингу особа која потенцијално имају ЦБ, како би се избегла непотребна биопсија танког црева у ових пацијената. Основни вид серолошке дијагностике представљају анти-TTG IgA антитела. Сензитивност (Sn), специфичност (Sp), позитивна предиктивна вредност (PPV) и негативна предиктивна вредност (NPV) за анти-TTG IgA антитела, у неким истраживањима су се кретале у интервалима: Sn 85-95%, Sp 90-99%, NPV 28.6% и PPV 99.6%. За ЕМА вредности су износиле: Sn 80-90%, Sp 95-100%, NPV 28,6% и PPV 99.7% (61, 63, 133, 134). Као што се види ЕМА имају нешто нижу сензитивност у односу на анти-TTG антитела IgA, као и нешто вишу специфичност. Нешто нижа NPV од 28% за анти-TTG IgA се може објаснити лажно позитивним високим или умерено повишеним вредностима, која се могу појавити у неким другим стањима као што су: аутоимунске болести (АИХ, IBD, DM-tip 1), карциноми, хроничне болести јетре и инфекције јетре, кардиомиопатија (до40%), док то није случај са ЕМА, који има већу специфичност и мали проценат лажно позитивних налаза (132, 133).

У нашој студији, уколико се користе више вредности анти-TTG IgA преко 10xULN, за детекцију позитивног налаза за ЦБ, то би повећало PPV, који износи тада и до 97.5% (за *cut-off* вредност од 15U/ml), са кореспондирајућим вредностима за Sn 77.2%, Sp 97.4%, NPV 72,7%.

Такође, тестирање анти-TTG антитела може служити у праћењу пацијената са ЦБ који се придржавају *GFD*, где ова антитела постепено опадају, све до потпуног нестанка (135). Негативан резултат теста је много мање информативан и не треба га тумачити у потпуности као показатељ опоравка слузокоже танког црева на *GFD* (133).

Титар анти-TTG корелира са степеном атрофије црева. Сензитивност анти-TTG IgA и ЕМА је скоро 100% у пацијената са потпуном атрофијом вилуса (Марш 3ц), а нешто је мања 85% суптоталном (Марш 3б) и парцијалном 79% (Марш 3а) вилусном атрофијом. Одређивањем анти-TTG IgG и анти-DGP IgA нису имали додатну дијагностичку вредност (133, 136, 137).

Већина болести има "златни стандард" или референтни тест, према којем се алтернативни дијагностички тестови могу процењивати, у случају ЦБ у серолошкој дијагностици то су антиендомизијумска антитела – ЕМА. Међутим, "златни стандард" тест може бити сувише захтеван, скуп или инвазиван да би био практичан за широку употребу. У свакодневној пракси, тестирање на ЕМА често се врши заједно са тестирањем на анти-TTG IgA антитела, с обзиром да ова комбинација у двостепеном приступу обезбеђује готово 100% сензитивности и специфичности (63). Тест ЕМА IgA је високо специфичан, али мање осетљив од IgA анти-TTG, те би га требало користити као потврдни тест (135). Иако, се одређивање титра ЕМА антитела сматра високо осетљивим и специфичним тестом за дијагнозу ЦБ, не користи се за скрининг и праћење пацијената због својих ограничења (скуп, квалитативно и субјективно). Са друге стране анти-TTG избегавају ограничења које има ЕМА тест и стога се анти-TTG IgA препоручује као први корак у скринингу ЦБ, јер је мање скуп од ЕМА и његова осетљивост се сматра бољом од AGA односно DGP (138). Такође, коришћење ЕМА се не препоручује у првом дијагностичком кораку за ЦБ, јер могу бити одсутна у раној фази болести, а упркос високој специфичности имају нижу сензитивност у односу на анти-TTG IgA антитела (134). Ова два теста су веома слична према својим перформансама (134, 139). IgA ЕМА су високо специфична што подржава њену употребу као секундарног теста, као и другог узорка крви, ради смањења вероватноће лажно позитивног резултата анти-TTG антитела (два различита узорка, већа сигурност да је реч о истом пацијенту). Ово може помоћи у отварању пута за серолошку дијагнозу ЦБ у одраслој популацији у будућности, што је тема великог интересовања за интернисте гастроентерологе. Међутим, ЕМА није доступна у свим лабораторијама, а мана интерпретацији посматрача више него код других тестова, попут TTG (140, 141).

Тестирање на DGP антитела засновано је на *ELISA* методи и он је кориснији тест у дијагнози ЦБ и бољи у поређењу када је реч о сензитивности и специфичности у поређењу са (AGA). Позитиван DGP IgG може бити повезан с другим гастроинтестиналним болестима деце (138). Доста лабораторија у свету су увела DGP у скрининг на ЦБ, али остаје и даље контроверза да ли додавање тестова на DGP побољшава дијагностичку ефикасност анти-TTG IgA (142). Серолошко тестирање на DGP широко се користи у испитивању ЦБ у Аустралији, али не и у Европи (143). Антитела DGP имају степен сензитивност око 80- 90% и специфичност око 90%, слично као и анти-TTG IgA тест, ипак није бољи њега и не може да га замени у свакодневној пракси. Међутим, DGP има значај посебно мале деце испод 2 године живота, јер се чини да се појављује пре него анти-TTG (138). На тај начин може да се повећа сензитивност и специфичност серолошких тестова у овој узрасној групи (139). Како је већ напоменуто у дискусији, у нашој студији, као и неким другим студијама (*Khan 2020.*), за анти-TTG антитела није примећена разлика у проценту дијагностикованих пацијената испод и изнад 2 године живота.

5.5. НИВО АНТИТЕЛА И УНОС ГЛУТЕНА

Ниво антитела је у корелацији са уносом глутена у исхрани. Значајне хистолошке, серолошке и симптоматске промене се јављају када дневни је унос глутена најмање 3 грама током дана (144). Претпостављајући да једна кришка хлеба садржи око 3-4 грама глутена, овај режим подразумева унос од око 100-300 грама током препорученог периода оптерећења глутеном од 1- 3 месеца. Укупни кумулативни унос глутена испод 100 грама у периоду од 6 недеља није довољан да се јасно испољи серопозитивност анти-TTG IgA антитела. У клиничкој пракси ово је од значаја поготову у пацијената, којима је саветована *GFD*, без претходно учињених серолошких анализа или уколико је пацијент на парцијалној *GFD*. Такође, значај се огледа и у томе, уколико пацијенти крше *GFD*, у којој мери то чине, односно да ли је количина унешеног глутена довољна, да се то детектује и серолошким тестовима. Процена уноса глутена је значајна, уколико су вредности серолошких тестова близу ULN или тек незнатно изнад (повећање до 2xULN) (139, 144).

5.6. ТАЧНОСТ СЕРОЛОШКЕ ДИЈАГНОСТИКЕ

Тачност серолошке дијагнозе увек тежи да PPV буде близу 100%. Ово нарочито има значаја уколико би се серолошки тестови увели у стандардну праксу и користи се у примарној здравственој заштити (141). За проверу тачности анти-TTG у пракси, пожељно је интерно одредити *cut-off* вредности одређених узорака теста, те их упоредити са *cut-off* вредностима, који су дати од стране произвођача теста, јер у пракси постоје варијације између тестова. Такође, упутно је и упоредити добијене серолошке вредности са хистопатолошким налазом биопсије слузокоже танког црева. Вредност прага означава интервал критеријума који предвиђа позитивно стање. Вредности прага за скрининг су одређене у обједињаваној популацији ЦБ помоћу анализе криве пријемника-оператера (ROC), како би се максимизирале осетљивост, специфичност и позитиван LR+ (*Likelihood ratio*). Интервалне вредности прага су израчунате при максималној специфичности. Слично резултатима приказаним овде, *Vermeersch* и сарадници су открили да се LR+ за ЦБ, значајно повећава са двоструком позитивношћу и растућим нивоима анти-TTG и IgA и IgG (115, 145). Тачност серолошких тестова за дијагнозу ЦБ је веома висока. Да би постигли прецизност серолошког теста у пуном обиму, потребно је обавезно одредити *cut-off* вредност за сензитивност близу 100%.

У нашој студији најбоља сензитивност је била за *cut-off* вредност од 13U/ml и износила је за анти-TTG IgA 99.9%, при чему је специфичност износила 91%. Добијена *cut-off* вредност за анти-TTG IgG за *cut-off* је износила 5U/ml а на овим вредностима Sn је била 74.3%, односно Sp 87.2%. Овако висока сензитивност чини анти-TTG IgA, као логичан избор као први серолошки маркер за дијагнозу ЦБ у деце. Међутим, иако је анти-TTG IgG показао знатно мању сензитивност од анти-TTG IgA и даље има одређену улогу и дијагностици, а то је IgA дефицит у пацијената са ЦБ, као и одређеним придруженим обољењима – аутоимуним болестима.

Смернице *ESPGHAN* из 2012. године са ревизијом из 2020. године, потврдиле су вредност и поузданост серолошких тестова за дијагнозу ЦБ. На тај начин се у исто време се смањују: ризик саме интервенције, њених трошкова, времена чекања на ендоскопију или одгађање интервенције (75, 131).

Нови *ESPGHAN* дијагностички критеријуми омогућавају изостављање биопсије и омогућавају тачну дијагнозу ЦБ код симптоматске деце ако су нивои анти-TTG IgA већи од 10 пута од горње границе нормале (10xULN), а позитивна IgA ЕМА, потврђује аутоимунитет ЦБ у другом узорку крви (75). Ако један од ових критеријума није испуњен, треба урадити биопсију да би се потврдила дијагноза. HLA типизација за DQ2/DQ8 не доприноси тачности овог двофазног приступа и стога није неопходна код ове деце (75, 146). Међутим, смернице *ESPGHAN* из 2020 године, препоручују да је генетско типизирање HLA-DQ2/DQ8 потребно само у врло специфичним случајевима - на пример, да искључи лажно позитивну серологију. Важно је и напоменути да испуњење *ESPGHAN* критеријума за серолошку дијагностику, не контраиндикује ендоскопију са БТЦ, већ једноставно пружа опцију да се избегне. Сваки центар за педијатријску гастроентерологију треба сам да процени економичност свог избора серолошког тестирања (147).

Постоје и други приступи, као што су Смернице Британског друштва за педијатријску гастроентерологију, хепатологију и исхрану (*BSPGHAN*), које је укључило безбедну и поуздану серолошку дијагнозу ЦБ, изостављању скупљег ЕМА антитета, уколико је анти-TTG IgA $\geq 10 \times \text{ULN}$, у два одвојена независна теста. У овом случају БТЦ није неопходна (147). Ова врста приступа, би била прихватљива за нашу установу, јер немамо ЕМА антитета у стандардној дијагностици.

Главни серолошки маркер у дијагностичком процесу ЦБ су анти-TTG IgA. Ако је присутан дефицит имуноглобулина IgA, када анти-TTG IgA износе 0 U/ml, обавезно треба одредити ниво и анти-TTG IgG, те увек треба размотрити биопсију танког црева, уколико пацијент има клиничке симптоме ЦБ (134).

Неинвазивни приступ базиран само на серолошкој дијагностици, те антитета анти-TTG IgA 10xULN или више, као и позитиван други узорак тестирања ЕМА, смањује потребу за ендоскопском дијагностиком у више од 50% пацијената. HLA DQ2/DQ8 типизација у овом случају није потребна за постављање прецизне дијагнозе. Такође, проведеним испитивањима, упоређивања 10 различитих анти-TTG IgA тестова које су користиле различите лабораторије у 32 медицинска центра, утврђено је да на вредностима анти-TTG IgA нивоа већем од 10xULN, било је само 4 лажно позитивна налаза. Ова чињеница подржава тренутне критеријуме *ESPGHAN*, који су се показали добрим и у клиничкој пракси. Међутим, непостојање стандардизације између анти-TTG IgA тестова и лабораторија, што подразумева одређене варијације у њиховим налазима, чини и даље да се задржи препорука прага налазима анти-TTG IgA $> 10 \times \text{ULN}$, као један од критеријума за небиопсијски приступ у дијагнози ЦБ (146). Стога, одређивање анти-TTG IgA антитета је најисплативији и поуздан тест као иницијални тест за скрининг ЦБ. Препоручује се такође мерење укупног серумског IgA нивоа при иницијалном тестирању како би се идентификовали они са IgAD, код којих би требало користити тест на основу анти-TTG IgG антитета.

Као што је приказано у нашим резултатима, концентрација анти-TTG IgA антитета > 100 U/ml (10xULN) је високо суспектна за ЦБ. Укупни серумски IgA, анти-TTG IgA и IgG антитета, као и ЕМА антитета, сви корелирају са атрофијом цревних ресица у ХП налазу. Још једном треба истаћи да је сензитивност (Sn) анти-TTG IgA у дијагностици ЦБ је у опсегу од 71–100%, док је за ЕМА процењена на 86–100%; специфичност (Sp) је слична за оба теста, а креће се од 90–100%.

У нашој кохорти пацијената са потврђеном ЦБ, анти-TTG IgA изнад 100 U/ml утврђена је код 71% (n=73) пацијената. При овим вредностима добијени су следећи резултати

статистичке анализе за анти-TTG IgA (*cut-off* 13 U/ml): Sn 70,3%, Sp 97,4%, PPV 97,3%, NPV 71,7%. Уколико анализирамо табелу 15, постоје два пацијента са лажно позитивним налазима са аутоимунској болешћу у овом случају аутоимунски хепатитис (АИХ), те уколико посматрано дату табелу без ова два пацијента, на вредностима анти-TTG IgA изнад 100 U/ml, нема лажно позитивних налаза, што произилази да би PPV теоретски била 100%.

Насупрот томе у нашој студији, анти-TTG IgG изнад 100 U/ml ($10 \times \text{ULN}$) (за *cut-off* 5U/ml) показала је знатно нижу Sn од 28,7%, али Sp је износила 100%, као и PPV која је, такође износила 100%. У овом опсегу изнад $10 \times \text{ULN}$, анти-TTG IgG није било лажно позитивних налаза, отуда су Sp и PPV 100%. Уколико упоредимо ова анти-TTG IgA и анти-TTG IgG, добијени налази се могу објаснити имуно-генетским разликама између ова два изотипа: наиме, анти-TTG IgG показује спорију кинетику након изложености глутену, посебно ако је стимулус ниска концентрација глутена у храни. Штавише, анти-TTG IgA и IgG деле афинитет за исте епитопе, а конкуренција између њих фаворизује IgA антитета. Циркулишући анти-TTG IgG опада веома споро и може остати позитиван и више од две године, што може бити од значаја за дуготрајно праћење пацијената са ЦБ и придруженим обољењима као што је IgAD (148). Такође, одређивање антитета анти-TTG IgG је неопходно у одређеним ситуацијама, као што су аутоимунска стања. Стога, значај анти-TTG IgG може се користити у два случаја. С обзиром апсолутну специфичност у вредностима преко $10 \times \text{ULN}$, анти-TTG IgG се свакако може користити у комбинацији са анти-TTG IgA, као додатна потврда у дијагнози ЦБ.

У нашој студији ЕМА антитета су одређивана само у посебним ситуацијама, као што су: а) налаз ниске концентрације анти-TTG IgA антитета са позитивним HLA-DQ2/DQ8 типизацијом; б) позитивна анти-TTG IgA антитета повезана са негативном HLA-DQ2/DQ8 типизацијом; ц) пацијенти са удруженим аутоимуним болестима. У временском периоду у коме су испитивани пацијенти у нашој студији, поготову што је већи број пацијената из ранијег периода (јер су испунили све критеријуме дијагностике из студије), одређивање ЕМА није било доступно у нашој болници. Због овог недостатка, ЕМА статус је искључен из статистичке анализе. Анализа ЕМА статуса код пацијената са клиничким знацима ЦБ се препоручена према препорукама ESPGHAN.

Анти-ендомизијална IgA антитета остају најспецифичнији тест за ЦБ или ДН. Анти-TTG IgA антитета су слична већини IgA ЕМА. Иако су осетљивија, нешто су мање специфична у поређењу са ЕМА. Ендомизијум је термин који се користи за везивно ткиво које окружује глатке мишићне снопове у многим ткивима. Анти-ендомизијална антитета (која су усмерена против не-колагених протеина екстрацелуларног матрикса које производе фибробласти) се откривају користећи ткиво једњака мајмуна. Антигени се генеришу деловањем ткивне трансглутаминазе (TTG) која модификује остатке глутамина у протеинима у глутаминску киселину. Исти процес се дешава у пшеничном глутену, што објашњава повезаност између антитета на глутен и ауто-антитела на црева (62, 63). У суштини ЕМА антитета су трансглутаминска антитета, одређена на други начин, као и из другог узорка крви. Допунска серолошка дијагностика, са ЕМА има само нешто већу специфичност у односу на анти-TTG IgA антитета. Али, мања сензитивност ЕМА антитета чини их мање подобним, нарочито у раној фази болести, када је и цревна атрофија мања (149, 150). Међутим, наша студија показује да недостатак доступности ЕМА није утицао на исход неинвазивног приступа комбиновањем анти-TTG IgA и IgG серологије ($10 \times \text{ULN}$) и HLA-DQ2/DQ8 типизације. Сви ови налази су упоређени са ХП налазима БТИЦ.

Студије о дијагностичкој прецизности које користе однос вероватноће (*Likelihood ratio* - LR) и PPV добијају све већу пажњу као средство за допуну клиничке интерпретације дијагностичких тестова (145). Однос вероватноће (LR) је алтернатива PPV и NPV за процену вероватноће болести у дијагностичком тестирању. Постоје 2 врсте вероватноће односа LR, позитиван (LR+) и негативни (LR-). Позитиван однос вероватноће (LR+) указује да ће неко ко има болест имати позитиван тест, који подељен са вероватноћом да ће неко ко нема болест имати позитиван резултат. Насупрот томе (LR-) значи, да ће неко ко има болест, имати негативан тест резултат подељено са вероватноћом да ће неко ко нема болест имати негативан резултат. Што је већи (LR+), то је вероватније да особа тестирана на ту болест позитивна. Што је нижи негативни однос вероватноће (LR-), то је вероватније да особа која има негативан резултат теста, нема ту болест. Као опште правило, LR+ већи од 10 и LR - мањи од 0,1 показују да тест поуздано разликује између особа које имају и које немају болест (151).

Посматрајући табелу 19, за анти-TTG IgA за вредности 10xULN, LR+ вредност је износила преко 10, и била је 30,12 (7,63-118,7), а LR-: 0,23 (0,16-0,33). Тумачење ових налаза нас опет доводи до чињенице о два пацијента са лажно позитивним налазима – АИХ за резултат LR +. Насупрот томе, један пацијент у студији је имао негативне анти-TTG IgA и IgG (вредност 0 U/ml), са позитивном HLA типизацијом DQ2 и Марш 3ц промена у ХП налазу, као и позитивна ЕМА, свакако да је ово утицало и на резултат нешто вишег LR-, а који је добар показатељ, уколико износи 0,1 и мање.

Када је реч о анти-TTG IgG на вредностима 10xULN за (табела 20), за вредности LR добијене су следеће вредности: LR+ је био апсолутан, док је LR - износио 0,71 (0,63-0,81). Овакав налаз LR+, говори у прилог да је анти-TTG IgG заиста поуздан у вредностима опсега изнад 10xULN.

Међутим, да ли је могуће провести небиопсијски приступ у дијагностици ЦБ, и на нижим вредностима TTG од 10xULN. Нека истраживања указују на то да вредност 7 пута већа од *cut-off* вредности (у овом случају 7 U/ml), што одговара вредности анти-TTG већој од 50 U/ml, корелирају са налазом у ХП Марш 3б и више, са PPV од близу 100%, што је представља одличан скрининг тест за педијатријску популацију и на нижим вредностима од 10xULN, за које су поједине студије добиле резултат PPV од 100% (152). Друге студије, иако показују повезаност висине титра анти-TTG IgA које корелирају са степеном атрофије на ХП налазу, опрезније су у тумачењу када је реч о препоруци небиопсијског приступа у дијагнози ЦБ. Важно је нагласити да постоје и други узроци атрофије ресица и/или хиперплазије крипта који нису директно повезани са ЦБ, као што су IBD, цревне паразитозе (нпр. *Giardia*), имуна ентеропатија и имунодефицијенција, а које могу имати и лажно позитивну серологију (153).

У нашој студији у пацијената са дијагнозом ЦБ, њих 30, имало вредност TTG IgA <100 U/ml (10xULN ULN). Унутар ове групе анти-TTG IgA формирана је група од 11 пацијената који су имали вредности анти-TTG IgA веће од 50 а мање 100 U/ml. Добијени су следећи резултати (табела 19.) У овој групи пацијената за анти-TTG IgA веће од 5xULN: Sn је износила 89,1%, Sp 96,1%. Такође, значајно да је LR+ на овим вредностима износио 23,17 (7,62-70,42) а LR – је био 0,11 (гранична вредност од 0,1), што представља веома значајан податак. У свих пацијената урађена су и ЕМА антитела, која су била позитивна. Из табеле 21. се види, када је реч о анти-TTG IgA, на овим вредностима, био је само један лажно позитиван налаз и то пацијент са аутоимунској етиологијом IBD-M. Crohn. Стога уколико овог пацијента занемаримо, није било лажно позитивних налаза, а PPV би теоретски износила 100%.

Такође, у овој студији запажено је да у групи пацијената са налазима анти-TTG IgA у опсегу од 3-5xULN (табела 22.), такође нема негативних налаза. Мана ове две групе је што је мањи број пацијената за јаснију статистичку анализу, стога ове параметре треба пратити у даљем раду ради јасније клиничке интерпретације.

Треба напоменути да је једно истраживање утврдило 100% осетљивости и 99% специфичности за предвиђање ЦБ када су титри анти-TTG IgA били >3xULN (137).

Када је реч о анти-TTG IgG, која су рађена упоредо са анти-TTG IgA, уочено је из табеле 21. на вредностима између 5-10xULN, број негативних налаза је износио је 3/10 (30%), а граничну позитивност од 10 U/ml имало је осталих 7/10, односно 70% пацијената. Слично је и са вредностима између 3-5xULN (табела 22.) негативан налаз је био 4/10, односно 40%. Ово се може објаснити споријом кинетиком анти-TTG IgG, у односу на анти-TTG IgA. Стога TTG анти-IgG није поуздан маркер за ЦБ уколико су <100 U/ml (10xULN). Међутим, треба истаћи да и у ове две групе пацијената када је реч о анти-TTG IgG није било лажно негативних налаза.

Лажно позитивни налази анти-TTG на ниским вредностима мањим од 3xULN се јављају у оба случаја, како за IgA и тако и IgG антители. Свакако, као што је већ напоменуто у овом случају при овим вредностима антитела је неопходно, одредити ниво ЕМА антитела, као и урадити HLA типизацију. Ако је иницијални анти-TTG IgA позитиван, али низак (<3xULN) са негативним ЕМА, вероватно је у питању лажно позитиван резултат. Пацијенти са анти-TTG <3xULN и негативним ЕМА имају само 13% позитивне предиктивне вредности за биопсијом доказану ЦБ. Са друге стране позитивне ниске вредности анти-TTG могу указивати на рану ЦБ. У ствари, у 19% пацијената у недостатку било каквих знакова или симптома, препоручује се да се пацијент настави са уносом хране која садржи глутен, а анти-TTG IgA тестове је неопходно понављати сваких 6-12 месеци, док се ниво антитела не нормализује или повећа. При повећању индикована је и БТЦ. Ако је ЕМА позитиван, тада се повећава вероватноћа за ЦБ због високе специфичности ЕМА, а такви пацијенти, чак и са ниским анти-TTG титром, потребно је урадити ендоскопску биопсију слузокоже танког црева (153).

У нашој студији, када је реч о налазима <30 U/ml за анти-TTG IgA (табела 23.) од 6 пацијената, у само једног пацијента је потврђена ЦБ. HLA-DQ2/DQ8 типизација је у овом случају била од великог значаја, за искључивање ЦБ, с обзиром да је од 6 пацијената, осталих 5 у којих није потврђена ЦБ имало негативну HLA-DQ2/DQ8 типизацију. Ова група пацијената, иако је урађена БТЦ, није имала потребе за даље амбулантно праћење. Овај податак говори о значају HLA-DQ2/DQ8 типизације, нарочито при овако ниским вредностима анти-TTG антитела.

Поред тога, анти-TTG може бити лажно позитиван код особа са минималним или никаквим симптомима, као што су рођаци првог степена пацијената са ЦБ Или појединци са медицинским стањима повезаним са ЦБ: већ поменуте аутоимуне болести и интеркурентне инфекције, интолеранција на храну, постинфективним ентеритис, а у око 10% случајева, што представља значај број пацијената (154).

У нашој студији број лажно позитивних налаза износио је за анти TTG IgA око 8% (укључујући аутоимуна стања – АИХ и IBD), односно 5% (без аутоимуних стања), а за анти-TTG IgG износи је 10%.

За разлику од лажно позитивне, лажно негативна серологија за анти-TTG IgA антитела је ретко описана (~1%) код пацијената са ЦБ, посебно код оних са нормалним вредностима укупног IgA антитела.

У нашој студији, само један пацијент (1%) је имао лажно негативна оба анти-TTG IgA и IgG, са нормалним укупним серумски IgA, позитивним HLA-DQ2/DQ8, и каснијом хистопатологијом Марш 3ц; код истог пацијента, шест месеци GFD резултирало је нормализацијом хистопатолошких налаза на Марш степен 0.

На основу свега наведеног намеће се закључак, да је хистопатолошка евалуација, која би пратила серолошке налазе у овом случају „златни стандард“ за дијагнозу ЦБ. Међутим, неки степен вилусне атрофије и повећан број интраепителијалних лимфоцита (нарочито Марш Тип 1–2) који нису специфични на ЦБ, односно постоји преклапање у хистопатолошком налазу са одређеним болестима. Зато ови серолошки и хистопатолошки аспекти чине понекад диференцијалну дијагнозу прилично компликованом на овим серолошким вредностима (149).

5.7. АУТОИМУНОСТ И ЦБ

Целијачна болест сама по себи представља клиничког камелеона, нарочито ако се испољава у својој атипичној форми (121).

Међутим, ситуација је још комплекснија уколико је реч о удружености ЦБ са другим аутоимунским болестима, као што су инфламаторне цревне болести, АИХ, DM-tip1, као и неке друге болести као што су цироза јетре, кардиомиопатија, Sy Down. Понекад није једноставно утврдити да ли су повишена антитела последица саме аутоимуности или односно природе самог поремећаја или удружености са ЦБ.

ЦБ И IBD

Уочена су умерено повишена анти-TTG антитела у многим аутоимунским стањима, а која нису маркер за ЦБ. Повишење анти-TTG је изражено у апоптотичном ткиву, а овај феномен је изражен у свим мукозним лезијама. Дефект мукозне баријере, као што је повећање пермеабилности „tight junctions“, описан је механизам, како у ЦБ, тако и у IBD. Повећана интестинална пермеабилност, може довести до повећане антигенске експресије, која за последицу има стварање ауто антитела, као и повећана бактеријска транслокација, се сматрају за један од патогених механизма у IBD (149, 155). Основни серолошки маркер за ЦБ, анти-TTG антитела, у пацијената са IBD, могу бити повишена може као резултат имунолошких феномена (149). У прошлости, осамдесетих година двадесетог века, док није уочен овај феномен и била развијена серолошка и генетска дијагностика, сматрало се да је удруженост ЦБ и IBD у око 20% пацијената, процењено само на основу промена у ХП узетих БТЦ (155). Преваленција анти-TTG у другим орган-специфичним аутоимуним болестима: DM-tip1 и АИХ, износила 1/32 односно 1/38, што је ниже од позитивне стопе код пацијената са IBD. Ови резултати сугеришу да други фактори могу утицати на неуобичајене имунолошке карактеристике у гастроинтестиналном тракту, као што је интолеранција на храну. Повећана експресија анти-TTG у апоптотском ткиву повезана је са инфламираном цревном слузокожом у пацијената са IBD. У случају UC, хуморални тип имуног одговора са повећаном синтезом анти-TTG антитела игра доминантну улогу. С друге стране, висока преваленција антитела специфичних за ЦБ код M.Crohn, а њихов висок титар, вероватно одражава дефекте цревне слузокоже, јер је позитивна преваленција анти-IgE антитела против млека, пшенице и јаја, већа него код UC, и код оних пацијената који су серопозитивни, а не серонегативних на ЦБ, иако разлика није статистички значајна.

Дефекти цревне баријере, као што је повећана пропустљивост „tight junctions“, могу довести до повећања презентације антигена и стога генерисати ауто-антитела и антитела повезана са храном. То најбоље илуструје јапанска популација пацијената, који генетски имају ниску стопу ЦБ. У њиховој групи пацијената са IBD, забележен је висок проценат оних који су имали повишен титар анти-ТТГ антитела, иако је заступљеност ЦБ у Јапану знатно мања у односу на преваленцију ЦБ у свету. Други механизам који није везан за HLA-DQ2, је то да глютен сам по себи може изазвати оштећење и промену у епителним ћелијама. Наиме, глиадин повећава пропустљивост епитела, мења експресију протеина компоненти „tight junctions“ и индукује апоптозу. Такође може инхибирати синтезу РНК и ДНК (121, 149).

Сматра се да је преваленција удружености ЦБ и IBD у просеку око 0,75% у поређењу са 0,3% за популацију без IBD, односно да је двоструко већа. Међутим, ова преваленција је дискутабилна јер је урађена само на основу серолошке процене присутности анти-ТТГ антитела, која је 2 пута већа од хистопатолошке. Коначно, студије указују да у пацијената са IBD не постоји повећан проценат присуства HLA-DQ2/DQ8, што значи да пацијенти са IBD могу имати удружену ЦБ само у присуству ових позитивних налаза за HLA-DQ2/DQ8. Од пет студија које су процењивале М.Сrohn и ЦБ, утврђена су само два имунолошка поремећаја са различитим генетским основама. Стога, постоји строга корелација између HLA-DQ2/DQ8 и ЦБ, али ова корелација недостаје код М.Сrohn. Међутим, пацијенти са коморбидитетом ЦБ и М.Сrohn очекивано су позитивни на HLA-DQ2/DQ8. Преваленција ЦБ није повећана у деце са IBD, у поређењу са општом популацијом, јер је у њих ЕМА била негативна, а дуоденалне биопсије су имале нормалан или Марш 1 налаз на ХП налазу. Коначно, докази сугеришу да нема повећаног ризика од HLA-DQ2/8 за ЦБ код IBD-а, међутим, квалитет доказа је низак, па постоји несигурност у процени. Стога остаје отворено питање, да ли је увек потребно рутински радити код пацијената са IBD (150).

Није примећен значајан пораст преваленције анти-ТТГ IgA, код пацијената са IBD. Према томе, серолошки скрининг на ЦБ се не препоручује код пацијената са IBD, осим у случајевима релевантне клиничке сумње на ЦБ. Асоцијација између ЦБ и IBD пријављена је у неколико студија, и широк распон преваленције ЦБ (0,3%-14%) забележен је међу пацијентима са IBD. Преваленција ЦБ пријављена је од 0,6% до 0,96% , на пример у Ирану у пацијената са IBD. *Nurmi* и сарадници испитали су 629 ново дијагностикованих позитивних IgA анти-ТТГ случајева између 1976. и 2012. године. Резултати указују да је преваленција IBD порасла међу пацијентима IgA анти-ТТГ са 0% на 4,4%, док је клинички дијагностикована ЦБ опала са 2,6% на 0,6% (156). Стога, препорука је да је неопходна допунска серолошка дијагностика, са ЕМА антителима, која имају нешто већу специфичност у односу на анти-ТТГ антитела. Али, мања сензитивност ЕМА антитела, чини их мање подобним, нарочито у раној фази болести, када је и цревна атрофија мања. Неки радови указују да би DGP антитела, такође, могла бити од користи у диференцијалној дијагнози IBD и ЦБ (149, 150).

Намеће се закључак да у аутоимунским стањима је увек неопходно урадити и HLA типизацију DQ2/DQ8.

Лажно позитивна серологија анти-ТТГ је забележена и у пацијената са IBD и илеалном *rousch* анастомозом, а тумачи се као последица инфекције која је рефрактерна на антибиотску терапију (157).

Са друге стране у пацијената са ЦБ и перзистентним симптомима, посебно у оних са перзистентном позитивном серологијом, упркос строгој *GFD*, увек треба размотрити и *IBD* (158).

У нашој студији, два пацијента су имала коморбидитет ЦБ и *M. Crohn*. Један од њих је дијагностикован на основу повишених анти-*TTG IgA* >200 U/ml, позитивних анти *TTG IgG* 77 U/ml позитивних ЕМА антитела, позитивне *HLA-DQ2/DQ8* типизације, као и Марш 3ц атрофије на ХП налазу, а *GFD* је резултирала значајним смањењем анти-*TTG*. Међутим, један пацијент из наше студије имао је *M. Crohn* и благо позитивна анти-*TTG IgA* (51–100 U/ml), негативна оба анти-*TTG IgG* и ЕМА, као и негативну *HLA-DQ2/DQ8* типизацију и Марш 1 у ХП налазу. Код овог пацијента, анти-*TTG IgA*, су се постепено смањивала на нормалне нивое након три месеца праћења, без *GFD*, тј. пацијент је био на нормалној исхрани са уносом глутена. Нажалост, број пацијената је мали за било какву статистичку анализу. Међутим, ови подаци указују да у случају било каквог преклапања симптома ЦБ и неких аутоимуних болести, увек је потребно урадити пун спектар дијагностике, који поред антитела анти-*TTG* и ХП налаза, укључује и *HLA-DQ2/DQ8* типизацију и ЕМА антитела.

Аутоимунски хепатитис и цироза јетре

Лажно позитивне реакције на *IgA* и *IgG* антитела анти-*TTG* код цирозе јетре су честе и зависе од методе. Код пацијената са цирозом јетре, позитивност варира у појединим студијама од 0% до чак 33,3% за *IgA* анти-*TTG* и од 0% до 11,1% за анти-*TTG IgG* класе. Узрок повишених анти-*TTG* и у овом случају је последица апоптозе, те се саветује одређивање ЕМА антитела у свих пацијената (159).

Корелација између аутоимуног хепатитиса (АИХ) и хроничне болести јетре са ЦБ, такође је комплексна. Неки подаци су указивали да се преваленција ЦБ не разликује значајно између опште популације и пацијената са хроничном аутоимунским болестима јетре, као што је АИХ. Такође, коморбидитет се јавља у око 4–6% случајева у АИХ, као и примарном склерозирајућем холангитису (ПСЦ) од 1 до 7%. Штавише, слично другим аутоимуним стањима, АИХ може бити повезан са неспецифичном позитивношћу анти-*TTG* антитела (160).

У нашој студији привлачи пажњу следеће: да су анти-*TTG IgA* већа од 10xULN била повишена у АИХ, али не и анти-*TTG IgG*. АИХ представља обољење које се испољава у лабораторијским налазима са хипер *IgG*, а не хипер *IgA* антителима. Стога, за очекивати је да анти-*TTG IgG* буде знатно више од анти-*TTG IgA* антитела, због повишених вредности укупних *IgG* антитела у аутоимуном стању. Зато је од значаја, да се у свих пацијената са АИХ или цирозом јетре одреде анти-*TTG IgG* антитела, како би се ова појава пратила и донео одређени закључак на већем броју пацијената. У таквом сценарију, неопходно је одредити ЕМА антитела и ослонити се на високу осетљивост и специфичност овог маркера, као и *HLA-DQ2/DQ8* типизацију. Занимљиво је да су у нашој студији два пацијента са АИХ имала анти-*TTG IgA* изнад 100 U/ml, са негативним анти-*TTG IgG* и ЕМА антителима, као и негативном *HLA-DQ2/DQ8* типизацијом и Марш 0 у ХП налазу. Такође, код истих пацијената није дошло до смањења анти-*TTG IgA* током *GFD*, тако да се дијагноза ЦБ могла тумачити на три начина: рефрактерна ЦБ; или пацијент нема ЦБ; или су налази лажно позитивни због аутоимуних феномена, као резултат апоптозе ткива. Код трећег пацијента са АИХ из наше кохорте, високе концентрације оба анти-*TTG IgA* и *IgG* антитела (> 100 U/ml), позитивна ЕМА антитела и позитивна *HLA-DQ2/DQ8* типизација, корелирале су са Марш 3 хистопатологијом.

Овај пацијент је реаговао је на *GFD* и његови нивои оба антитела анти- *TTG* нивои су постепено опадала, по увођењу *GFD*.

Такође, лажно позитивна анти-*TTG* антитела могу да буду присутна у акутној *Epstein-Barr* вирусној инфекцији, која може изазвати пролазно повећање анти-*TTG* и других антитела (161).

ЦБ и DM-tip1

Исто као и ЦБ, DM-тип1 је аутоимуна болест, која узрокује оштећење панкреаса на имунолошкој основи. Смара се да је преваленција ЦБ у DM-тип1 и до 10 пута чешћа него у нормалној популацији, односно се износи од 3 до 10%. Опште је позната ствар у данашњој ендокринологији, да је свим пацијентима са DM-tip1, неопходан скрининг на ЦБ. Међутим, с обзиром да је реч о аутоимуној болести, тумачење добијених налаза није једноставно. ЦБ и DM-tip1 које се развијају из заједничке аутоимуне основе и ЦБ се јавља значајно чешће у поређењу са општом популацијом, а позитивност антитела у скринингу може бити уочена рано, без испољених симптома за ЦБ. У овом случају због аутоимуне природе обољења има доста лажно позитивних налаза. У студији *Unal et al et al.* утврђено је да лажно позитивни налази за анти-*TTG* у DM-tip1 могу да варирају од 11 % до чак 23%. док у другој студији *Waisbourd-Zinman et al.* чак до 35,4% (162). Док се већина ових лажно позитивних серолошких налаза постепено нормализује током праћења, требали бисмо имати критеријуме за ову специфичну групу пацијената било да дијагностикујемо ЦБ или препознајемо лажно позитивну серологију.

У нашој студији је било је 4 пацијената са DM-тип1 и ЦБ и у свих је постављена дијагноза ЦБ. Лажно позитивних налаза није било.

С обзиром на то, да ову популацију пацијената прво виде ендокринолози, а потом гастроентеролози, као и у случају осталих аутоимуних стања - *IBD*, *АИХ*, потребно је урадити пуну дијагностику за ЦБ, која подразумева све расположиве серолошке алате, као што су: анти-*TTG*, *ЕМА*, *HLA-DQ2/DQ8* типизацију. По добијању ових анализа потребно је донети одлуку о неопходности ендоскопске биопсије слузокоже танког црева, а тек након добијених целокупних резултата свих испитивања, донети одлуку о увођењу безглутенске исхране.

5.8. ХИСТОПАТОЛОШКИ НАЛАЗ И ЦБ

Хистопатолошки налаз се сматра и даље „златним стандардом“ у дијагностици ЦБ, бар у адулној гастроентерологији, како је и напоменуто у самом уводу. За разлику од дијагнозе у педијатријској гастроентерологији, где постоје критеријуми за небиопсијски приступ, у адулној гастроентерологији, до сада биопсија танког црева је обавезан део дијагностичког поступка, мада постоје назнаке да ће се овај приступ променити и можда прихватити педијатријски алгоритам. У педијатријском алгоритму испитивања, сваки налаз позитивних антитела уколико нису мања од 3xULN (када се понављају, периодично), односно уколико су мања 10xULN (није испуњен критеријум за небиопсијски приступ), индикована је биопсија слузокоже танког црева.

Постављене су и јасне пропозиције за узимање биопсијског материјала: 4 биопсије (раније3) из Д2 дела дуоденума, као једна из Д1 порције дуоденума, односно булбуса дуоденума. Већи број биопсија је неопходан са више места због „*rachy*“ карактеристика атрофичних промена, односно налаз атрофије није униформан на целој површини

слузокоже танког црева. Такође, наглашено је, да се свака биопсија узима засебно и није препоручено узимати две биопсије узастопно, у једном акту, због репрезентативности налаза, јер два узорка не могу адекватно да стану у ендоскопска биопсијска клешта. Приликом ендоскопије визуелизацијом изгледа површине танког црева, не може се са сигурношћу рећи да ли је она атрофична или не. Такозвана „*scalloped*“ (шкољкаста) мукоза, која је једна од карактеристика ендоскопског изгледа у ЦБ у адултној популацији, готово се се никад не виђа у деце, а може се углавном видети у старијем узрасту, односно адолесценцији.

Биопсија слузокоже танког црева је инвазивна дијагностичка метода и у деце најчешће захтева извођење интервенције у аналгоседацији, што је чини у пракси непрактичном, као и да носи одређене ризике, који су минимални, али су могући. Током скоро 30 година мог рада у гастроентеролошкој служби у нашој установи нису забележени нежељени догађаји током ендоскопске биопсије слузокоже танког црева. Историјски гледано, техника биопсије слузокоже танког црева (БТЦ) у нашој болници се може поделити у два периода и то узимање биопсије биопсијском сондом и ендоскопска биопсија. С обзиром на недостатак ендоскопске опреме, почетком мог рада у гастроентеролошкој служби крајем деведесетих година прошлог века, БТЦ се изводила биопсијском сондом, односно Крозбијевом сондом, која је поменута у уводном делу.



5а)



5б)

Сама метода била је доста незграпна за извођење, јер је захтевала координацију са рентгеном. Наиме, сонда се пласирала кроз уста у желудац, а затим је путем перисталтике доспевала до танког црева (фотографија 5а). Сама позиција сонде се проверавала путем рентгена. Сонда је на свом врху има малу капсулу са отвором (фотографија 5б). Унутар сонде је био мали биопсијски ножић са ротационом кретњом, који се активирао путем малог федера, а сам принцип рада је био следећи: путем вакуума, који је прављен помоћу шприца на другом крају сонде, у сонду се увлачио мали део слузокоже танког црева, а у исто време се активирао мали биопсијски ножић, а биопсијски узорак је остајао унутар капсуле (фотографије 5ц и 5д).



5ц)



5д)

Фотографије 5 (а, б, ц д). На приказане 4 фотографије се види изглед и принцип рада Крозбијеве сонде. Преузето са: <https://www.gastrolab.net/glabfi/iamp4/196/e254.JPG>

Да би повећали сигурност да је сонда захватила слузокожу танког црева и активирао се биопсијски нож, било је потребно направити вакуум путем шприца, два или три пута.

Велики недостатак рада Крозбијевом сондом је био, поред употребе рентгена и то што за разлику од ендоскопског узимања узорка, који се може одмах проверити, сонду је било потребно извадити да би се видело да ли је узорак унутар капсуле или не. У случају да капсула није захватила узорак, цео овај незграпни поступак се морао поновити. Једина позитивна чињеница оваквог извођења биопсије танког црева је што су узорци били заиста репрезентативни. Нажалост, сонда је захватала само један биопсијски узорак.

Ендоскопска биопсија је олакшала дијагностички поступак у биопсији слузокоже танког црева (БТЦ). Деведесетих година прошлог века у нашој установи дијагноза ЦБ се заснивала само на основу хистопатолошког налаза БТЦ, а налаз је процењиван на основу Оберхубер-Марш класификације. Након добијања хистопатолошког налаза биопсије слузокоже танког црева, доносила се одлука о потреби започињања *GFD*. Уколико је налаз био Марш 3ц, пацијент је схваћен као ЦБ и започињања је *GFD*, а даља испитивања нису рађена. Такође, налаз Марш 3а, 3б је иницијално схваћен као највероватнија ЦБ и започињана је *GFD*. Хистопатолошки налаз Марш 1 и 2 у корелацији са клиничким налазом је схваћен као вероватна ЦБ. Родитељима је појашњено у односу на налаз, да ће након одређеног времена, бити потребно дете оптеретити глютену у одређеном периоду, како би се дијагноза потврдила или одбацила. Уколико је дете било испод три године, у узрасту од пет година живота, проведено је оптерећење глютену у периоду од 3 до 6 месеци. У старије деце увођена је *GFD* две године, а након тога је рађено оптерећење глютену. Уколико је пацијент имао клиничко испољавање у овом периоду компатибилно са ЦБ, оптерећење је прекидано и рађена је контролна БТЦ. Уколико је ХП налаз на ребиопсији био Марш 3а,б или ц, пацијент је схваћен ЦБ и поново је враћен на *GFD*. У пацијената са ХП налазом Марш 1 и 2, рађена је још једна биопсија након 3-6 месеци. Наравно, у овом периоду смо увидели да чак и ако постоји атрофија слузокоже танког црева Марш 3 а или б, не мора свакако да значи да дете има ЦБ. У случају да је налаз ХП налаз БТЦ на оптерећењу глютену био нормалан, оптерећење је настављено и рађена је још једна контрола биопсија у периоду од 6 месеци до једне године, а након тога уколико је ХП налаз и даље уредан, пацијент је праћен амбулантно, а додатна биопсија је рађена само у случају испољавања неким од симптома ЦБ у клиничкој слици. Иако је биопсија танког црева прихваћена као „златни стандард“ у дијагностици ЦБ, без серолошке и генетске дијагностике се чинила прилично непрецизном и технички захтевном и незграпном, јер је било потребно понекад урадити и више пута биопсију танког црева, током одређеног времена.

У деце која су имала нормалан ХП налаз након оптерећења глютену, родитељи су често у жаргону говорили да је дете имало „пролазну целијакију“. Тако је настало и уверење у неких особа да је ЦБ пролазна интолеранција на gluten током детињства, што наравно није тачно.

Увођењем серолошке дијагностике ЦБ у комбинацији са БТЦ, уочене су бројне грешке уколико се ослонимо само на биопсијски налаз. У нашој групи пацијената било је укупно 26 пацијената којима је најпре постављена дијагноза ЦБ само на основу ХП налаза и/или позитивности AGA антитела. Када је проведен пун дијагностички поступак са HLA типизацијом DQ2/DQ8, серолошким анализама анти-TTG антителима и биопсијом танког црева од 26 пацијената у само 2 пацијента је потврђена дијагноза ЦБ. Ово говори у прилог да БТЦ не може да буде искључиви „златни стандард“ у дијагностици ЦБ. Хистолошке промене нису специфичне за ЦБ и могу бити узроковане разним другим ентеропатијама, као што су: инфективна дијареја, инфестација *lamblia giardia*, аутоимуна ентеропатија или алергија на храну. Специфичност хистолошке слике смањује се паралелно са степеном ентеропатије, тако да би се лезију Марш тип1 (често дефинисана

као инфилтративна лезија са изолованим повећањем броја ИЕЛ) треба прихватити као знак ЦБ, само уз друге, јаке дијагностичке доказе, као што су HLA компатибилност и јасна и перзистентна позитивност IgA анти-TTG. Лоша специфичност благе ентеропатије (ХП Марш 1-2) је још већи проблем у земљама у развоју које имају високу преваленцију "еколошке ентеропатије" услед инфекције и неухрањености (163). Дефекти цревне баријере, као што је повећана пропустљивост „tight junctions“, могу довести до повећања презентације антигена и стога генерисати ауто-антитела и антитела повезана са храном.

У овој студији у пацијенти са потврђеном ЦБ, имали су 94% случајева промене у ХП налазу Марш 3 а, б, ц, односно чак 62% пацијената је имало Марш 3ц у ХП налазу (тотална вилусна атрофија). Само 6% пацијента је је имало Марш 1 и 2 у ХП налазу, а 2% пацијената је имало нормалан ХП налаз. Све ово указује да постоји јасна повезаност, између ЦБ и степена атрофије Марш 3 а, б, ц, Постоји добра корелација у нивоима анти-TTG IgA, IgG и лезија ентеричне слузнице, оцењивање по Марш критеријумима. Статистичка корелација је јака ($p < 0.001$). Посебно, средњи скок је евидентан у лезијама Марш за анти-TTG IgA Марш 3а и за анти-TTG IgG Марш 3б. Код пацијената с потврђеним ЦБ, нивои анти-TTG IgA изнад 100 U/ml имали су лезије ентеричне слузнице Марш 3ц, осим неколико (графикон 4). Диференцијација за TTG IgG је на нижем нивоу (графикон 5).

Стога, вредности концентрације анти-TTG IgA изнад 100 U/ml ($10 \times \text{ULN}$) треба сматрати добрим предиктором Марш лезије степена 3, посебно 3ц.

Насупрот томе присуство оштећења дуоденума, чак и Марш 3 лезија, није стриктно повезано са дијагнозом ЦБ, посебно код деце млађе од две године.

У нашој групи пацијената 10,3% пацијената је имало у ХП налазу Марш 3,а, б, (али не и Марш 3ц), иако у њих није доказана ЦБ.

Као што је већ напоменуто, диференцијална дијагноза у овим случајевима је широка и укључује друге стања као што су алергија на протеине крављег млека, имуно-ентеропатија, инфекција/инфестација нпр. *lamblia giardia*, постинфективни ентеритис, малнутриција, итд (154, 164).

Иако постоји статистички значајна разлика, уколико упоредимо ХП налазе од пацијената у којих је дијагностикована ЦБ од оних у којих није, намеће се закључак да ХП налаз без компарације са серолошким анализама и HLA-DQ2/DQ8 типизацијом, да ли може да буде „златни стандард“ у дијагнози ЦБ? Дакле Постоје две крајности у дијагнози ЦБ, високо позитивна серологија анти-TTG, позитиван HLA-DQ2/DQ8 и нормалан ХП налаз или са минималним променама, а са друге стране нормална или благо позитивна серологија анти-TTG, позитиван ХП налаз са израженим промена Марш 3 (а,б,ц). У оба случаја, након проведене дијагностике је потребно започети GFD и пратити серолошке анализе, као евентуално ХП налаз.

Анализа вишеструких биопсија је важна због постојања неравномерних промена и делимичног захватања слузокоже танког црева, због „pachy“ (делимична захваћеност) промена на слузокожи танког црева у ЦБ. Штавише, неравномерне промене могу захватити и различите фрагменте исте биопсије. Ова неравномерност се може јављати у распону од 2% до чак 50%, у просеку у око 20% случајева У присуству варијација у степену промена слузокоже, патолог би у извештају требао да реферише највиши степен промене (165).

Иако је Оберхубер-Марш класификација генерално опште прихваћена од стране већине патолога, често је подложна и одређеним критикама. Као главни недостатак се наводи висока међу-посматрачка варијабилност, посебно приликом употребе система Марш (72). Често је ова класификација критикована да има превише поткатегорија, које могу довести, до евентуалне погрешне интерпретације ХП налаза БТЦ. Зато су промене на слузокожи танког црева у ЦБ, дефинисане од стране Марша 1992. године, увеле неколико модификација у наредним годинама, прво од стране Оберхубера, затим од стране *Corazza & Villanacci*, и коначно од стране Енсари (*Ensari*) (165). Италијански патолози се углавном изјашњавају за *Corazza & Villanacci* класификацију, јер је она настала као резултат рада италијанских аутора. Оберхубер и *Corazza & Villanacci* омогућавају разликовање латентне ЦБ од нормалног налаза. Ово је од помоћи у идентификацији и лечењу пацијената у раној фази ЦБ (74, 164). У недефинисаним случајевима, потребно је урадити и додатна испитивања, како би се искључили други могући узроци оваквог налаза посебно бојење на CD3, омогућава прецизнију евалуацију (74, 166).

Која је најбоља хистопатолошка класификација за ЦБ? Да ли је то важно?

Дакле, ако радите у општој болници, те уколико се патолог не среће често са дијагнозом ЦБ, препорука је да се користити класификацију коју су направили *Corazza & Villanacci* или Енсари. Обе класификације су практичне и показале су се корисним са добром специфичношћу и сензитивношћу.

Разлике у три начина описа ХП налаза у ЦБ

Оригинална Марш класификација је описивала три типа промена: инфилтративне (тип 1), хиперпластичне (тип 2) и деструктивне (тип 3). Тип 1 састојао се од нормалне морфологије слузокоже с инфилтрацијом ИЕЛ-а, док је тип 2 карактерисала хиперплазија крипти, додатно уз тип 1. Тип 3 је подразумевао карактеристичну равну слузокожу с смањеним односом вилуса и крипти (в/ц). Оберхуберова модификација укључивала је под груписање Марш типа 3 лезије као: 3а (парцијална), 3б (суптотална) и 3ц (тотална). Оберхубер је базирао степен промена у односу в/ц субјективним дефинисањем попут "мањих Или умерених степена скраћења и замагљења вилуса" или "кратких остатака вилуса попут шатора" (165).

Касније су *Corazza & Villanacci*, на једноставнији начин, класификовали лезије у ЦБ, као степен А (неатрофичне) и степен Б (атрофичне). Атрофичне лезије су даље под груписане у Б1 (блага атрофија) и Б2 (озбиљна атрофија), али такође на мало субјективан начин (72, 167). Међутим, ова класификација није привукла пажњу већег броја патолога, те су многи наставили да користе оригиналну Марш класификацију, док је само неколико њих користило Оберхуберову модификовану верзију (165).

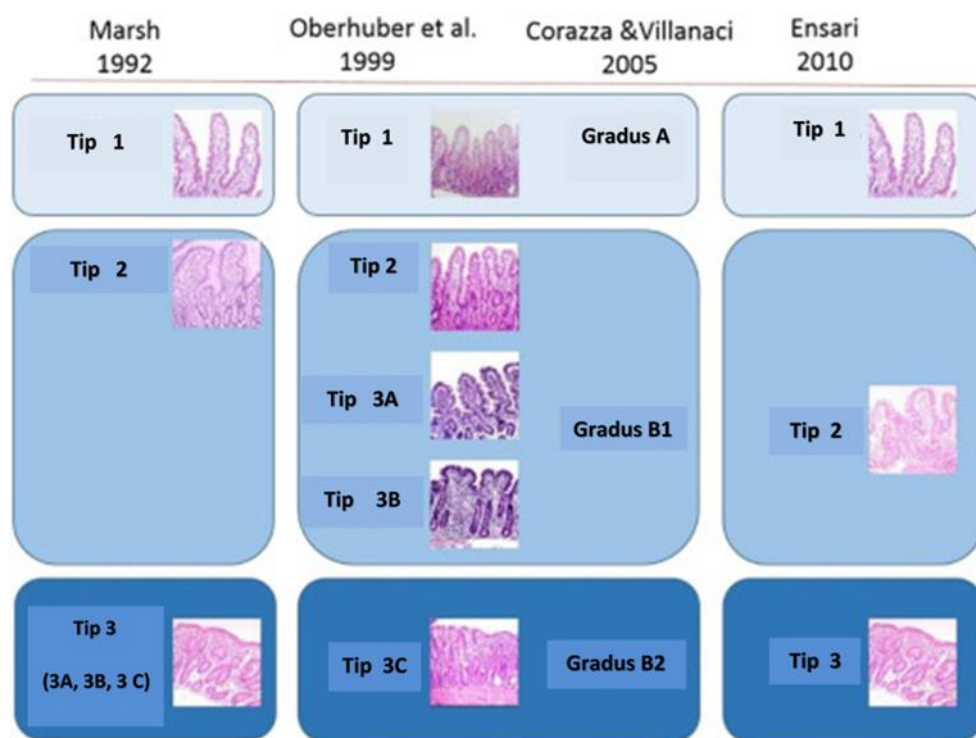
Енсари класификација, је заснована на оригиналној Марш шеми. Према Енсари, проблем који произилази из Маршове класификације, јесте праг за број интраепителних лимфоцита (ИЕЛ), у односу на стандардну тестну површину микроскопа од 104 mm². Такође, Енсари је тврдила, да је расподела ИЕЛ унутар епитела важнија од самог бројања ИЕЛ. Класификација Оберхубер није решила овај проблем. Могуће је да је праг ИЕЛ на 100 ентероцита коришћен као критеријум, за нормалан број ИЕЛ, изведен из биопсија слузокоже јејунума. Треба имати у виду да су биопсије танког црева деведесетих година прошлог века извођене углавном капсулама за биопсију уместо ендоскопске биопсије клештима, која захвата дуоденум Д2 дуоденума, а не јејунум. Због тога, различита место узимања узорка танког црева, као и сама дебљина узорка су вероватно ометала тачно бројање ИЕЛ. Горња граница ИЕЛ је 25 на 100 ентероцита. Такође, Енсари је предложила

да се избегава термин „атрофија“ како би се дефинисало скраћење вилуса. Истицање појма "атрофије" као главног обележја ЦБ не успева да опише блаже лезије без "атрофије" које се налазе у једног дела пацијената. Благе морфолошке неправилности слузокоже заслужују пажњу јер их патолози лако могу превидети, такође оне могу бити повезане и с другим стањима осим ЦБ (74). Чест хистолошки налаз у ЦБ је опис „микроскопски ентеритис“, који је често у корелацији са ниским или граничним серолошким налазима тестова за ЦБ (74, 165). Други предлог дат од стране Енсари је редефинисање Марш лезије типа 2, која се готово најмање виђа и описује у рутинским биопсијама.

У нашој групи пацијената, опис Марш 2 је заиста имао веома мали број пацијената 2,6%.

Када постоји хиперплазија крипти, вилуси изгледају нешто скраћеније због смањеног односа вилуса и крипти (в/ц), у односу на слузокожу без хиперплазије крипти. Хистопатолошка слика слузокоже класификоване као Марш тип 2 и тип 3а, заправо биле веома сличне морфолошки, обе са скраћеним вилусима. Ови аргументи су чинили основу "нове" верзије, "старе" Марш класификације, у којој су типови 1 и 3 идентични оригиналном Марш-у, односно интраепителијска лимфоцитоза и заравњена слузокожа, док је тип 2 поново дефинисан као слузокожа са скраћеним вилусима и хиперплазијом крипти, као и ИЕЛ (165).

Штавише, Марш и сарадници су закључили да је Оберхуберова ревизија Марш 3 у три под категорије (3а, 3б, 3ц) може да буде и погрешно тумачење хистолошког изгледа спљоштених вилуса. Стога би приликом класификације промена у ХП налазу требало избегавати под категорије 3а, 3б, 3ц, јер не доприносе дијагностичкој или прогностичкој вредности. Међутим, у прилог овоме не иде разлика у позитивности серолошких налаза и степена атрофије. Разлике пронађене у Марш 3а и Марш 3б, у поређењу са Марш 3ц, за вредност антитела су биле значајне (74, 168). Пацијенти са високим нивоом анти-ТТГ IgA, у време дијагнозе ЦБ, имали су и већи степен вилусне атрофије (168). Све класификације зависе од припреме узорака биопсије и њихове исправне оријентације, како би се избегло погрешно категорисање степена промена. На пример, у мултицентричном истраживању у Европи утврђено је да квалитет биопсијских узорака није био прихватљив у око 10% случајева (74).



Слика 11. Упоредни приказ четири начина хистопатолошког описа ЦБ (165)

Постоји потреба да се реше неуједначени стандарди, ниска дијагностичка сагласност између патолога, постојање и коришћење више хистопатолошких класификација које примењују патолози у дијагнози ЦБ. Последњих година развојем дигиталне микроскопије, као и вештачке интелигенције, постоје покушаји да се субјективност у опису патолога, превазиђе новим приступом – машинским учењем. Овај метод је показао изводљивост прилагођавања већ доступног софтвера за вештачку интелигенцију (AI) за објективно квантификовање хистопатолошких карактеристика из рутински обрађених и имунолошки обојених узорака (73). Ера дигиталне патологије доноси могућности аутоматизације дијагнозе болести и стварање алатки за подршку у одлучивању које би помогле патолозима у свакодневној пракси. Дијагностичка тачност се може оптимизовати уколико се посматрају у исто време заједно: хистопатологија, серолошки резултати и клинички подаци (169). Ако резултати серолошког тестирања на осетљивост на глутен нису доступни патологу који процењује биопсију дванаестопалачног црева, то треба напоменути у извештају, заједно са тврдњом да хистопатолошка дијагноза сумње на ЦБ треба да буде потврђена и серолошким тестирањем (163).

Ушли смо у еру нових серолошких алата, који имају задатак да замене интестиналну биопсију као „златни стандард“ за дијагнозу ЦБ. Такође, не мора да постоји дефинитивна корелација између степена оштећења слузокоже танког црева и тежине клиничких симптома у пацијената са ЦБ. Разлози за ово су бројни, као што су на пример присуство слузокоже сензибилисане на глутен без видљивих промена на рутинској микроскопији, сензитивност на глутен са сличном клиничком сликом, али без присуства серолошке позитивности и нормалне интестиналне слузнице или "микроскопског ентеритиса" (166).

Серонегативна ЦБ се дефинише одсуством анти-TTG антитела у присуству позитивне хистопатологије и антигенског (HLA) хаплотипа DQ2 и/или DQ8. Ова стања могу бити узрокована снажним афинитетом антиген-антитело, што доводи до таложења

имунокомплекса транслугтаминазе ткива (TTG)/анти-TTG у слузокожи танког црева и недостатка проласка антитела у циркулацију. Откривање ових комплекса у БТЦ високо је суспектна на ЦБ.

У нашој студији постоји један пацијент (1%) са серонегативном ЦБ: негативним анти-TTG IgA и IgG, позитивном HLA-DQ2 типизацијом, а у кога је због симптома компатибилних са ЦБ, урађена је БТЦ, а ХП налаз је указивао на Марш 3ц. Започета је *GFD*, након које долази до опоравка пацијента и нормализације ХП налаза.

Латентна или потенцијална ЦБ се може јавити као позитивна серологија без атрофије ресица, где се могу приметити благе хистолошке промене, као што је повећање интраепителних лимфоцита (ИЕЛ). У случају ове појаве, поновљена ендоскопска биопсија или капсула ендоскопија, могу бити неопходни (167).

5.9. ДИФЕРЕНЦИЈАЛНА ДИЈАГНОЗА ЦБ – ХИСТОПАТОЛОШКИ НАЛАЗ

Нецелијачна осетљивост на глутен (НЦГС)

Нецелијачна осетљивост на глутен (НЦГС) је недавно препознато стање које се разликује од ЦБ. Пацијенти обично показују симптоме који подсећају на IBS. У НЦГС титар анти-TTG антитела је у границама нормале. Хистолошке карактеристике НЦГС-а још увек нису у потпуности дефинисане, а ХП налаз варира од нормалне хистологије до благог повећања броја ИЕЛ у површном епителу вилуса, распоредом у малим "кластерима" од 3-4 лимфоцита у површинском епителу, као и линеарним распоредом у дубљем делу слузокоже. Такође присутан је и број еозинофила у ламини проприји је већи од 5 на *FRH* (*high power field* - највеће увећање микроскопа) (71).

Пептички дуоденитис

Хистолошки изглед пептичног дуоденитиса обично је Марш типа 1 лезије (повећани ИЕЛ са нормалним ресицама). Интраепителни лимфоцити присутни су дуж ресица и у криптама. Такође, описује се присутна реактивна хиперплазија Брунерових жлезда, као и фокуси метаплазије желуца у дванаестопалачном цреву, који могу или не морају садржавати *Helicobacter pylori* (НРу). Неутрофилни инфилтрати присутни су у ламини проприји у око 8% случајева, али обично не захватају површину епитела. Инфекција НРу може узроковати повећај број ИЕЛ епитела, са минималним променама у вилусима. Фовеоларна гастрична метаплазија и изражена неутрофилна инфилтрација у епителу и/или ламини проприји, помаже у разликовању НРу пептичког дуоденитиса од промена у ЦБ.

Интестинални паразити и протозое

Иако, интестинални паразити могу показивати све хистопатолошке карактеристике ЦБ, висок број еозинофила у ламини проприји може да укаже на присуство паразита. *Giardia lamblia*, једна је од најчешћих интестиналних протозоалних болести. *Giardia lamblia* се лако може идентификовати у узорцима биопсија дуоденума изгледају крушколиког облика, са два пара једара смештена у лумену уз епител. Обично не узрокује значајне хистолошке лезије, али се могу видети лезије типа Марш 1 и 2 (71).

Запаљенске болести црева - IBD

Хистолошки изглед М.Сrohn у дванаестопалачном цреву сличан је оном у терминалном илеуму и укључује делимичну активну инфламацију са неутрофилима у ламини проприји и у епителу. Такође описан је и повећан број ИЕЛ, односно промене које одговарају Марш 1.

Дуоденитис изазван лековима

Нестероидни анти-инфламаторни лекови (НСАИЛ): дуоденитис изазван НСАИЛ карактерише се неспецифичном инфилтрацијом ламине проприје неутрофилима и плазма ћелијама, праћеном у неким случајевима, променама типа Марш 1.

Алергија на протеине крављег млека

Алергија на протеине крављег млека (АПКМ) је често удружена са повишеним IgE антителима, или Т ћелијском хиперсензитивношћу и еозинофилијом у крвној слици.

Налаз биопсије дуоденума може да покаже сличне промене као и у ЦБ најчешће затупљеност вилуса и повећан број ИЕЛ. Међутим, у неким случајевима лезије могу да буду и узнапредовале чак до Марш 3б. Такође у појединим ХП налазима, присутна је изражена еозинофилија. Ови пацијенти чешће имају изражен и еозинофилни проктоколитис. У овом случају изражена еозинофилија сугерише на ентеропатију која није изазвана глютенем (163).

Аутоимунска ентеропатија

Аутоимуна ентеропатија је стање које се карактерише имунски посредованом атрофијом цревне слузокоже. Јавља се удружена са неким обољењима као што су полиендокринопатије, ентеропатије и *IPEX* синдром. Укупно око половине случајева у хистопатолошком налазу БТЦ је имало хронични активни дуоденитис са атрофијом ресица, као и неутрофилним криптитисом и стварањем крипт-апсцеса. У неким ХП налазима се може видети инфламација са апоптозом, која подсећа на акутну *GVHD* (*graft versus host disease*). Међутим, аутоимунска ентеропатија се ређе јавља у танком цреву и обично захвата желудац, дебело црево и једњак (71, 163).

Тропски спру и ентеропатија изазвана околином

Чини се да је ентеропатија изазвана околином тесно повезана са тропским спруом, а хистолошке карактеристике биопсије дванаестопалачног црева су суштински сличне као и у ЦБ. У већине пацијената са тропским спруом и ентеропатијом изазваном околином, у ХП налазу БТЦ често су присутне атрофичне промене Марш-Оберхубер тип 3а (парцијална вилусна атрофија). Ентеропатија изазвана околином и тропски спру имају нормалне вредности анти-ТТГ антитела. Пацијенти, су обично деца млађег узраста, мале телесне масе, са или без знакова за малапсорпцију, односно са или без дијареје. За разлику од тропског спруа, ентеропатија изазвана околином не реагује на терапију антибиотцима.

Бактеријско пренасељавање (*Bacterial overgrowth*)

Бактеријско пренасељавање у дванаестопалачном цреву може се јавити због хипоперисталтике црева, која узрокује стазу садржаја у цревима. Често се јавља у пацијената који болују од системске склерозе или дијабетичне неуропатије. Типични симптоми укључују дијареју и стеатореју. Хистологија БТЦ у *Bacterial overgrowth*, креће се од нормалног ХП налаза до промена Марш 3а и 3б. Такође, анти-ТТГ антитела нису повећана. *Bacterial overgrowth* изазива и недостатак витамина Б12. Дефинитивна

дијагноза бактеријског пренасељавања може се поставити културом аспирата танког црева (163).

Рефракторна ЦБ (РЦБ).

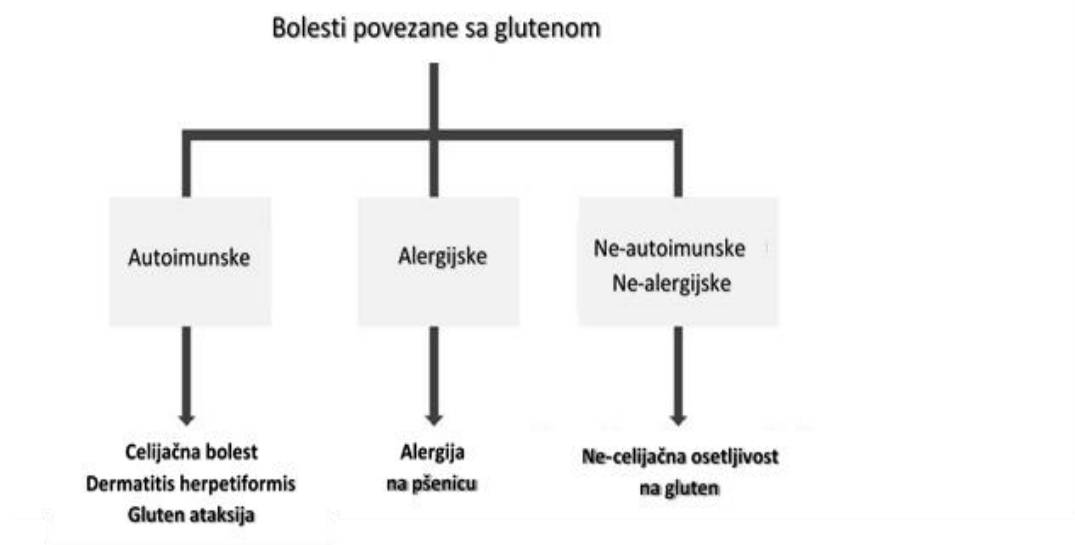
Рефракторна ЦБ (РЦБ) је ретко стање које представља одсуство или непотпун одговор на строгу GFD након периода од 6 до 12 месеци. Преваленција износи 0,3% до 0,4%, а кумулативна инциденција износи 1-4% у периоду од десет година. На основу имуно-фенотипа ИЕЛ РЦБ се дели на 2 типа. Тип 1 карактерише нормалан ИЕЛ имуно фенотип са позитивношћу за CD3 и CD8 антигене. Насупрот томе, у типу 2 постоји абнормалан имуно-фенотип ИЕЛ са површинском негативношћу за CD3, CD4 и CD8 антигене, као и очуваном цитоплазматском експресијом CD3 (CD3e) антигена у више од 50% ИЕЛ. Пацијенти са типом 1 РЦБ, обично реагују на стандардну имуносупресивну терапију. Тип 2 је обично резистентан на стандардну имуносупресивну терапију и може захтевати лечење хемотерапијским или имуномодулаторним лековима. Пацијенти са типом 2 РЦБ имају повећан ризик за развој Т-ћелијског лимфома. (71, 78, 163).

Мој лични коментар на значај хистопатолошког налаза у дијагнози ЦБ

На основу проведене студије и рада, уочено је да степен промена, односно атрофије, је у корелацији са серолошким налазима анти-ТТГ антитела, посебно анти-ТТГ IgA антитела. Што је вредност антитела већа, израженије су и промене у ХП налазу. Уочено је да преко 94% пацијената са ТТГ IgA веће од 10xULN има налаз Марш 3 а, б или ц. Поставља се питање, да ли је Оберхубер-Марш класификација која има 5 градација промена у ХП (не рачунајући нормалан налаз), заиста потребна у свакодневnoj клиничкој пракси или можда да користимо лакшу и елегантнију класификацију, каква је на пример *Енсари*, која има само три типа: нормалан налаз, неки степен оштећења (I- Марш 1; II- 2, 3а, 3б, и тип III- 3ц - тотална вилусна атрофија). Као клиничара, ова класификација је потпуно задовољавајућа, јер се узимају у обзир и други параметри, серологија и генетика. На пример, уколико је промена Марш 2 на ХП налазу или чак промена Марш 3а, одговор патолога може да буде да је налаз компатибилан са ЦБ, али га треба упоредити и са другим параметрима и клиничком сликом. Са друге стране постоји један велики дијапазон диференцијалне дијагнозе у ХП налазу, који се креће од лажно негативног, односно нормалног ХП налаза, до лажно позитивних налаза који обухватају чак Марш 3а и 3б. Да ли је онда биопсија слузокоже танког црева заиста „златни стандард“ за дијагнозу ЦБ, како се раније сматрало и да ли је треба радити? Одговор на прво је да БТЦ више није „златни стандард“ у дијагностици ЦБ, али је свакако и даље део дијагностичког мозаика у дијагнози ЦБ и треба га и даље радити према алгоритмима испитивања, јер како је напред наведено ни једна метода у дијагностици ЦБ, нема 100% тачност и поузданост.

У наредном периоду, развојем нових техника бојења хистопатолошких препарата, те одређивања маркера за ЦБ на самој слузокожи танког црева, значај ХП налаза би се огледао у томе да се препознају латентни облици ЦБ, а можда уколико се развије адекватна дијагностичка и у препознавању не-целијачне осетљивости на глютен (НЦГС), која је постала болест модерног доба, а ови пацијенти се често приказују у клиничкој слици, као *IBS*, у кога не постоји за сада адекватна серолошка, нити генетска дијагностика.

14.10. БОЛЕСТИ ПОВЕЗАНЕ СА ГЛУТЕНОМ- РАЗЛИКЕ У ОДНОСУ НА ЦБ



Слика 11. (26)

Појам болести повезаних са глутеном односи се на спектар различитих клиничких манифестација изазваних уносом глутена, укључујући целијакију (ЦБ), алергију на пшеницу (АП) и не-целијачну осетљивост на глутен - “*gluten sensitivity*” - (НЦГС).

Алергија на пшеницу (АП)

Алергија на пшеницу представља IgE посредовану имунолошку реакција на пшеницу. У АП је до сада детектовано преко двадесет различитих алергена из пшенице. Неки од ових алергена узрокују респираторне симптоме, попут алфа-амилазе/трипсин инхибитор протеина, док су неспецифични липидни трансферни протеин (*nsLTP*) и глијадини повезани са алергијом на храну. АП се може манифестовати као алергија на храну која погађа кожу, гастроинтестинални тракт или респираторни тракт; алергија на храну која зависну од вежбања; професионална астма (тзв. пекарска астма) и ринитис; уртикарија. Преваленција АП износи 0,4–4%, у зависности од узраста пацијената и региона. Деца имају већу преваленцију АП у поређењу са одраслима, посебно ако се пшеница први пут уведе у исхрану после 6 месеци живота. Већина пацијената у педијатријској популацији прерасте алергију до 16. године живота. У већине деце АП се испољава типичним IgE посредованим реакцијама, као што су: уртикарија/ангиоедем, бронхијална опструкција, мучнина и повраћање, абдоминални бол, системска анафилакса. Насупрот томе, у одраслих најчешћи симптоми су комбинација конзумирања пшенице и физичке активности, као и узимања нестероидних антиинфламаторних лекова или алкохола заједно са пшеницом

У најчешћа испољавања АП испољава спадају кожане манифестације, у око 70% случајева. Најчешћа су: уртикарија и ангиоедем, у око 40% случајева, затим екзематозни дерматитис, који се у генерализованој форми испољава у око 40% пацијената, као: атопијски дерматитис, хронични екцем на рукама.

Примарно лечење АП подразумева избегавање пшенице у исхрани, тако и инхалаторних алергена из пшенице. Уколико је АП повезана са физичком активношћу, препоручује се

избегавање вежбања четири до шест сати након уношења пшенице, избегавањем вежбања током врућег времена, сезоне полена, као и ношењем хитне медицинске помоћи – адреналина (83).

Нецелијачна осетљивост на глутен (НЦГС)

Нецелијачна осетљивости на глутен (НЦГС), се карактерише различитим симптомима и честим манифестацијама налик *IBS*. Због недостатка серолошких маркера која су присутна у ЦБ, преваленцију НЦГС је тешко утврдити, али се претпоставља да се у просеку креће од 0,6 до 13% у општој популацији, чешћа је у жена између 20 и 30 година живота. У поређењу са ЦБ у пацијената са НЦГС присутно је знатно више како интестиналних (у око 60% пацијената), тако и екстраинтестиналних симптома (у око 2/3 пацијената) (83, 171). У пацијената са НЦГС, у поређењу са пацијентима са ЦБ, постоји активација унутрашњег, али не и адаптивног имуног одговора. Главни узрочници су оштећена баријера цревног епитела, која узрокује повећану пропустљивост (*gut leaky syndrome*) епитела, као и цревна дизбиоза. У НЦГС постоји инфламаторна реакција на глутен, слично као и у *IBD* пацијената. Као могући покретачи инфламаторне реакције наводе се: глиадин, као и други састојци пшенице, укључујући амилаза-трипсин инхибиторе, ферментабилне олиго-, ди-, моно-сахариде и полиоле (*FODMAP*). Из тог разлога предложена је замена термина НЦГС у термин "нецелијачна осетљивост на пшеницу", истичући да се, осим глутена, у исхрани без глутена такође искључују и други потенцијално биоактивни састојци пшенице и сродних житарица (83, 171). Антитела анти-ТТГ и ЕМА су негативна код НЦГС-а, али АГА IgG се могу детектовати у око 50% пацијената. Када је реч о HLA-DQ2/DQ8, овај хаплотип је позитиван само у 50% пацијената. У НЦГС у ХП налазу дуоденалне слузокоже, архитектура цревних ресица је очувана уз нормално или благо повећање ИЕЛ у кластерима, са нормалним бројем еозинофила и мастоцита. Неправилну дистрибуцију ИЕЛ-а са кластерима у епителу ресица, као хистолошки налаз може да буде од значаја у дијагнози НЦГС, али то треба да потврде будућа истраживања (83).

НЦГС клиничка презентација

Поремећаји повезани са глутеном имају сличну клиничку слику која се виђа у *IBS*. *FODMAP* могу имати кључну улогу у патогенези и изазивању симптома, који се јављају непосредно након уноса пшенице и могу трајати и до неколико дана. Најчешћи гастроинтестинални симптоми који су повезани са *IBS* су: абдоминалне колике, надутост, промењен карактер и конзистенција столице. Разликујемо три типа: *IBS*-Д (дијареја), *IBS*-Ц (констипација) или *IBS*-М (мешовити). Од симптома описују се још: мучнина и симптоми гастроезофагусног рефлукса. Такође, могу се јавити екстраинтестиналне манифестације као што су: главобоља, умор, синдром замагљеног ума (*brain fog*), анксиозност, депресија, поремећај спавања, повећања телесне тежине, болова у зглобовима, осип на кожи и разни облици дерматитиса (53, 83). Од кожных манифестација најчешће је присутан атопијски дерматитис у око 40% пацијената. Такође, запажено је да у 10% пацијената постоји контактни дерматитис повезан са алергијом на никл. Наиме, црвенило након конзумирања пшенице појавило се код свих пацијената са НЦГС-ом који су имали алергију на никл, док су дифузни свраб и уртикарија били присутни код 50% женске популације, док је ова корелација била универзална код деце. Такође, у НЦГС могу бити присутне и кожане промене са сличне дерматитису херпетиформис (DH), а који су узрокује таложење C3 комплемента (83).

Запажена је и потенцијална веза између НЦГС и неуропсихијатријских болести, нарочито болести из аутизам-спектра (ПАС) и шизофреније. Ова веза може бити последица повећане интестиналне пропустљивости (*gut-licky sy*), јер молекули глутена могу проћи у крвоток и дуж осовине црево-мозак (*gut-brain axis*), остварити контакт са опиоидним рецепторима, те на тај начин узроковати активацију имунолошких ћелија и покретање инфламаторног процеса. Претпоставља се, да овај механизам има за последицу измењено понашање пацијената. Такође, глутен може утицати на продукцију серотонина. Унос хране која садржи глутен, може да изазове цревну дисбиозу, која за последицу има смањену продукцију серотонина, услед поремећене цревне микробиоте, а која представља значајан директан или индиректан извор серотонина. Претпоставља се да овај механизам може да буде окидач за развој поремећаја из спектра депресије (126).

Лечење НЦГС подразумева дијету. Међутим, постоје постоје контроверзни подаци о ефикасности различитих дијета попут безглутенске дијете (*GFD*) и дијете са ниским садржајем *FODMAP* (*lowFODMAP*). Ипак, тренутни докази подржавају *GFD* као терапију првог избора. Међутим, сама *lowFODMAP* дијета, може да смањи гастроинтестиналне симптоме код појединаца (83).

Велики проблем дијагностике НЦГС је недостатак јасних серолошких анализа, а једини критеријум за сада је увођење *GFD* и престанка симптома, као и поновно јављање симптома при поновном увођењу глутена у исхрану. Процењује се да око 10%-20% особа само-пријави неподношење глутена која није повезана са ЦБ, али ни са НЦГС и АП. Зато је предложена дијагноза, двоструко следеће проба са плацебом и глутеном. Међутим, ово тестирање није идеално, јер око 40% учесника пријављује сличне или појачане симптоме приликом плацебо дијете, односно са исхрани са глутеном. Ово опажање указује на постојање снажног ноцебно ефекта. Ово указује на постојање и других окидача, као што су већ поменути *FODMAP*, који могу да имају улогу у настанку симптома у неких од пацијената. Такође, потребно је у будућности дефинисати колика је улога интеракције *gut-brain axis* и томе треба дати висок приоритет (171).

Термин НЦГС-а у научној литератури је први пут описан 2010. године. Осим компоненти пшенице фруктани из групе *FODMAP*, такође могу изазвати тегобе, а то дефинитивно сугерише да је "нецелијачна осетљивост на пшеницу" "кишобран" термин који покрива НЦГС, али и друге поремећаје. Ова чињеница омогућава да се у данашње време развијају персоналне дијете за пацијенте са симптомима НЦГС (170).

6. ЗАКЉУЧАК

Постављена су 3 циља испитивања у овом раду:

1. Испитати поузданост трансклутаминских антитела као основних неинвазивних серолошких дијагностичких параметара у дијагностици целијачне болести (ЦБ).
2. Испитати поузданост типизирања хуманог леукоцитног антигена (HLA) DQ2/DQ8 као допунске методе у комбинацији са серолошким и хистопатолошким поступцима у дијагностици ЦБ.
3. Испитати корелацију хистопатолошког налаза биопсије танког црева са вредностима трансклутаминских антитела код деце са сумњом на ЦБ.

1. Циљ: испитати поузданост трансклутаминских антитела (анти-TTG) као основних неинвазивних серолошких дијагностичких параметара у дијагностици целијачне болести (ЦБ).

- Анти- TTG антитела су основна серолошка дијагностичка метода у скринингу на ЦБ. За разлику од ЕМА, знатно су јефтинија и лакша за употребу и зато се користе као скрининг метода.

Анти-TTG IgA антитела:

- У нашој кохорти пацијената анти TTG-IgA није имала лажно позитивних налаза у опсегу већим од 10xULN, осим у стањима која су повезана са аутоимуном болешћу, два пацијената са АИХ.
- У 70% пацијената са дијагностикованом ЦБ (71/101) је вредност анти-TTG IgA била већа од 100 U/ml
- Такође, када је реч о анти-TTG IgA, није било лажно позитивних налаза у опсегу вредности између $\geq 50 \leq 100$ U/ml (5-10 x ULN), осим једног пацијента са аутоимуном болешћу- IBD.
- Исто тако, за анти-TTG IgA антитела, није било лажно позитивних налаза у опсегу вредности између $\geq 30 < 50$ U/ml.
- Уочени су лажно позитивни налази за анти-TTG IgA антитела у опсегу вредности < 30 U/ml
- Нормалне вредности анти-TTG IgA уочене су у 8.9% пацијената (9/101 пацијената), с тим да је у 1% пацијената вредност анти-TTG IgA износила 0U/ml (1/101 од пацијената), без IgA дефицита.
- *Cut-off* вредност за анти-TTG IgA у нашој судији процењена је на 13 U/ml (*cut-off* вредност декларисана од стране произвођача је износила 10 U/ml).
- Закључак је, да уколико посматрамо нашу студију, уколико помножимо *cut-off* вредност за анти-TTG IgA са 3 добијамо резултат од 39 U/ml, што значи оквирно да све вредности око 40-50 U/ml и више (приближно 5xULN), уз позитивна ЕМА антитела и позитивну HLA-DQ2/DQ8 типизацију се могу сматрати могућом ЦБ, користећи само серолошки, неинвазивни приступ у дијагностици. Мана у студији је мањи број ових пацијената, зато је потребно надале изучавати и повећати ову групу пацијената.
- Надале, тестирана је сензитивност и специфичност у различитим вредностима анти-TTG IgA. За вредности анти-TTG IgA $\geq 50 \leq 100$ U/ml: сензитивност (Sn) је износила 89,1%, специфичност (Sp) 96,1%, позитивна предиктивна варијабла (PPV) 96,7%, као и Likelihood ratio (LR-) од 0,11 (гранична вредност је 0,1). Са друге стране за вредности анти-TTG IgA > 100 U/ml, Sn је износила 77,2%, Sp 97,4%, PPV 97,5%. Дакле, када је реч о специфичности на ове две групе

пресека, уочава је да су добијени резултати готово идентични и да разлика износи само око 1%, што говори у прилог серолошке дијагностике ЦБ за вредности 5xULN и више.

Анти-TTG IgG антитела:

- У нашој кохорти пацијената анти-TTG IgG није имала лажно позитивних налаза веће од 10xULN, чак ни у придруженим аутоимуним стањима.
- У 29% пацијената са дијагностикованом ЦБ (29/101) је вредност анти-TTG IgA била већа од 100 U/ml.
- Када је реч о анти-TTG IgG, у опсегу $\geq 50 \leq 100$ U/ml (5-10xULN), 2.6% пацијената је имало лажно позитивни налаз, који није у вези са аутоимуним стањем
- Такође, утврђено је да за анти-TTG IgG антитела, да за вредности $\geq 10 < 50$ U/ml, проценат лажно позитивних налаза је износио 10,3%, а није у вези са аутоимуним стањем
- *Cut-off* вредност за анти-TTG IgG у нашој судији процењена је на 5 U/ml (*cut-off* вредност декларисана од стране произвођача је износила 10 U/ml).
- Надаље, тестирана је сензитивност и специфичност у различитим вредностима анти-TTG IgG. За вредности анти-TTG IgG > 50 U/ml, сензитивност (Sn) је износила 41.6%, а специфичност (Sp) 97.4%, позитивна предиктивна варијабла (PPV) 95.4%. За вредности анти-TTG IgG > 100 U/ml, Sn је износила 28,7%, Sp 1, PPV 1. Дакле, за вредност анти-TTG IgG > 100 U/ml, добијена је специфичност и позитивна предиктивна варијабла од 100%.
- Мање вредности анти-TTG IgG у односу на анти-TTG IgA могу се објаснити споријом кинетиком ове подврсте антитела, вредности спорије расту, али и спорије опадају, слично као поређење ЦРП-а и седиментације.
- У IgA дефициту сви пацијенти са дијагностикованом ЦБ су имали позитивна анти-TTG IgG антитела, док је очекивана вредност анти-TTG IgA била 0 U/ml.

2. Циљ: испитати поузданост типизирања хуманог леукоцитног антигена (HLA) DQ2/DQ8 као допунске методе у комбинацији са серолошким и хистопатолошким поступцима у дијагностици ЦБ

- Позитиван HLA-DQ2/DQ8 је детектован у 99% пацијената (100/101), са дијагностикованом ЦБ. Такође, у једног пацијента са ЦБ детектован је HLA-DQ 7.5.
- HLA-DQ2/DQ8 је детектован у 42% пацијената (33/87) у којих није дијагностикована ЦБ. Већи проценат од око 30% у нормалној популацији, протумачен је фамилијарном агрегацијом испитиваних пацијената.
- У нашем испитивању, добијене су следеће статистичке вредности за HLA-DQ2/DQ8: Sn 99%, Sp 57, 69%, PPV 70%, NPV 98, 30%. Ови резултати се могу тумачити на следећи начин: ниска специфичност и позитивна предиктивна варијабла чине да HLA-DQ2/DQ8 се не може користити као самосталан тест у дијагностици ЦБ. Са друге стране, висока сензитивност говори у прилог томе, да ће овај налаз бити позитиван у скоро свих пацијената, односно у нашој студији уколико придружимо и присутан HLA-DQ 7.5, Sn је износила 100%.
- HLA типизација у класичној серолошкој дијагностици ЦБ, не би требала да повећа проценат дијагностикованих пацијената. Са друге стране, негативна предиктивна варијабла, уколико укључимо и HLA-DQ 7.5, износи такође скоро

100%, те се значај HLA типизације огледа у искључењу ЦБ, како је и у водичима добре праксе, односно сама позитивност HLA-DQ2/DQ8 неће допринети прецизности дијагнозе, али ће је сигурно појачати.

- Међутим, постојање аутоимуних болести са могућим лажно позитивним налазима анти-TTG IgA, IgA дефицит (IgAD), где је вредност анти-TTG IgA 0, ниже вредности анти-TTG IgA испод 100U/ml, чине да је HLA-DQ2/DQ8 типизација вредан дијагностички алат.

3. Циљ: испитати корелацију хистопатолошког налаза биопсије танког црева са вредностима трансглутаминских антитела код деце са сумњом на целијачну болест.

- Када је реч и биопсијској дијагностици ЦБ, иако се у интерној медицини и даље сматра „златним стандардом“, а у педијатријској гастроентерологији заговара се када је год могуће серолошки приступ дијагнозе.
- Утврђено је да на основу прегледаних биопсијских узорака, степен атрофије танког црева је у корелацији, са висином серумских вредности антитела, поготову анти-TTG IgA.
- У око 95%, пацијената са дијагнозом ЦБ, у ХП налазу описан је степен атрофије Марш 3 (а,б,ц). Овакав налаз подржава чињеницу из водича добре праксе, да биопсија танког црева, неће повећати прецизност саме дијагностике ЦБ, већ и даље треба уважавати принцип серолошког приступа у дијагнози ЦБ у педијатријској популацији
- У 3% пацијената налаз је био уредан, 2% пацијената је имало Марш 1, а 1% пацијената је имало Марш 2 у ХП налазу. С обзиром на то да је само око нешто више од 5% пацијената имало овакав налаз, поставља се питање, да ли је у опису ХП налаза потребно користити компликовану Оберхубер-Марш класификацију, или се одредити за елегантнију и једноставнију класификацију, какву је понудила Енсари. У свакодневном ради клиничара гастроентеролога Енсари класификација би била довољна, без ремећења прецизности дијагностике.
- У 10,3% пацијената (8/78), у ХП налазу описане су промене Марш 3а (парцијална вилусна атрофија) 7,7%, као и Марш 3б 2,6% (суптотална вилусна атрофија), а у којих није дијагностикована ЦБ.
- Потребно је истаћи, да у овој студији промене Марш 3ц (тотална вилусна атрофија) у ХП налазу, нису детектоване као лажно позитивни налаз. Стога, уско гледајући само ХП дијагностику, без осталих параметара серологије и генетике, једино Марш 3ц се може прихватити као „златни стандард“ у дијагностици ЦБ у педијатријској популацији. Овакав приступ је био прихваћен пре нешто више од 20 година, када на располагању није било серолошке и генетске дијагностике. Томе говори у прилог да у 26 пацијената у којих је у том периоду постављена дијагноза ЦБ, само на основу ХП налаза Марш 3а или 3б, након оптерећења глутеном, као и укључења серолошке и генетске дијагностике, само у 2 пацијента је потврђена ЦБ.

***Збуњујуће (confounding) варијабле у студији: пол и узраст, аутоимунска стања, IgA дефицит, ЕМА**

- Када је реч о полу, на основу ове студије закључено је да ЦБ јавља више у женског пола, у односу на мушки пол у односу 70:30%, односно 2,33 пута је чешћа. Овакав је налаз је очекиван и у складу је са подацима из литературе.
- Када је реч о узрасту, на основу података у студији, није утврђена статистички значајна разлика у дијагностици ЦБ у односу за узраст, поготову у израсту испод две и преко две године живота. Овај податак говори у прилог да је серолошки приступ са анти-ТТГ антителима, као основна скрининг метода у дијагнози ЦБ, прихватљив и у млађе деце, са две и испод 2 године живота.
- Аутоимунска стања и ЦБ: у студији фокус је био на 3 аутоимунска стања: Аутоимунски хепатитис (АИХ), IBD-M.Crohn, DM-tip1. У АИХ нађене су лажно позитивне вредности анти-ТТГ IgA преко 10xULN, а у M.Crohn између 5-10xULN. Такође, у овој групи пацијената, постављена је и дијагноза ЦБ, али руководећи се могућношћу лажно позитивне серологије за анти-ТТГ IgA, дијагноза је подразумевала пун спектар дијагностичких алата: позитивна анти-ТТГ IgG антитела, позитивна ЕМА антитела, позитивну HLA-DQ2/8 типизацију, као ХП налаз са Марш 3 променама у ХП слици. Са друге стране, у дијагностикованих пацијената са DM-тип1, није било лажно позитивних налаза, мада се они описују у литератури.
- Уочено је да анти-ТТГ IgG антитела нису била позитивна у придруженим аутоимунским стањима: АИХ и IBD. Ову појаву свакако треба додатно истражити и пратити.
- Недостатак ове студије се огледа у томе, да наша клиника нема у серолошкој дијагностици ЕМА антитела. Стога, ЕМА су рађена само у одређеним ситуација, уколико су анти-ТТГ IgA била испод 10xULN, аутоимунским обољењима, негативном серологијом на анти-ТТГ и клиничком сликом која је указивала на могућу ЦБ.
- Позитивност или негативност ЕМА у овим случајевима, била од великог значаја за постављање дијагнозе ЦБ.

На основу свих података из студије и напред наведених чињеница, закључено је следеће:

1. Уколико су анти-TTG IgA и IgG преко 10xULN уз позитивну HLA-DQ2/DQ8 типизацију, може се поставити дијагноза ЦБ у око 30% случајева
2. Уколико су анти-TTG IgA већа од 10xULN, а анти-TTG IgG мања од 10xULN, уз позитивну HLA-DQ2/DQ8 типизацију и према водичима добре праксе, уз препоручено одређивање ЕМА антитела (кад год су доступна), серолошка дијагностика је могућа у додатних 40% случајева.
3. На овај начин серолошка дијагноза се може поставити у око 70% пацијената, значи више од 2/3 пацијената.
4. Чињеница да тренд позитивних налаза анти-TTG IgA у вредностима мањих од 5xULN (чак и између 3-5xULN), уз позитивна ЕМА антитела и HLA-DQ2/DQ8 типизацију, уколико се покаже тачним на већем узорку пацијената, пружа могућност да серолошка дијагностика ЦБ може теоретски да износи између 80-90%, што би био одличан резултат. Зато у наредном периоду је потребан посебан фокус на пацијенте са овим референтним опсезима за анти-TTG IgA антитела.
5. Уколико је анти-TTG IgA веће од 10xULN, те уколико у свакодневној серолошкој дијагностици постоје ЕМА антитела, HLA DQ2/DQ8 типизацију није потребно радити јер не доприноси даљем проценту повећања дијагнозе ЦБ, али са друге стране увек су добродошла да се појача сама дијагноза.
6. HLA-DQ2/DQ8 типизацију би било потребно урадити уколико је анти-TTG IgA испод 10xULN, као и уколико су присутна придружена аутоимуна стања.
7. Анти-TTG IgG има много мање перформансе од анти-TTG IgA, али његова специфичност и PPV од 100% на вредностима 10xULN, као и негативност у одређеним аутоимуним стањима или позитивност у IgA дефициту, га чине и даље стандардом у скринингу на ЦБ.
8. Обавезно у скринингу за ЦБ, поред анти-TTG антитела, одредити и ниво укупног IgA због IgA дефицита (како и препоручују водичи добре праксе).
9. Хистопатолошки налаз у педијатрији, није прихватљив као „златни стандард“ у дијагностици ЦБ, осим Марш 3ц.
10. Размотрити увођење једноставније хистопатолошке класификације у свакодневну употребу, каква је Енсари класификација.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Milinić N. Glutenska enteropatija (enteropatija senzitivna na gluten, celijačna bolest, nertopski spru). In: Seferović M, Micić D, Lalić N, eds. Interna medicina. Beograd: Medicinski faklutet; 2021: 377-379.
2. Jones J, Iqbal S, Yap J, et al. Celiac disease. Reference article, Radiopaedia.org (Accessed on 08 Feb 2024) <https://doi.org/10.53347/rID-6474>.
3. Freeman HJ. Celiac disease: a disorder emerging from antiquity, its evolving classification and risk, and potential new treatment paradigms. Gut Liver. 2015 Jan;9(1):28-37. doi: 10.5009/gnl14288. PMID: 25547088; PMCID: PMC4282854.
4. Tekiner H. Aretaeus of Cappadocia and his treatises on diseases. Turk Neurosurg. 2015;25(3):508-12. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.12347-14.0. PMID: 26037198.
5. García Nieto VM. A history of celiac disease. In Rodrigo L and Peña AS, editors. Celiac Disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity. Barcelona, Spain: OmniaScience; 2014. p. 45-59.
6. Dowd B, Walker-Smith J. Samuel Gee, Aretaeus, and The Coeliac Affection. British Med Jour, 1974; 2: 45-7.
7. (hcd 12) Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. BMJ. 1988 Dec 24-31;297(6664):1646-9. doi: 10.1136/bmj.297.6664.1646. PMID: 3147783; PMCID: PMC1838854.
8. Losowsky MS. A history of coeliac disease. Dig Dis. 2008;26(2):112-20. doi: 10.1159/000116768. Epub 2008 Apr 21. PMID: 18431060.
9. Hass VS, Haas SV. The value of the banana in the treatment of celiac disease. Amer Jour of Dis of Child, 1924; 28(4). 421-37.
10. van Berge-Henegouwen GP, Mulder CJ. Pioneer in the gluten free diet: Willem-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. Gut. 1993 Nov;34(11):1473-5. doi: 10.1136/gut.34.11.1473. PMID: 8244125; PMCID: PMC1374403.
11. Dicke WK, Weijers HA, van De Kamer JH. Coeliac disease. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. Acta Paediatr (Stockh). 1953 Jan;42(1):34-42. doi: 10.1111/j.1651-2227.1953.tb05563.x. PMID: 13050382.
12. Buchan DJ, Marko AM, Gerrard JW. The malabsorption syndrome: its treatment with a gluten free diet. Can Med Assoc J. 1958 Aug 15;79(4):227-30. PMID: 13573263; PMCID: PMC1829999.
13. Riznik P, Balogh M, Bódi P, De Leo L, Dolinsek J, Guthy I, Gyimesi J, Horváth Á, Kis I, Klemenak M, Koletzko B, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Krenčnik T, Not T, Palcevski G, Pollák É, Sblattero D, Tokodi I, Vogrincic M, Werkstetter KJ, Dolinsek J. The Use of Biopsy and "No-Biopsy" Approach for Diagnosing Paediatric Coeliac Disease in the Central European Region. Gastroenterol Res Pract. 2019 Nov 15;2019:9370397. doi: 10.1155/2019/9370397. PMID: 31827506; PMCID: PMC6885281.
14. Bozzola M, Meazza C, Gertosio C, Pagani S, Larizza D, Calcaterra V, Luinetti O, Farello G, Tinelli C, Iughetti L. Omitting duodenal biopsy in children with suspected celiac disease and extra-intestinal symptoms. Ital J Pediatr. 2017 Jul 15;43(1):59. doi: 10.1186/s13052-017-0377-5. PMID: 28709446; PMCID: PMC5512979.
15. Walker-Smith J, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling D, and Visakorpi J. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Arch of Dis in Child, 1990; vol. 65, no. 8, pp. 909-911.
16. Berger E, Buergin-Wolff A, Freudenberg E. Diagnostic value of the demonstration of gliadin antibodies in celiac disease. Klin Wochenschr. 1964 Aug 15;42:788-90. German. doi: 10.1007/BF01479129. PMID: 14297735.

17. Seah PP, Fry L, Rossiter MA, Hoffbrand AV, Holborow EJ. Anti-reticulin antibodies in childhood coeliac disease. *Lancet*. 1971 Sep 25;2(7726):681-2. doi: 10.1016/s0140-6736(71)92248-3. PMID: 4105712.
18. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol*. 1984 Oct;111(4):395-402. doi: 10.1111/j.1365-2133.1984.tb06601.x. PMID: 6435666.
19. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med*. 1997 Jul;3(7):797-801. doi: 10.1038/nm0797-797. PMID: 9212111.
20. Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *J Exp Med*. 1989 Jan 1;169(1):345-50. doi: 10.1084/jem.169.1.345. PMID: 2909659; PMCID: PMC2189170.
21. Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A, Goldblum SE. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet*. 2000 Apr 29;355(9214):1518-9. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02169-3. PMID: 10801176.
22. Noordzij M, Dekker FW, Zoccali C, Jager KJ. Measures of disease frequency: prevalence and incidence. *Nephron Clin Pract*. 2010;115(1):17-20. doi:10.1159/000286345
23. Stewart, A. Basic statistics and epidemiology: a practical guide. 4th Ed. Oxford: CRC Press 2016: 75-76.
24. King JA, Jocelyn Jeong J, Underwood EF, Quan J, Nicola Panaccione N et al. Incidence of Celiac Disease Is Increasing Over Time: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2020;00:1–19. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000523>
25. Al Kindi R, Al Salmani A, Al Hadhrami R and Al Maashani M. Epidemiology of Celiac Disease. In Rodrigo L, editor. *Celiac Disease and Gluten-Free Diet* [Internet]. IntechOpen; 2023. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.105328>.
26. Tamai T, Ihara K. Celiac Disease Genetics, Pathogenesis, and Standard Therapy for Japanese Patients. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 20;24(3):2075. doi: 10.3390/ijms24032075. PMID: 36768398; PMCID: PMC9916540.
27. Lebwohl B, Rubio-Tapia A. Epidemiology, Presentation, and Diagnosis of Celiac Disease. *Gastroenterology*. 2021 Jan;160(1):63-75. doi: 10.1053/j.gastro.2020.06.098. Epub 2020 Sep 18. PMID: 32950520.
28. Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, Fasano A. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC Med*. 2019 Jul 23;17(1):142. doi: 10.1186/s12916-019-1380-z. PMID: 31331324; PMCID: PMC6647104.
29. Oliveira LC, Dornelles AC, Nisihara RM, Bruginski ERD, Santos PID, Cipolla GA, Boschmann SE, Messias-Reason IJ, Campos FR, Petzl-Erler ML, Boldt ABW. The Second Highest Prevalence of Celiac Disease Worldwide: Genetic and Metabolic Insights in Southern Brazilian Mennonites. *Genes (Basel)*. 2023 Apr 30;14(5):1026. doi: 10.3390/genes14051026. PMID: 37239386; PMCID: PMC10218569.
30. Singh P, Arora A, Strand TA, Leffler DA, Catassi C, Green PH, Kelly CP, Ahuja V, Makharia GK. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jun;16(6):823-836.e2. doi: 10.1016/j.cgh.2017.06.037. Epub 2018 Mar 16. PMID: 29551598.
31. Al Kindi R, Al Salmani A, Al Hadhrami R and Al Maashani M. Epidemiology of Celiac Disease. In Rodrigo L, editor. *Celiac Disease and Gluten-Free Diet* [Internet]. IntechOpen; 2023. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.105328>.

32. Mittal P, Arora D, Parashar S, Goyal R, Khan A, Chopra H, Mishra DK, Gautam RK, Dhama K. Celiac disease: Pathogenesis, disease management and new insights into the herbal-based treatments. *Narra J*. 2023 Aug;3(2):e147. doi: 10.52225/narra.v3i2.147. Epub 2023 Jul 12. PMID: 38454981; PMCID: PMC10919711.
33. De Re V, Magris R, Cannizzaro R. New Insights into the Pathogenesis of Celiac Disease. *Front Med (Lausanne)*. 2017 Aug 31;4:137. doi: 10.3389/fmed.2017.00137. PMID: 28913337; PMCID: PMC5583152.
34. El-Metwally A, Toivola P, AlAhmary K, Bahkali S, AlKhathaami A, AlSaqabi MK, Al Ammar SA, Jawed M, Alosaimi SM. The Epidemiology of Celiac Disease in the General Population and High-Risk Groups in Arab Countries: A Systematic Review. *Biomed Res Int*. 2020 Jun 3;2020:6865917. doi: 10.1155/2020/6865917. PMID: 32596351; PMCID: PMC7292982.
35. Jansson-Knodell CL, King KS, Larson JJ, Van Dyke CT, Murray JA, Rubio-Tapia A. Gender-Based Differences in a Population-Based Cohort with Celiac Disease: More Alike than Unalike. *Dig Dis Sci*. 2018 Jan;63(1):184-192. doi: 10.1007/s10620-017-4835-0. Epub 2017 Nov 10. PMID: 29127609; PMCID: PMC5961510.
36. Elli L, Leffler D, Cellier C, Lebwohl B, Ciacci C, Schumann M, Lundin KEA, Chetcuti Zammit S, Sidhu R, Roncoroni L, Bai JC, Lee AR, Dennis M, Robert ME, Rostami K, Khater S, Comino I, Cebolla A, Branchi F, Verdu EF, Stefanolo JP, Wolf R, Bergman-Golden S, Trott N, Scudeller L, Zingone F, Scaramella L, Sanders DS. Guidelines for best practices in monitoring established coeliac disease in adult patients. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2024 Mar;21(3):198-215. doi: 10.1038/s41575-023-00872-2. Epub 2023 Dec 18. PMID: 38110546.
37. Aboulaghras S, Piancatelli D, Oumhani K, Balahbib A, Bouyahya A, Taghzouti K. Pathophysiology and immunogenetics of celiac disease. *Clin Chim Acta*. 2022 Mar 1;528:74-83. doi: 10.1016/j.cca.2022.01.022. Epub 2022 Feb 1. PMID: 35120899.
38. de Punder K, Pruimboom L. The dietary intake of wheat and other cereal grains and their role in inflammation. *Nutrients*. 2013 Mar 12;5(3):771-87. doi: 10.3390/nu5030771. PMID: 23482055; PMCID: PMC3705319.
39. Shewry P. What Is Gluten-Why Is It Special? *Front Nutr*. 2019 Jul 5;6:101. doi: 10.3389/fnut.2019.00101. PMID: 31334243; PMCID: PMC6625226.
40. Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *F1000Res*. 2020 Jan 31;9:F1000 Faculty Rev-69. doi: 10.12688/f1000research.20510.1. PMID: 32051759; PMCID: PMC6996528.
41. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*. 2016 Oct 21;4(4):e1251384. doi: 10.1080/21688370.2016.1251384. PMID: 28123927; PMCID: PMC5214347.
42. Zingoni A, Molfetta R, Fionda C, Soriani A, Paolini R, Cippitelli M, Cerboni C, Santoni A. NKG2D and Its Ligands: "One for All, All for One". *Front Immunol*. 2018 Mar 12;9:476. doi: 10.3389/fimmu.2018.00476. PMID: 29662484; PMCID: PMC5890157
43. Patt YS, Lahat A, David P, Patt C, Eyade R, Sharif K. Unraveling the Immunopathological Landscape of Celiac Disease: A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci*. 2023 Oct 23;24(20):15482. doi: 10.3390/ijms242015482. PMID: 37895160; PMCID: PMC10607730.
44. Dunne MR, Byrne G, Chirido FG, Feighery C. Coeliac Disease Pathogenesis: The Uncertainties of a Well-Known Immune Mediated Disorder. *Front Immunol*. 2020 Jul 8;11:1374. doi: 10.3389/fimmu.2020.01374. PMID: 32733456; PMCID: PMC7360848.

45. López Casado MÁ, Lorite P, Ponce de León C, Palomeque T, Torres MI. Celiac Disease Autoimmunity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2018 Dec;66(6):423-430. doi: 10.1007/s00005-018-0520-z. Epub 2018 Aug 25. PMID: 30167716.
46. Medhasi S, Chantratita N. Human Leukocyte Antigen (HLA) System: Genetics and Association with Bacterial and Viral Infections. *J Immunol Res*. 2022 May 26;2022:9710376. doi: 10.1155/2022/9710376. PMID: 35664353; PMCID: PMC9162874.
47. Carosella ED. Jean Dausset 1916-2009. *Nat Immunol*. 2009 Aug;10(8):797. doi: 10.1038/ni0809-797. PMID: 19621036.
48. Gough SC, Simmonds MJ. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Curr Genomics*. 2007 Nov;8(7):453-65. doi: 10.2174/138920207783591690. PMID: 19412418; PMCID: PMC2647156.
49. Zhong H, Zhao C, Luo S. HLA in myasthenia gravis: From superficial correlation to underlying mechanism. *Autoimmun Rev*. 2019 Sep;18(9):102349. doi: 10.1016/j.autrev.2019.102349. Epub 2019 Jul 16. PMID: 31323359.
50. Cruz-Tapias P, Rojas-Villarraga A, Maier-Moore S, Anaya JM. HLA and Sjögren's syndrome susceptibility. A meta-analysis of worldwide studies. *Autoimmun Rev*. 2012 Feb;11(4):281-7. doi: 10.1016/j.autrev.2011.10.002. Epub 2011 Oct 7. PMID: 22001416.
51. Capittini C, De Silvestri A, Rebuffi C, Tinelli C, Poddighe D. Relevance of HLA-DQB1*02 Allele in the Genetic Predisposition of Children with Celiac Disease: Additional Cues from a Meta-Analysis. *Medicina (Kaunas)*. 2019 May 22;55(5):190. doi: 10.3390/medicina55050190. PMID: 31121940; PMCID: PMC6571594.
52. Aboulaghras S, Piancatelli D, Taghzouti K, Balahbib A, Alshahrani MM, Al Awadh AA, Goh KW, Ming LC, Bouyahya A, Oumhani K. Meta-Analysis and Systematic Review of HLA DQ2/DQ8 in Adults with Celiac Disease. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 7;24(2):1188. doi: 10.3390/ijms24021188. PMID: 36674702; PMCID: PMC9863503.
53. D'Antonio M, Reyna J, Jakubosky D, Donovan MK, Bonder MJ, Matsui H, Stegle O, Nariai N, D'Antonio-Chronowska A, Frazer KA. Systematic genetic analysis of the MHC region reveals mechanistic underpinnings of HLA type associations with disease. *Elife*. 2019 Nov 20;8:e48476. doi: 10.7554/eLife.48476. PMID: 31746734; PMCID: PMC6904215.
54. Mijandrušić Sinčić B, Nada Starčević Čizmarević N, Licul V, Crnić-Martinović M, Ristić S, Kapović M. HLA-DQA1 i HLADQB1 geni u pacijenata s celijakijom. *Medicina fluminensis*. 2016, Vol. 52, No. 1, 87-94.
55. Starčević Čizmarević N, Mijandrušić-Sinčić B, Licul V, Kapović M, Ristić S. Geni i celijakija. *Paediatr Croat*. 2015;59:88-94 <http://dx.doi.org/10.13112/PC.2015.14>.
56. Zubkiewicz-Kucharska A, Jamer T, Chrzanowska J, Akutko K, Pytrus T, Stawarski A, Noczyńska A. Prevalence of haplotype DQ2/DQ8 and celiac disease in children with type 1 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2022 Sep 12;14(1):128. doi: 10.1186/s13098-022-00897-8. PMID: 36096955; PMCID: PMC9465882.
57. Farina F, Picascia S, Pisapia L, Barba P, Vitale S, Franzese A, Mozzillo E, Gianfrani C, Del Pozzo G G. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 Alleles, Conferring Susceptibility to Celiac Disease and Type 1 Diabetes, are More Expressed Than Non-Predisposing Alleles and are Coordinately Regulated. *Cells*. 2019 Jul 19;8(7):751. doi: 10.3390/cells8070751. PMID: 31331105; PMCID: PMC6678473.
58. Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D. Antigliadin and Antideamidated Gliadin Peptide Antibodies, In Editor(s): Yehuda Shoenfeld, Pier Luigi Meroni, M. Eric Gershwin, *Autoantibodies (Third Edition)*, Elsevier, 2014, Chapter 55 471-476, ISBN 9780444563781, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-56378-1.00055-1>.

59. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA, Murray JA. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008 Apr;6(4):426-32; quiz 370. doi: 10.1016/j.cgh.2007.12.030. Epub 2008 Mar 4. PMID: 18304884; PMCID: PMC2440671.
60. Ghazanfar H, Javed N, Lee S, Shaban M, Cordero D, Acherjee T, Hasan KZ, Jyala A, Kandhi S, Hussain AN, Patel H. Novel Therapies for Celiac Disease: A Clinical Review Article. *Cureus.* 2023 May 14;15(5):e39004. doi: 10.7759/cureus.39004. PMID: 37323330; PMCID: PMC10263194.
61. Silvester JA, Kurada S, Sz wajcer A, Kelly CP, Leffler DA, Duerksen DR. Tests for Serum Transglutaminase and Endomysial Antibodies Do Not Detect Most Patients With Celiac Disease and Persistent Villous Atrophy on Gluten-free Diets: a Meta-analysis. *Gastroenterology.* 2017 Sep;153(3):689-701.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2017.05.015. Epub 2017 May 22. PMID: 28545781; PMCID: PMC5738024.
62. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol.* 1984 Oct;111(4):395-402. doi: 10.1111/j.1365-2133.1984.tb06601.x. PMID: 6435666.
63. Poland DC, Ceelie H, Dinkelaar RB, Beijer C. Determination of anti-endomysium IgA antibodies in the diagnosis of celiac disease: comparison of a novel ELISA-based assay with conventional immunofluorescence. *World J Gastroenterol.* 2006 May 7;12(17):2779-80. doi: 10.3748/wjg.v12.i17.2779. PMID: 16718769; PMCID: PMC4130991.
64. Tonutti E, Bizzaro N. Anti-tissue transglutaminase and anti-andomysial antibodies. In Editor(s): Yehuda Shoenfeld, M. Eric Gershwin, Pier Luigi Meroni, Autoantibodies (Second Edition), Elsevier, 2007, Pages 443-450, ISBN 9780444527639, <https://doi.org/10.1016/B978-044452763-9/50059-7>.
65. Facchiano F, Facchiano A, Facchiano AM. The role of transglutaminase-2 and its substrates in human diseases. *Front Biosci.* 2006 May 1;11:1758-73. doi: 10.2741/1921. PMID: 16368554.
66. McConkey DJ, Orrenius S. The role of calcium in the regulation of apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997 Oct 20;239(2):357-66. doi: 10.1006/bbrc.1997.7409. PMID: 9344835.
67. Griffin M, Casadio R, Bergamini CM. Transglutaminases: nature's biological glues. *Biochem J.* 2002 Dec 1;368(Pt 2):377-96. doi: 10.1042/BJ20021234. PMID: 12366374; PMCID: PMC1223021.
68. Eckert RL. Transglutaminase 2 takes center stage as a cancer cell survival factor and therapy target. *Mol Carcinog.* 2019 Jun;58(6):837-853. doi: 10.1002/mc.22986. Epub 2019 Mar 28. PMID: 30693974; PMCID: PMC7754084.
69. Wilhelmus MM, Verhaar R, Andringa G, Bol JG, Cras P, Shan L, Hoozemans JJ, Drukarch B. Presence of tissue transglutaminase in granular endoplasmic reticulum is characteristic of melanized neurons in Parkinson's disease brain. *Brain Pathol.* 2011 Mar;21(2):130-9. doi: 10.1111/j.1750-3639.2010.00429.x. Epub 2010 Aug 20. PMID: 20731657; PMCID: PMC8094245.
70. Ricotta M, Iannuzzi M, Vivo GD, Gentile V. Physio-pathological roles of transglutaminase-catalyzed reactions. *World J Biol Chem.* 2010 May 26;1(5):181-7. doi: 10.4331/wjbc.v1.i5.181. PMID: 21541002; PMCID: PMC3083958.
71. Villanacci V, Vanoli A, Leoncini G, Arpa G, Salviato T, Bonetti LR, Baronchelli C, Saragoni L, Parente P. Celiac disease: histology-differential diagnosis-complications. A practical approach. *Pathologica.* 2020 Sep;112(3):186-196. doi: 10.32074/1591-951X-157. PMID: 33179621; PMCID: PMC7931573.

72. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, Milione M, Luinetti O, Vindigni C, Chioda C, Albarello L, Bartolini D, Donato F. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 Jul;5(7):838-43. doi: 10.1016/j.cgh.2007.03.019. Epub 2007 Jun 4. PMID: 17544877.
73. Gruver AM, Lu H, Zhao X, Fulford AD, Soper MD, Ballard D, Hanson JC, Schade AE, Hsi ED, Gottlieb K, Credille KM. Pathologist-trained machine learning classifiers developed to quantitate celiac disease features differentiate endoscopic biopsies according to modified marsh score and dietary intervention response. *Diagn Pathol*. 2023 Nov 11;18(1):122. doi: 10.1186/s13000-023-01412-x. PMID: 37951937; PMCID: PMC10638821.
74. Peña AS. What is the best histopathological classification for celiac disease? Does it matter? *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2015 Fall;8(4):239-43. PMID: 26468342; PMCID: PMC4600512.
75. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó I, Kurppa K, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, Shamir R, Troncone R, Auricchio R, Castillejo G, Christensen R, Dolinsek J, Gillett P, Hróbjartsson A, Koltai T, Maki M, Nielsen SM, Popp A, Størdal K, Werkstetter K, Wessels M. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020 Jan;70(1):141-156. doi: 10.1097/MPG.0000000000002497. PMID: 31568151.
76. Tamai T, Ihara K. Celiac Disease Genetics, Pathogenesis, and Standard Therapy for Japanese Patients. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 20;24(3):2075. doi: 10.3390/ijms24032075. PMID: 36768398; PMCID: PMC9916540.
77. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Kelly CP, Leonard JN, Lundin KE, Murray JA, Sanders DS, Walker MM, Zingone F, Ciacci C. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*. 2013 Jan;62(1):43-52. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301346. Epub 2012 Feb 16. PMID: 22345659; PMCID: PMC3440559.
78. Yugam RO, Hussein Abdikadir H, Helly Mayankkumar J, Siddiqui A, Siddiqui FF, Hamza G. Exploring typical and atypical variants of celiac disease: a narrative review. *Int J Res Med Sci*. 2024 Jan;12(1):315-320 DOI: <https://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20234028>.
79. Jain AK, Chatterji D, Bhagat P, Jain D, Sircar S, Phatak S. Clinical and demographic comparison of celiac disease diagnosed during adulthood versus childhood and adolescence: A single-center experience. *JGH Open*. 2023 Nov 30;7(12):923-927. doi: 10.1002/jgh3.13003. PMID: 38162861; PMCID: PMC10757475.
80. Karunesh K, Deepika R. Extraintestinal Manifestations of Celiac Disease in Children. In: Rodrigo L, editor. *Celiac Disease and Gluten-Free Diet* [Internet]. IntechOpen; 2023. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.105328>.
81. Ramakrishna BS, Venugopal G, Singh A, Pugazhendhi S, Dutta S, Ahuja V, Makharia GK. Human Leukocyte Antigen DQ (HLA-DQ) genotypes and haplotypes and their association with phenotype in patients with celiac disease in India. *JGH Open*. 2021 Sep 1;5(10):1190-1196. doi: 10.1002/jgh3.12651. PMID: 34622007; PMCID: PMC8485407.
82. Garg T, Samudrala S, Kumar P, Chander R, Sharma S. Cutaneous manifestations in celiac disease: An observational study. *Indian J Paediatr Dermatol* 2023;24:223-7.
83. Verdelli A, Corrà A, Mariotti EB, Aimo C, Quintarelli L, Ruffo di Calabria V, Donati ME, Bonciolini V, Antiga E, Caproni M. Skin gluten-related disorders: new and old cutaneous manifestations to be considered. *Front Med (Lausanne)*. 2023 May 17;10:1155288. doi: 10.3389/fmed.2023.1155288. PMID: 37265490; PMCID: PMC10229844.

84. Swain S, Selmi C, Gershwin ME, Teuber SS. The clinical implications of selective IgA deficiency. *J Transl Autoimmun.* 2019 Nov 23;2:100025. doi: 10.1016/j.jtauto.2019.100025. Erratum in: *J Transl Autoimmun.* 2020 Feb 25;3:100041. doi: 10.1016/j.jtauto.2020.100041. PMID: 32743511; PMCID: PMC7388344.
85. Rawla P, Killeen RB, Joseph NI. Selective IgA Deficiency. 2023 Jun 26. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. PMID: 30855793.
86. Camarca ME, Mozzillo E, Nugnes R, Zito E, Falco M, Fattorusso V, Mobilia S, Buono P, Valerio G, Troncone R, Franzese A. Celiac disease in type 1 diabetes mellitus. *Ital J Pediatr.* 2012 Mar 26;38:10. doi: 10.1186/1824-7288-38-10. PMID: 22449104; PMCID: PMC3348012.
87. Haggård L, Glimberg I, Lebowitz B, Sharma R, Verna EC, Green PHR, Ludvigsson JF. High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis: Systematic review and meta-analysis. *Liver Int.* 2021 Nov;41(11):2693-2702. doi: 10.1111/liv.15000. Epub 2021 Jul 29. PMID: 34219350.
88. Shah A, Walker M, Burger D, Martin N, von Wulffen M, Koloski N, Jones M, Talley NJ, Holtmann GJ. Link Between Celiac Disease and Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Gastroenterol.* 2019 Aug;53(7):514-522. doi: 10.1097/MCG.0000000000001033. PMID: 29762265. Affiliations Expand.
89. Singh, Prashant MBBS1; Arora, Shubhangi MBBS2; Lal, Suman MD3; Strand, Tor A MD, PhD4; Makharia, Govind K MD, DM, DNB, MNAMS5. Risk of Celiac Disease in the First- and Second-Degree Relatives of Patients With Celiac Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Gastroenterology* 110(11):p 1539-1548, November 2015. | DOI: 10.1038/ajg.2015.296.
90. Oliveira A, Trindade E, Tavares M, Lima R, Terra M, Dias JA. Celiac disease in first degree relatives of celiac children. *Arq Gastroenterol.* 2012 Jul-Sep;49(3):204-7. doi: 10.1590/s0004-28032012000300007. PMID: 23011243.
91. Pavlovic M, Berenji K, Bukurov M. Screening of celiac disease in Down syndrome - Old and new dilemmas. *World J Clin Cases.* 2017 Jul 16;5(7):264-269. doi: 10.12998/wjcc.v5.i7.264. PMID: 28798921; PMCID: PMC5535317.
92. Jackson JR, Eaton WW, Cascella NG, Fasano A, Kelly DL. Neurologic and psychiatric manifestations of celiac disease and gluten sensitivity. *Psychiatr Q.* 2012 Mar;83(1):91-102. doi: 10.1007/s11126-011-9186-y. PMID: 21877216; PMCID: PMC3641836.
93. Zambrano S, Parma B, Morabito V, Borini S, Romaniello R, Molteni M, Mani E, Selicorni A. Celiac disease in autism spectrum disorder: data from an Italian child cohort. *Ital J Pediatr.* 2023 Jul 3;49(1):79. doi: 10.1186/s13052-023-01484-x. PMID: 37400878; PMCID: PMC10318650.
94. Alhassan E, Yadav A, Kelly CP, Mukherjee R. Novel Nondietary Therapies for Celiac Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019;8(3):335-345. doi: 10.1016/j.jcmgh.2019.04.017. Epub 2019 May 27. PMID: 31146067; PMCID: PMC6713892.
95. Dieckman T, Koning F, Bouma G. Celiac disease: New therapies on the horizon. *Curr Opin Pharmacol.* 2022 Oct;66:102268. doi: 10.1016/j.coph.2022.102268. Epub 2022 Jul 31. PMID: 35921776.
96. Van Buiten CB, Elias RJ. Gliadin Sequestration as a Novel Therapy for Celiac Disease: A Prospective Application for Polyphenols. *Int J Mol Sci.* 2021 Jan 8;22(2):595. doi: 10.3390/ijms22020595. PMID: 33435615; PMCID: PMC7826989.
97. Vaquero L, Rodríguez-Martín L, León F, Jorquera F, Vivas S. New coeliac disease treatments and their complications. *Gastroenterol Hepatol.* 2018 Mar;41(3):191-204. English, Spanish. doi: 10.1016/j.gastrohep.2017.12.002. Epub 2018 Feb 13. PMID: 29422237.

98. Ghazanfar H, Javed N, Lee S, Shaban M, Cordero D, Acherjee T, Hasan KZ, Jyala A, Kandhi S, Hussain AN, Patel H. Novel Therapies for Celiac Disease: A Clinical Review Article. *Cureus*. 2023 May 14;15(5):e39004. doi: 10.7759/cureus.39004. PMID: 37323330; PMCID: PMC10263194.
99. Machado MV. New Developments in Celiac Disease Treatment. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 4;24(2):945. doi: 10.3390/ijms24020945. PMID: 36674460; PMCID: PMC9862998.
100. Anderson RP, Verma R, Schumann M. A Look Into the Future: Are We Ready for an Approved Therapy in Celiac Disease? *Gastroenterology*. 2024 Jun;167(1):183-193. doi: 10.1053/j.gastro.2024.02.005. Epub 2024 Feb 13. PMID: 38355059.
101. Crepaldi M, Palo M, Maniero D, Bertin L, Savarino EV, Anderson RP, Zingone F. Emerging Pharmaceutical Therapies to Address the Inadequacy of a Gluten-Free Diet for Celiac Disease. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023 Dec 20;17(1):4. doi: 10.3390/ph17010004. PMID: 38275990; PMCID: PMC10821495.
102. Elli L, Leffler D, Cellier C, Lebowitz B, Ciacci C, Schumann M, Lundin KEA, Chetcuti Zammit S, Sidhu R, Roncoroni L, Bai JC, Lee AR, Dennis M, Robert ME, Rostami K, Khater S, Comino I, Cebolla A, Branchi F, Verdu EF, Stefanolo JP, Wolf R, Bergman-Golden S, Trott N, Scudeller L, Zingone F, Scaramella L, Sanders DS. Guidelines for best practices in monitoring established coeliac disease in adult patients. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2024 Mar;21(3):198-215. doi: 10.1038/s41575-023-00872-2. Epub 2023 Dec 18. PMID: 38110546.
103. Yoosuf S, Makharia GK. Evolving Therapy for Celiac Disease. *Front Pediatr*. 2019 May 14;7:193. doi: 10.3389/fped.2019.00193. PMID: 31157194; PMCID: PMC6530343.
104. Schuppan D, Mäki M, Lundin KEA, Isola J, Friesing-Sosnik T, Taavela J, Popp A, Koskenpato J, Langhorst J, Hovde Ø, Lähdeaho ML, Fusco S, Schumann M, Török HP, Kupcinskis J, Zopf Y, Lohse AW, Scheinin M, Kull K, Biedermann L, Byrnes V, Stallmach A, Jahnsen J, Zeitz J, Mohrbacher R, Greinwald R; CEC-3 Trial Group. A Randomized Trial of a Transglutaminase 2 Inhibitor for Celiac Disease. *N Engl J Med*. 2021 Jul 1;385(1):35-45. doi: 10.1056/NEJMoa2032441. PMID: 34192430.
105. Valvano M, Fabiani S, Monaco S, Calabrò M, Mancusi A, Frassino S, Rolandi C, Mosca M, Faenza S, Sgamma E, Cesaro N, Latella G. Old and New Adjunctive Therapies in Celiac Disease and Refractory Celiac Disease: A Review. *Int J Mol Sci*. 2023 Aug 15;24(16):12800. doi: 10.3390/ijms241612800. PMID: 37628981; PMCID: PMC10454405.
106. Cerf-Bensussan N, Schuppan D. The Promise of Novel Therapies to Abolish Gluten Immunogenicity in Celiac Disease. *Gastroenterology*. 2021 Jul;161(1):21-24. doi: 10.1053/j.gastro.2021.04.031. Epub 2021 Apr 20. PMID: 33891951.
107. Popa SL, Chiarioni G. Anti-IL-15 monoclonal antibody for the treatment of coeliac disease: the light at the end of the gluten free diet tunnel? *Dig Med Res* 2020;3:107. doi: 10.21037/dmr-20-28
108. Kotze LMDS, Kotze LR, Moreno I, Nisihara R. Immune mediated diseases in patients with celiac disease and their relatives: a comparative study of age and sex. *Arq Gastroenterol*. 2018 Oct-Dec;55(4):346-351. doi: 10.1590/S0004-2803.201800000-77. PMID: 30785517.
109. Galli G, Amici G, Conti L, Lahner E, Annibale B, Carabotti M. Sex-Gender Differences in Adult Coeliac Disease at Diagnosis and Gluten-Free-Diet Follow-Up. *Nutrients*. 2022 Aug 4;14(15):3192. doi: 10.3390/nu14153192. PMID: 35956368; PMCID: PMC9370199.
110. Jansson-Knodell CL, King KS, Larson JJ, Van Dyke CT, Murray JA, Rubio-Tapia A. Gender-Based Differences in a Population-Based Cohort with Celiac Disease: More

- Alike than Unalike. *Dig Dis Sci*. 2018 Jan;63(1):184-192. doi: 10.1007/s10620-017-4835-0. Epub 2017 Nov 10. PMID: 29127609; PMCID: PMC5961510.
- 111.Kronzer VL, Bridges SL Jr, Davis JM 3rd. Why women have more autoimmune diseases than men: An evolutionary perspective. *Evol Appl*. 2020 Dec 1;14(3):629-633. doi: 10.1111/eva.13167. PMID: 33767739; PMCID: PMC7980266.
- 112.Sharma P, Aguilar R, Abi Nader M, MD3, Shaheryar Siddiqui, MD4, Baniya R, Feuerstadt P. Celiac Disease Is More Common in Women but Men Have More Comorbidities and Higher Inhospital Mortality Compared With Women. *Amer Jourof Gastroenterol*, 2017: s665: 1192.
- 113.Mallon D, Hajjat TM. Serologic Evaluation of Celiac Disease for Patients Younger Than 2 Years of Age. *J Pediatr*. 2020 Sep;224:16-17. doi: 10.1016/j.jpeds.2020.05.023. Epub 2020 May 21. PMID: 32445650.
- 114.Khan MR, Silvester JA, Sparks B, Hintze Z, Ediger T, Larson JJ, Hill I, Absah I. The Utility of IgA-Based Serologic Markers in Diagnosing Celiac Disease in Children 24 Months of Age or Younger. *J Pediatr*. 2020 Sep;224:158-161.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2020.04.009. Epub 2020 Jun 24. PMID: 32593411; PMCID: PMC7819766.
- 115.Catassi GN, Pulvirenti A, Monachesi C, Catassi C, Lionetti E. Diagnostic Accuracy of IgA Anti-Transglutaminase and IgG Anti-Deamidated Gliadin for Diagnosis of Celiac Disease in Children under Two Years of Age: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2021 Dec 21;14(1):7. [doi: 10.3390/nu14010007] [PMID: 35010880]
- 116.Lebwohl B, Rubio-Tapia A. Epidemiology, Presentation, and Diagnosis of Celiac Disease. *Gastroenterology*. 2021 Jan;160(1):63-75. [doi: 10.1053/j.gastro.2020.06.098] [PMID: 32950520].
- 117.Stahl M, Liu E, MD Jul 2024. Diagnosis of celiac disease in children <https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-of-celiac-disease-in-children>. Jul 2024
- 118.Tinto N, Cola A, Piscopo C, Capuano M, Galatola M, Greco L, Sacchetti L. High Frequency of Haplotype HLA-DQ7 in Celiac Disease Patients from South Italy: Retrospective Evaluation of 5,535 Subjects at Risk of Celiac Disease. *PLoS One*. 2015 Sep 23;10(9):e0138324. doi: 10.1371/journal.pone.0138324. PMID: 26398634; PMCID: PMC4580462.
- 119.Núñez C, Garrote JA, Arranz E, Bilbao JR, Fernández Bañares F, Jiménez J, Perucho T, Ruiz Casares E, Sánchez-Valverde F, Serrano JI. Recommendations to report and interpret HLA genetic findings in coeliac disease. *Rev Esp Enferm Dig*. 2018 Jul;110(7):458-461. doi: 10.17235/reed.2018.5269/2017. PMID: 29722267.
- 120.Stanković B, Radlović N, Leković Z, Ristić D, Radlović V, Nikčević G, Kotur N, Vučićević K, Kostić T, Pavlović S, Zukic B. HLA genotyping in pediatric celiac disease patients. *Bosn J Basic Med Sci*. 2014 Aug 16;14(3):171-6. [doi:10.17305/bjbms.2014.3.28] [PMID: 25172978].
- 121.Catassi C, Fasano A. Is this really celiac disease? Pitfalls in diagnosis. *Curr Gastroenterol Rep*. 2008 Oct;10(5):466-72. doi: 10.1007/s11894-008-0086-8. PMID: 18799121.
- 122.Krini M, Chouliaras G, Kanariou M, Varela I, Spanou K, Panayiotou J, Roma E, Constantinidou N. HLA class II high-resolution genotyping in Greek children with celiac disease and impact on disease susceptibility. *Pediatr Res*. 2012 Dec;72(6):625-30. [doi: 10.1038/pr.2012.133] [PMID: 23041663].
- 123.Castro-Antunes MM, Crovella S, Brandão LA, Guimaraes RL, Motta ME, Silva GA. Frequency distribution of HLA DQ2 and DQ8 in celiac patients and first-degree relatives in Recife, northeastern Brazil. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(2):227-31. [doi: 10.1590/s1807-59322011000200008] [PMID: 21484038].

124. Lionetti E, Catassi C. The Role of Environmental Factors in the Development of Celiac Disease: What Is New? *Diseases*. 2015 Oct 27;3(4):282-293. doi: 10.3390/diseases3040282. PMID: 28943625; PMCID: PMC5548256.
125. Gnode E, Meneveri R, Barisani D. Celiac disease: From genetics to epigenetics. *World J Gastroenterol*. 2022 Jan 28;28(4):449-463. [doi:10.3748/wjg.v28.i4.449] [PMID: 35125829].
126. Sallese M, Lopetuso LR, Efthymakis K, Neri M. Beyond the HLA Genes in Gluten-Related Disorders. *Front Nutr*. 2020 Nov 12;7:575844. doi: 10.3389/fnut.2020.575844. PMID: 33262997; PMCID: PMC7688450.
127. Gualandris F, Castellani L, Falanga A. The Association of HLA-DQ2 with Celiac Disease [Internet]. *Celiac Disease*. IntechOpen; 2021. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.95837>.
128. Tinto N, Cola A, Piscopo C, Capuano M, Galatola M, Greco L, Sacchetti L. High Frequency of Haplotype HLA-DQ7 in Celiac Disease Patients from South Italy: Retrospective Evaluation of 5,535 Subjects at Risk of Celiac Disease. *PLoS One*. 2015 Sep 23;10(9):e0138324. doi: 10.1371/journal.pone.0138324. PMID: 26398634; PMCID: PMC4580462.
129. Martínez-Ojinaga E, Molina M, Polanco I, Urcelay E, Núñez C. HLA-DQ distribution and risk assessment of celiac disease in a Spanish center. *Rev Esp Enferm Dig*. 2018 Jul;110(7):421-426. doi: 10.17235/reed.2018.5399/2017. PMID: 29699404.
130. Horan MP, Chai SY, Munusamy N, Tay KH, Wienholt L, Tye-Din JA, Daveson J, Varney M, Badrick T. High rates of variation in HLA-DQ2/DQ8 testing for coeliac disease: results from an RCPAQAP pilot program. *J Clin Pathol*. 2018 Oct;71(10):900-905. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205209. Epub 2018 May 15. PMID: 29764931.
131. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Leigeman M, Mäki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP; ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee; European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Jan;54(1):136-60. [doi: 10.1097/MPG.0b013e31821a23d0] [PMID: 22197856]
132. Monaghan TF, Rahman SN, Agudelo CW, Wein AJ, Lazar JM, Everaert K, Dmochowski RR. Foundational Statistical Principles in Medical Research: Sensitivity, Specificity, Positive Predictive Value, and Negative Predictive Value. *Medicina (Kaunas)*. 2021 May 16;57(5):503. doi: 10.3390/medicina57050503. PMID: 34065637; PMCID: PMC8156826.
133. Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, Lobo AJ, McAlindon ME, Egner W, Wild G, Sanders DS. What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 Mar;6(3):314-20. doi: 10.1016/j.cgh.2007.12.008. PMID: 18328437.
134. Majsiak E, Cukrowska B, Choina M, Bielawski K, Cielecka-Kuszyk J, Konopka E, Wysokiński M, Bierła JB. Evaluation of the Usefulness of a Serological Test for Diagnosis of Celiac Disease Simultaneously Detecting Specific Antibodies and Total IgA. *Nutrients*. 2022 Dec 31;15(1):202. doi: 10.3390/nu15010202. PMID: 36615859; PMCID: PMC9823504.
135. Tonnuti E, Bizzaro N. Anti-tissue transglutaminase and anti-endomysial antibody. In: Ed : Shoenfeld Y, Gershwin ME Meroni PL *Autoantibodies* 2007: 443-50.
136. Qureshi MH. The Correlation Between Serum Anti-tissue Transglutaminase (Anti-tTG) Antibody Levels and Histological Severity of Celiac Disease in Adolescents and Adults:

- A Meta-Analysis. *Cureus*. 2023 Dec 27;15(12):e51169. doi: 10.7759/cureus.51169. PMID: 38283435; PMCID: PMC10814693.
137. Girard C, De Percin A, Morin C, Talvard M, Fortenfant F, Congy-Jolivet N, Le Tallec C, Olives JP, Mas E. Accuracy of Serological Screening for the Diagnosis of Celiac Disease in Type 1 Diabetes Children. *Medicina (Kaunas)*. 2023 Jul 18;59(7):1321. doi: 10.3390/medicina59071321. PMID: 37512132; PMCID: PMC10386403.
138. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA, Murray JA. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 Apr;6(4):426-32; quiz 370. doi: 10.1016/j.cgh.2007.12.030. Epub 2008 Mar 4. PMID: 18304884; PMCID: PMC2440671.
139. Syage J, Ramos A, Loskutov V, Norum A, Bledsoe A, Choung RS, Dickason M, Sealey-Voyksner J, Murray J. Dynamics of Serologic Change to Gluten in Celiac Disease Patients. *Nutrients*. 2023 Dec 12;15(24):5083. doi: 10.3390/nu15245083. PMID: 38140342; PMCID: PMC10746107.
140. Sghiri R, Hassine HB, Almogren A, Shakoob Z, Alswayyed M. Diagnostic performances of celiac disease serological tests among Saudi patients. *Saudi J Gastroenterol*. 2023 Jan-Feb;29(1):31-38. doi: 10.4103/sjg.sjg_280_22. PMID: 36571384; PMCID: PMC10117006.
141. Sheppard AL, Elwenspoek MMC, Scott LJ, Corfield V, Everitt H, Gillett PM, Hay AD, Jones HE, Mallett S, Watson J, Whiting PF. Systematic review with meta-analysis: the accuracy of serological tests to support the diagnosis of coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2022 Mar;55(5):514-527. doi: 10.1111/apt.16729. Epub 2022 Jan 18. PMID: 35043426; PMCID: PMC9305515.
142. Abdulrahim A, Fagih M, Troncone R, Bashir MS, Asery A, Alruwaithi M, Al-Jurayyan AN, Al-Alallah I, Al-Hussaini A. Deamidated Gliadin Antibodies: Do They Add to Tissue Transglutaminase-IgA Assay in Screening for Celiac Disease? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2021 May 1;72(5):e112-e118. doi: 10.1097/MPG.0000000000003022. PMID: 33346579.
143. Vootukuru N, Singh H, Giles E. Isolated positive deamidated gliadin peptide-IgG has limited diagnostic utility in coeliac disease. *J Paediatr Child Health*. 2022 Sep;58(9):1648-1652. doi: 10.1111/jpc.16071. Epub 2022 Jun 21. PMID: 35726522; PMCID: PMC9545789.
144. Leffler D, Schuppan D, Pallav K, Najarian R, Goldsmith JD, Hansen J, Kabbani T, Dennis M, Kelly CP. Kinetics of the histological, serological and symptomatic responses to gluten challenge in adults with coeliac disease. *Gut*. 2013 Jul;62(7):996-1004. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302196. Epub 2012 May 22. PMID: 22619366; PMCID: PMC3525791.
145. Terryberry J, Tuomi J, Perampalam S, Peloquin R, Brouwer E, Schuppan D, Guandalini S. Diagnostic accuracy of a fully automated multiplex celiac disease antibody panel for serum and plasma. *Clin Chem Lab Med*. 2019 Jul 26;57(8):1207-1217. doi: 10.1515/cclm-2019-0088. PMID: 30903755.
146. Werkstetter KJ, Korponay-Szabó IR, Popp A, Villanacci V, Salemme M, Heilig G, Lillevang ST, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, Thomas A, Troncone R, Filipiak B, Mäki M, Gyimesi Werkstetter KJ, Korponay-Szabó IR, Popp A, Villanacci V, Salemme M, Heilig G, Lillevang ST, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, Thomas A, Troncone R, Filipiak B, Mäki M, Gyimesi J, Najafi M, Dolinšek J, Dydensborg Sander S, Auricchio R, Papadopoulou A, Vécsei A, Szitanyi P, Donat E, Nenna R, Alliet P, Penagini F, Garnier-Lengliné H, Castillejo G, Kurppa K, Shamir R, Hauer AC, Smets F, Corujeira S, van Winckel M, Buderus S, Chong S, Husby S, Koletzko S; ProCeDE study group. Accuracy in Diagnosis of Celiac Disease Without Biopsies in Clinical Practice.

- Gastroenterology. 2017 Oct;153(4):924-935. doi: 10.1053/j.gastro.2017.06.002. Epub 2017 Jun 15. PMID: 28624578
147. Cernat E, Furman M. The value of single and combination serological tests in diagnosis paediatric coeliac disease in the era of the latest ESPGHAN guidelines. *Curr Aller Clin Immunol*; 2018 Vol 31, No 3: 142-145.
148. Dahlbom I, Olsson M, Forooz NK, Sjöholm AG, Truedsson L, Hansson T. Immunoglobulin G (IgG) anti-tissue transglutaminase antibodies used as markers for IgA-deficient celiac disease patients. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005 Feb;12(2):254-8. doi: 10.1128/CDLI.12.2.254-258.2005. PMID: 15699419; PMCID: PMC549312.
149. Watanabe C, Komoto S, Hokari R, Kurihara C, Okada Y, Hozumi H, Higashiyama M, Sakuraba A, Tomita K, Tsuzuki Y, Kawaguchi A, Nagao S, Ogata S, Miura S. Prevalence of serum celiac antibody in patients with IBD in Japan. *J Gastroenterol*. 2014 May;49(5):825-34. doi: 10.1007/s00535-013-0838-6. Epub 2013 Jun 12. PMID: 23754511; PMCID: PMC4019828.
150. Pinto-Sanchez MI, Seiler CL, Santesso N, Alaedini A, Semrad C, Lee AR, Bercik P, Lebwohl B, Leffler DA, Kelly CP, Moayyedi P, Green PH, Verdu EF. Association Between Inflammatory Bowel Diseases and Celiac Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*. 2020 Sep;159(3):884-903.e31. doi: 10.1053/j.gastro.2020.05.016. Epub 2020 May 13. PMID: 32416141
151. Deeks JJ, Altman DG. Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *BMJ*. 2004 Jul 17;329(7458):168-9. doi: 10.1136/bmj.329.7458.168. PMID: 15258077; PMCID: PMC478236.
152. Hashmi MA, Hussain T, Masood N, Younas M, Asghar RM, Shafi MS. Accuracy of Anti-Tissue Transglutaminase IgA Antibody in the Diagnosis of Paediatric Celiac Disease. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2016 Apr;26(4):263-6. PMID: 27097694.
153. Galli G, Carabotti M, Conti L, Scalamenti S, Annibale B, Lahner E. Comparison of Clinical, Biochemical and Histological Features between Adult Celiac Patients with High and Low Anti-Transglutaminase IgA Titer at Diagnosis and Follow-Up. *Nutrients*. 2023 Apr 29;15(9):2151. doi: 10.3390/nu15092151. PMID: 37432272; PMCID: PMC10181401.
154. Potter K, de Koning L, Butzner JD, Gidrewicz D. Survey of the initial management of celiac disease antibody tests by ordering physicians. *BMC Pediatr*. 2019 Jul 19;19(1):243. doi: 10.1186/s12887-019-1621-5. PMID: 31324159; PMCID: PMC6639898.
155. Tavakkoli H, Haghdani S, Adilipour H, Daghighzadeh H, Minakari M, Adibi P, Ahmadi K, Emami MH. Serologic celiac disease in patients with inflammatory bowel disease. *J Res Med Sci*. 2012 Feb;17(2):154-8. PMID: 23264789; PMCID: PMC3525033.
156. Reza Farzanehfar MR, Beheshti Namdar A, Ahadi M, Hassan Mehrad-Majd H. Prevalence of IgA Anti-tissue Transglutaminase Antibody in a Cohort of Iranian Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Coloproctol* 2023;43(4):e280–e285.
157. Lian L, Remzi FH, Kiran RP, Fazio VW, Shen B. Clinical implication of false-positive celiac serology in patients with ileal pouch. *Dis Colon Rectum*. 2010 Oct;53(10):1446-51. doi: 10.1007/DCR.0b013e3181eba46c. PMID: 20847628.
158. Absah I. Persistent Positive Celiac Serology in Treated Patient With Celiac Disease Due to Ulcerative Colitis.
- Downloaded from https://academic.oup.com/ibdjournal/article/20/suppl_1/S31/4582467 by guest on 06 May 2024.
159. Villalta D, Crovatto M, Stella S, Tonutti E, Tozzoli R, Bizzaro N. False positive reactions for IgA and IgG anti-tissue transglutaminase antibodies in liver cirrhosis are

- common and method-dependent. *Clin Chim Acta*. 2005 Jun;356(1-2):102-9. doi: 10.1016/j.cccn.2005.01.015. Epub 2005 Mar 19. PMID: 15936306.
160. Amir M, Parekh SM. Classic Autoimmune Liver Disorders and Celiac Hepatitis. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2021 Jun 4;17(5):347-352. [doi: 10.1002/cld.1056] [PMID: 34136140]
161. Kuzmenko Y, Pardeep Bansal P, Fyeza Haider E, Robert Smith R, False Positive Anti-tissue Transglutaminase Antibodies in the Setting of Acute Epstein-Barr Viral Infection. *Amer Jour Gastroenterol*, 2011: s259: 68
162. Gülcü Taşkın D, Ata A. The Screening of Celiac Serology in Pediatric Patients Diagnosed with Type 1 Diabetes Mellitus. *Turk J Gastroenterol*. 2023 Mar;34(3):293-297. doi: 10.5152/tjg.2023.22775. PMID: 36919834; PMCID: PMC10152150
163. Owen DR, Owen DA. Celiac Disease and Other Causes of Duodenitis. *Arch Pathol Lab Med*. 2018 Jan;142(1):35-43. doi: 10.5858/arpa.2016-0608-RA. Epub 2017 Jul 31. PMID: 28758791.
164. Potter K, de Koning L, Butzner JD, Gidrewicz D. Survey of the initial management of celiac disease antibody tests by ordering physicians. *BMC Pediatr*. 2019 Jul 19;19(1):243. [doi: 10.1186/s12887-019-1621-5] [PMID: 31324159]
165. Özakıncı H, Kırmızı A, Savaş B, Kalkan Ç, Soykan İ, Çetinkaya H, Kuloğlu Z, Kansu A, Gürkan ÖE, Dalgıç B, Şentürk Z, Ensari A. Classification chaos in coeliac disease: Does it really matter? *Pathol Res Pract*. 2016 Dec;212(12):1174-1178. doi: 10.1016/j.prp.2016.08.012. Epub 2016 Sep 3. PMID: 27637158.
166. Kowalski K, Mulak A, Jasińska M, Paradowski L. Diagnostic challenges in celiac disease. *Adv Clin Exp Med*. 2017 Jul;26(4):729-737. doi: 10.17219/acem/62452. PMID: 28691413.
167. Douida A, Tahiri L, Berraho M, Moustapha H, Elyousfi M, Nawal Hammas N, El Fatemi H, Chbani L. What is the most reproducible histopathological classification for celiac disease? study of the interobserver variability in a serie of 69 cases. *Pan Afri Med Jour*, 2020;3:2. [doi: 10.11604/pamj-cm.2020.3.2.22064]
168. Galli G, Carabotti M, Conti L, Scalamenti S, Annibale B, Lahner E. Comparison of Clinical, Biochemical and Histological Features between Adult Celiac Patients with High and Low Anti-Transglutaminase IgA Titer at Diagnosis and Follow-Up. *Nutrients*. 2023 Apr 29;15(9):2151. doi: 10.3390/nu15092151. PMID: 37432272; PMCID: PMC10181401.
169. Denholm J, Schreiber BA, Jaeckle F, Wicks MN, Benbow EW, Bracey TS, Chan JYH, Farkas L, Fryer E, Gopalakrishnan K, Hughes CA, Kirkwood KJ, Langman G, Mahler-Araujo B, McMahon RFT, Myint KW, Natsu S, Robinson A, Sanduka A, Sheppard KA, Tsang YW, Arends MJ, Soilleux EJ. CD, or not CD, that is the question: a digital interobserver agreement study in coeliac disease. *BMJ Open Gastroenterol*. 2024 Feb 1;11(1):e001252. doi: 10.1136/bmjgast-2023-001252. PMID: 38302475; PMCID: PMC10870791
170. Catassi C, Catassi G, Naspi L. Nonceliac gluten sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2023 Sep 1;26(5):490-494. doi: 10.1097/MCO.0000000000000925. Epub 2023 Feb 15. PMID: 36942921; PMCID: PMC10399927.
171. The Lancet Gastroenterology Hepatology. Unravelling the causes of non-coeliac gluten sensitivity. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2024 Feb;9(2):93. doi: 10.1016/S2468-1253(23)00452-1. PMID: 38215782.

БИОГРАФИЈА:

Име, (име оца) и презиме: Драган (Јован) Прокић

- Датум и место рођења: 8.6.1966, Београд
- Установа где је запослен: Институт за здравствену заштиту мајке и детета Републике Србије „Др Вукан Чупић”
- Звање/ радно место: педијатар, начелник, Одељења за гастроентерохепатологију,
- Научна област: Педијатрија, Гастроентерохепатологија
- Асистент на катедри за Педијатрију, Медицински факултет Универзитета у Београду

СТРУЧНА БИОГРАФИЈА, ДИПЛОМЕ И ЗВАЊА

Основне студије

- Назив установе: Медицински факултет Универзитета у Београду
- Дипломирао : Београд, 1991. год, просечна оцена 9,50

Специјализација: Педијатрија

- Назив установе: Институт за заштиту мајке и детета Републике Србије „Др Вукан Чупић“, Медицински факултет Универзитета у Београду
- специјалистички испит положио : 1998.године

Ужа специјализација:

- Назив установе: Медицински факултет Универзитета у Београду
- Ужа научна област: Гастроентерохепатологија
- Наслов рада из уже специјализације: Диференцијална дијагноза органских и функционалних констипација у деце
- Ментор: Проф. др Иван Миловић
- Година завршетка: 2002.

Магистеријум:

- Назив установе: Медицински факултет Универзитета у Београду
- Ужа научна област: Гастроентерохепатологија
- Назив теме: Клиничка и хистопатолошка студија дефицита антитипсина алфа-1 у деце с оштећењем јетре
- Ментор: Проф. др Иван Борић
- Година завршетка: 2005.

РАДНА БИОГРАФИЈА:

- Запослен од 1992. године у Институту за здравствену заштиту мајке и детета Републике Србије “Др Вукан Чупић”.
- Тренутна позиција: начелник Службе за гастроентерохепатологију
- Асистент на катедри за Педијатрију Медицинског факултета Универзитета у Београду од 2019. Године.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„ПРОЦЕНА ДИЈАГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ АНТИТЕЛА НА ТКВНУ
ТРАНСГЛУТАМИНАЗУ И ХЛА DQ2/DQ8 ТИПИЗИРАЊА КАО АЛТЕРНАТИВЕ
ДУОДЕНАЛНОЈ БИОПСИЈИ КОД ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ ДЕЦЕ“

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође *потврђујем*:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 05.03.2025. године

Др Драган Прокић


потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСЛОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:
„ПРОЦЕНА ДИЈАГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ АНТИТЕЛА НА ТКВНУ
ТРАНСГЛУТАМИНАЗУ И ХЛА ДQ2/ДQ8 ТИПИЗИРАЊА КАО АЛТЕРНАТИВЕ
ДУОДЕНАЛНОЈ БИОПСИЈИ КОД ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ ДЕЦЕ“ истоветне.

У Крагујевцу, 5.3.2025. године

Др Драган Прокић


потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Прокић Ј. Драган,

☒ дозвољавам

☐ не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

„ПРОЦЕНА ДИЈАГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ АНТИТЕЛА НА ТКВНУ ТРАНСГЛУТАМИНАЗУ И ХЛА ДQ2/ДQ8 ТИПИЗИРАЊА КАО АЛТЕРНАТИВЕ ДУОДЕНАЛНОЈ БИОПСИЈИ КОД ЦЕЛИЈАЧНЕ БОЛЕСТИ ДЕЦЕ“ и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем преузимања.

Овом Изјавом, такође

☒ дозвољавам

☐ не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- ⑥ Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 05.03.2025. године

Др Драган Прокић


потпис аутора

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>