تواتر الأليلات والأنماط الفردانية لمستضدات الكريات البيضاء البشرية المسببة لخطر الإصابة بالداء الزلاقي عند الأشخاص السليمين في سوريا

د .عادل الحبال، أ.د. عماد الدين أبو خميس

Alhabbal A., AbouKhamis I.,

كلية الصيدلة، جامعة دمشق

Faculty of pharmacy, Damascus University

الملخص:

يحدث الداء الزلاقي فقط عند الأشخاص القادرين على التعبير عن مستضدات الكريات البيضاء البشرية HLA DQ2 & DQ8، ويشكل هؤلاء الأشخاص الذين يعبرون عن هذه المستضدات ما يقارب ثلث الأشخاص في الغرب، ونظراً لأن الداء الزلاقي غير شائع ومدروس بشكل جيد في سوريا فلقد قمنا بتقييم احتمال وجود هذه الجينات ذات الصلة في مجموعة من الأفراد السوريين، حيث قمنا بدراسة 100 شخص بدون أية أعراض معوية أو أمراض مناعية ذاتية ولاحقاً تم استخلاص الحمض النووي DNA من الدم الوريدي وتضخيمه بواسطة تفاعل البوليميراز التسلسلي باستخدام البادئات الخاصة بالأليلات التي تحدد الأنماط الفردانية لخطر الإصابة بالداء الزلاقي وهي :

DQA1*0502, DQA1*0501, DQA1*0301, DQA1*0201 و DQB1*02, DQB0302

من بين 100 شخص من الأصحاء كان النمط الأكثر انتشاراً DQ2.5/DQ2.5 بنسبة 11%، تليه الأنماط الفردانية DQ2.5/DQ2.2 و DQ2.2/DQ8 و DQ8 بنسبة 5% من الأشخاص فقط، بينما كانت الأنماط الأقل انتشاراً DQ2.5/DQ8 و DQ2.2/DQ2.2 بنسبة 2% .وفي المجمل كان 30 % من المشاركين في الدراسة يملكون نمطاً أو أكثر من الأنماط الفردانية المؤهبة لخطر الإصابة بالداء الزلاقي HLA DQ2.5,DQ2.2,DQ8.

كلمات مفتاحية: الأنماط الفردانية، الداء الزلاقي، الغلوتين، مستضدات الكريات البيضاء البشرية، سوريا

Frequency of HLA Celiac Disease Risk Alleles and Haplotypes in Healthy Individuals in Syria

Abstract:

Celiac disease (CeD) occurs only in individuals who are able to express human leukocyte antigens (HLA)DQ2 orDQ8, and these are expressed in nearly a third of healthy people in the West. As the disease is very uncommon in Syria, we evaluated the possibility that the relevant genes are infrequent in this population. one hundred healthy adults without any gastrointestinal symptoms or autoimmune disease. Genomic DNA was extracted from venous blood and amplified

by PCR using the specific primers for the following alleles which determine the CeD risk haplotypes:

DQA1*0201, DQA1*0301, DQA1*0501, DQA1*0502 and DQB1*02, DQB0302

Among 100 healthy subjects, the most common haplotype was DQ2.5 / DQ2.5 at 11%, followed by DQ2.5 / DQ2.2, DQ2.2 / DQ8 and DQ8 haplotypes by 5% of subjects only, while the less prevalent haplotype were DQ2. 5 / DQ8 and DQ2.2 / DQ2.2 by 2%. Overall, 30 % of the study participants had one or more haplotypes that predispose to developing HLA DQ2.5, DQ2.2, DQ8.

Key words: Haplotype, celiac disease, Gluten, Human Leucocyte antigen, Syria

المقدمة:

الداء الزلاقي هو اعتلال مزمن مُتواسَط بالمناعة في الأمعاء الدقيقة يتسبب فيه التعرض للغلوتين الغذائي لدى الأفراد الذين لديهم استعداد وراثي لذلك [1]. يُعد الالتزام الصارم بـحمية غذائية خالية من الغلوتين أمراً مهماً، نظراً لأن مرض الداء الزلاقي غير المعالج قد يؤدي إلى مضاعفات شديدة، مثل زيادة اختطار الإصابة بالأورام الخبيثة أو كسور العظام أو العقم، خاصة أنه في بعض الحالات لا تتوافق النتائج المخبرية والنسيجية مع الأعراض التي يبديها المرضى وقد تكون غير كافية للتشخيص المباشر[2].

تختلف أعراض الإصابة بالداء الزلاقي عند الرضّع والأطفال عن أعراض الإصابة نفسها عند البالغين، وإن كانت الغالبية العظمى للإصابات تشخص في مرحلة الطفولة، بيد أن نسبة لا يستهان بها من الإصابات تكشف عند أشخاص بالغين لم يعانوا خلال طفولتهم من أي عرض موجه للإصابة بالداء الزلاقي.[3]

كما أن المظاهر السريرية للداء الزلاقي تختلف كثيراً من مريض إلى آخر، فقد تكون الإصابة شاملة تتناول العفج والصائم والدقاق، فتسوء الحالة العامة إلى درجة تهدد حياة المريض، وقد تبقى الإصابة محصورة في العفج والصائم الداني، فتكون لاعرضية أو ذات أعراض مبهمة، تتظاهر بفقر دم بعوز الحديد أو عوز الفولات أو نقص تكلس العظام. وإن شدة الإصابة ودرجة امتدادها تحددان حدة المظاهر السريرية وشكلها [4].

يعد الداء الزلاقي من الأمراض الشائعة في أجزاء عديدة من العالم، بمافي ذلك الشرق الأوسط وسوريا حيث تبلغ نسبة انتشار الداء الزلاقي في سوريا 1/62 [5-6] ، حيث يحدث

الداء الزلاقي عند الأشخاص المؤهبين وراثياً والذين يعبرون عن مستضدات الكريات البيضاء البشرية HLA DQ2 / أو HLA DQ8 التي تسهل تعرف الخلايا التائية $CD4^+$ على ببتيدات خاصة مشتقة من الغلوتين[7]، حيث يتم تحديد النمط الفردانى HLA للأشخاص باستخدام الاختبارات الجزيئية للكشف عن الأليلات المسؤولة عن التعبير عن بروتينات HLA DQ[8] . تعد بروتينات DQ من المثنويات المتغايرة حيث يتم تشفير جزأين من البروتين بواسطة جينين في الموقع DQB و DQA على التوالي الذين يقعان على الكروموسوم 6. يتم تشفير المستضد DQ2 بواسطة النمط الفردانى DQ 2.5 (DQB1*02-DQA1*0501) أو النمط الفردانى DQ 2.2 (DQB1*02-DQA1*0201) بينما يتم تشفير المستضد DQ8 بواسطة النمط الفردانى DQ8 (DQB1*0302-DQA1*0301) [9-10].

يرتبط الخطر الأكبر للإصابة بالداء الزلاقي بالنمط الفردانى HLA DQ مع وجود HLADQB1*02 و/ أو DQB1*0302 في الزيجوت المتماثل. يرتيط غياب الأنماط الفردانية DQ2 و DQ8 بقيمة تنبؤية سلبية للإصابة بالداء الزلاقي [11]، حيث لاتوجد معلومات كافية متوفرة حول توزع أليلات HLA DQ في عموم السكان في سوريا حيث قمنا في هذه الدراسة بتقييم تواتر خطر الأليلات والأنماط الفردانية HLA DQA1-DQB1 في الأشخاص السليمين في سوريا

الطرائق والمواد:

أجريت هذه الدراسة على 100 شخص سليم لايعانون من الداء الزلاقي من مراجعي العيادات والمراكز الخاصة في سوريا (51 ذكر، 49 أنثى). كان متوسط أعمارهم ± الإنحراف المعياري 22±14 بشرط أن لايعانوا من أي إصابة سابقة بالداء الزلاقي لاهم ولا أقرباؤهم من الدرجة الأولى، ولايعانون من أية شكاو هضمية معدية معوية سرطانات أو أمراض مناعية ذاتية.

تمت الموافقة على هذه الدراسة من لجنة أخلاقيات البحث العلمي بجامعة دمشق، وتم الحصول على موافقة مستنيرة من جميع المشاركين وفي حال كان المشارك قاصراً يتم أخذ موافقة الوالدين.

أجري القسم العملي لهذه الدراسة في مركز التقانة الحيوية التابع لجامعة البعث حيث تم سحب 5 مل من الدم على مانع تخثر EDTA وتم حفظ العينة مدة لاتتجاوز ثلاثة أيام بدرجة حرارة بين 2-8 C° ليتم استخلاص الحمض النووي DNA. تم العزل بواسطة عتيدة GF1 الماليزية وفقاً لتعليمات المصنع وتم قياس تركيز ونقاوة الحمض النووي بواسطة مقياس الطيف الضوئي Biospec-nano باستخدام الموجة 260/280.

تم إجراء تفاعل البوليميراز التسلسلي باستخدم البادئات الخاصة بالأليلات النوعية حيث تم تضخيم كل من الأليلات التالية باستخدام تفاعل البوليميراز التسلسلي [11-12]:

DQA1*0201,DQA1*0301,
DQA1*0501,DQA1*0502,DQB1*02,DQB1*0302 كما في الجدول 1:

الجدول 1: تسلسل نيكليوتيدات المشارعات المستخدمة في تفاعل البوليميراز التسلسلي وأطوالهم

تسلسل البادئات ('5 to 3')		طول ناتج التضخيم (bp)	المرجع
DQB1*02 Forward	GTGCGTCTTGTGAGCAGAAG	198	Bunce et al.,1995
DQB1*02 Reverse	CGTGCGGAGCTCCAACTG		
DQB1*0302 Forward	GTGCGTCTTGTGACCAGATA	119	
DQB1*0302 Reverse	CTGTTCCAGTACTCGGCGG		
DQA1*0201 Forward	ACGGTCCCTCTGGCCAGTT	120	Scola et al.,2008
DQA1*0201 Reverse	GCGGGTCAAATCTAAGTCTGT		
DQA1*0301 Forward	CCCTCGCCCTGACCACCG	195	
DQA1*0301 Reverse	TGCGGAACAGAGGCAACT		
DQA1*0501 Forward	CTCAGACAATTTAGATTTGACCC	92	
DQA1*0501 Reverse	GAGTTGGAGCGTTTAATCAGAC		
DQA1*0502 Forward	CTCAGACAATTTAGATTTGACCG	92	
DQA1*0502 Reverse	GAGTTGGAGCGTTTAATCAGAC		

تم استخدام هرمون النمو كشاهد داخلي وتم التضخيم باستخدام جهاز الدوار الحراري Techne البريطاني، وباستخدام برنامج خاص لكل من أليلات DQA و DQB على حدة، حيث تم إظهار نتائج تفاعل البوليميراز التسلسلي بترحيلها على هلامة الأغاروز 2% بعد إضافة الايثيديوم بروماید واستخدام أشعة الـ UV.

الدراسة الإحصائية:

تم تحليل البيانات باستخدام برنامج SPSS الإصدار 22 .

النتائج:

تراوحت أعمار المشاركين في الدراسة بين 4 و 65 سنة حيث تم تنميط الجينات HLA DQ2 و HLA DQ8 و كانت النسبة المئوية للذكور المشاركين 51 % وكانت النسبة المئوية للإناث 49 %.

كانت نسبة تواتر الأليل DQB1*02 هي 24.5% بينما بلغت نسبة تواتر الأليل DQB1*0302 8.5% ،و يظهر الجدول 3 توزع هذه الأليلات ضمن مجموعة المشاركين في الدراسة:

الجدول 3: تواتر أليلات HLA DQ2 و HLA DQ8 في مجموعة الدراسة

الأليل	مجموعة الدراسة 100 شخص (200 أليل)	التواتر %
DQB1*02	49	24.5
DQB1*0302	17	8.5
DQX	134	67

بلغت نسبة تواتر الأنماط الفردانية المسببة لخطر الإصابة بالداء الزلاقي 30 % حيث كان النمط الأكثر انتشاراً هو DQ 2.5/2.5 تليه الأنماط التالية DQ 2.5/2.2، DQ2.2/DQ8،DQ8 بنسبة 5% . يظهر الجدول 4 توزع الأنماط الفردانية HLA DQ في مجموعة الدراسة كما في الجدول 4:

الجدول 4: توزع الأنماط الفردانية HLA DQ في مجموعة الدراسة

النمط الفرداني	العدد	التواتر %
DQ2.5/DQ8	2	2
DQ2.5/DQ2.5	11	11
DQ2.5/DQ2.2	5	5
DQ8/DQX	5	5
DQ2.2/DQ8	5	5
DQ2.2/DQ2.2	2	2
DQ2.x	3	3
DQX/DQX	67	67

وتستند مخاطر الداء الزلاقي لكل نمط من الأنماط الجينية الخاصة بـ HLA على الدراسات المنشورة في أوروبا كما يظهر الجدول 5 [13-15]:

الجدول 5: علاقة النمط الفرداني HLA DQ بخطورة الداء الزلاقي

الخطورة	النمط الفرداني HLA DQ
عالية جداً	DQ2.5/DQ8

عالية جداً	DQ2.5/DQ2.5
عالية جداً	DQ2.5/DQ2.2
عالية جداً	DQ8
عالية	DQ8/DQ2.2
عالية	DQ2.2/DQ2.2
منخفضة جداً	DQ2.X
منخفضة جداً	DQX.X

المناقشة:

تنبثق أهمية التنميط الجيني HLA-DQ في الممارسة السريرية من أن عدم وجود جزيئات HLA DQ2 وHLA DQ8 مهم لقيمته التنبؤية السلبية العالية [15-17]، وله دور أساسي في التشخيص كما أن التنميط الجيني يسمح بتحديد خطورة الداء الزلاقي لكل مريض على حدة [16-17].

وفي هذا الصدد من المفيد اعتبار وجود النمط الجيني HLA DQ كعامل خطورة وخطوة أولى في اختبار الأشخاص المؤهبين للإصابة بالداء الزلاقي والذين يجب أن يخضعوا للمتابعة المصلية خاصة أفراد عائلة المصابين بالداء الزلاقي والأشخاص المصابين بأمراض مناعية مثل الداء السكري من النمط الأول وبعض الأمراض التي تترافق مع الداء الزلاقي مثل متلازمة داون و تيرنر[18].

تساعد هذه الاستراتيجية في التشخيص المبكر لدى الأشخاص المعرضين للخطر بالإصابة الذين غالباً ما تكون لديهم الأعراض غير واضحة [19]، حيث أن التشخيص المبكر يعني التدخل المبكر ووضع نظام غذائي خال من الغلوتين والذي قد يمنع مضاعفات الداء الزلاقي والأمراض المصاحبة [20-21]، ولقد اقترح بعض الباحثين استخدام اختبار HLA DQ في الدراسات المسحية للتحري عن الداء الزلاقي عند مجموعة من السكان [21-24].

أظهرت هذه الدراسة أن الأنماط الفردانية التي تعطي مخاطر محتملة للإصابة بالداء الزلاقي موجودة بنسبة 30% من السكان في سوريا،52.7% في السعودية[25] ،58% في إيران[26] ،31.9% في شمال الهند[27]، وقد بلغت هذه النسبة في أوروبا 25-30 % [28] بينما كانت النسبة في السويد 53% [29].

كان تواتر النمط الفردانية DQ2 24.5 % في دراستنا بينما كان تواتر النمط الفردانية DQ8 8.5 % وتراوح تواتر هذه الأنماط الفردانية في الشعوب الأخرى بين 1-28 % لـ DQ2 و 1-9 % لـ DQ8 [30].

إن وجود هذه الأنماط الفردانية تقريباً عند حوالي ثلث السكان من الأشخاص اللاعرضيين يعطي مؤشراً بأن DQ2 و DQ8 ضرورية لإحداث الإصابة بالداء الزلاقي ولكنها غير كافية لإحداث الإصابة كما أن العوامل البيئية أو العوامل الوارثية الإضافية غير المعروفة مسؤولة عن الندرة الملحوظة للداء الزلاقي في هذه الفئة من السكان.

ينتشر الداء الزلاقي في أوروبا وأميركا الشمالية بنسبة 1%، وكانت نسبة انتشار إيجابية الأنماط الفردانية HLA DQ2/DQ8 بين هؤلاء السكان هي من 30 لـ 40 % [31-32].

وبما أن الخطر الوراثي للإصابة بالداء الزلاقي يتداخل مع بعض الاضطرابات المناعية الذاتية مثل السكري من النمط الأول والصدفية [33]، فلقد وجدت الدراسات عند الأطفال الإيطاليين أن وجود واحد أو أكثر من HLA DQ المثنوي المغاير يزيد بشكل كبير ليس من احتمالية ظهور الداء الزلاقي فقط ولكن أيضاً الداء السكري من النمط الأول والتهاب الغدة الدرقية المناعي الذاتي [34].

كما أظهرت العديد من الدراسات في الأشخاص الغير أوروبيين أن وجود الأنماط الفردانية DQ له دور كبير في خطر الإصابة بالداء الزلاقي، وفي دراستنا كان النمط الفرداني DQ 2.5/DQ 2.5 الذي يترافق بخطورة الإصابة بالداء الزلاقي هو الأكثر انتشاراً بنسبة 11% بينما كانت نسبة انتشار الأنماط الفردانية DQ2.5/2.2، DQ 2.2/DQ8 هي 5% وكانت النسبة الأقل DQ 2.2/2.2 وهي 2% [35,25].

تزيد هذه الأنماط الفردانية في المجتمعات الغربية خطر الإصابة بالداء الزلاقي من 5 إلى 10 أضعاف مقارنة مع الأفراد الذين لايملكون هذه الأنماط الفردانية كما أن وجود هذه الأنماط الفردانية عند السكان عندما يكون الداء الزلاقي غير معروف يشير إلى أن العوامل البيئية بما في ذلك كمية ونوع القمح المستهلك والعوامل الوراثية الأخرى قد تلعب دوراً رئيسياً في حماية السكان من الداء الزلاقي.

إن القابلية الجينية العالية للسكان في سوريا يمكن أن تفسر جزئياً الانتشار المرتفع المبلغ عنه مؤخراً في المجتمع السوري.

أظهرت بيانات دراستنا الخطوة الأولى نحو تحديد الأنماط الجينية المنتشرة في سوريا وأن ما يقرب من ثلث الأشخاص الأصحاء المشاركين في دراستنا وهم من الأفراد السوريين يملكون أحد الأنماط الفردانية المسببة لخطورة الإصابة بالداء الزلاقي وهذه الأنماط هي: HLA DQ2.5, DQ2.2,DQ8. وهنالك حاجة إلى مزيد من الأبحاث حول الداء الزلاقي لتحديد دور العوامل الأخرى الجينية والبيئية.

المراجع References

1. Sollid LM. The roles of MHC class II genes and post-translational modification in celiac disease. Immunogenetics. 2017;69:605–16.
2. Rubio-Tapia A. and Murray JA.Celiac disease.Curr Opin Gastroenterol. 26: 116-122; 2010.
3. Fasano A.Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population.Gastroenterology. 128: S68-S73; 2005.
4. Green PH. and Cellier C.Celiac disease.N Engl J Med. 357: 1731-1743; 2007.
5. Cummins AG, Roberts-Thomson IC. Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol Hepatol. 2009;24:1347–1351. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.05932.x
6. Challar MH, Jouma M, Sitzmann FC, Seferian V, Shahin E. Prevalence of asymptomatic celiac disease in a Syrian population sample. JABMS. 2004;6:155–160E.
7. Sollid LM. The roles of MHC class II genes and post-translational modification in celiac disease. Immunogenetics. 2017;69:605–16.
8. Rashid M, Lee J. Serologic testing in celiac disease: practical guide for clinicians. Can Fam Physician. 2016;62:38–43.
9. Wolters VM, Wijmenga C. Genetic background of celiac disease and its clinical implications. Am J Gastroenterol. 2008;103:190–5.
10. Mubarak A, Spierings E,Wolters V, van Hoogstraten I, Kneepkens CMF, Houwen R. Human leukocyte antigen DQ2.2 and celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013;56:428–30.
11. Bunce M, O'Neill CM, Barnardo MC, Krausa P, Browning MJ, Morris PJ, Welsh KI. Phototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 & DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP) Tissue Antigens. 1995;46:355–367. doi: 10.1111/j.1399-0039.1995.tb03127.x.
12. Scola L, Lio D, Candore G, Forte GI, Crivello A, Colonna-Romano G, Pes MG, Carru C, Ferrucci L, Deiana L, et al.

Analysis of HLA-DRB1, DQA1, DQB1 haplotypes in Sardinian centenarians. Exp Gerontol. 2008;43:114–118. doi: 10.1016/j.exger.2007.06.007.

13. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Nenna R, Maiella G, et al. HLA‐DQ and risk gradient for celiac disease. Hum Immunol 2009;70:55–9.
14. Ruiz-Ortiz E, Montraveta M, Cabré E, Herrero-Mata M, Pujol-Borrell R, Palou E, Faner R: HLA-DQ2/DQ8 andHLA-DQB1*02homozygosity typing by real-time polymerase chain reaction for the assessment of celiac disease genetic risk: evaluation of a Spanish celiac population. Tissue Antigens 2014, 84:545-553.
15. Margaritte-Jeannin P, Babron M, Bourgey M, Louka A, Clot F, Percopo S, Coto I, Hugot J, Ascher H, Sollid L, Greco L, Clerget-Darpoux F: HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue Antigens* 2004, 63:562-567.
16. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05‐DQB1*02 (DQ2) heterodimer: Results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. Hum Immunol. 2003;64:469–77.
17. Al‐Hussaini A, Sulaiman N, Al‐Zahrani M, Alenizi A, El Haj I.Prevalence of Celiac Disease among Type 1 Diabetic Children. BMC Gastroenterol 2012;12:180
18. Husby S, Koletzko S, Korponay‐Szabó IR, Mearin ML, Phillips A,Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology,Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012;54:136–60.
19. Ventura A, Magazzu G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with

celiac disease.SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease.Gastroenterology 1999;2:297–303.

20. Liu E, Lee HS, Aronsson CA, Hagopian WA, Koletzko S, Rewers MJ, et al. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. N Engl J Med 2014;371:42–9.
21. Bjorck S, Lynch K, Brundin C, Agardh D. Repeated screening is necessary for detection of celiac disease but can be restricted to at genetic risk birth cohorts. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2016;62:271–5.
22. Mearin ML, Ivarsson A, Dickey W. Coeliac disease: Is it time for mass screening? Best practice & research. Clin Gastroenterol 2005;19:441–52.
23. Francavilla R, Castellaneta S. Inverting the Diagnostic Pyramid in Celiac Disease: HLA Typing for Screening Suspects of Celiac Disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2016;63:e20.
24. Stanković B1, Radlović N, Leković Z, Ristić D, Radlović V, Nikčević G,et al. HLA genotyping in pediatric celiac disease patients. Bosn J Basic Med Sci 2014;14:171–6.
25. Al-Hussaini A, Alharthi H, Osman A, Eltayeb-Elsheikh N, Chentoufi A: Genetic susceptibility for celiac disease is highly prevalent in the Saudi population. Saudi Journal of Gastroenterology 2018, 24:268.
26. Yachha S: Celiac disease: India on the global map. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2006, 21:1511-1513.
27. Pietzak M, Schofield T, McGinniss M, Nakamura R: Stratifying Risk for Celiac Disease in a Large At-Risk United States Population by Using HLA Alleles. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2009, 7:966-971.
28. SOLLID L, LIE B: Celiac Disease Genetics: Current Concepts and Practical Applications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2005, 3:843-851.

29. Sandström O, Rosén A, Lagerqvist C, Carlsson A, Hernell O, Högberg L, Ivarsson A: Transglutaminase IgA Antibodies in a Celiac Disease Mass Screening and the Role of HLA-DQ Genotyping and Endomysial Antibodies in Sequential Testing. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2013, 57:472-476.
30. Lionetti E, Catassi C: Co-localization of gluten consumption and HLA-DQ2 and -DQ8 genotypes, a clue to the history of celiac disease. *Digestive and Liver Disease* 2014, 46:1057-1063.
31. Kårhus LL, Thuesen BH, Skaaby T, Rumessen JJ, Linneberg A.The distribution of HLA DQ2 and DQ8 haplotypes and their association with health indicators in a general Danish population.United European Gastroenterol J. 2018;6:866–78.
32. Lundin KE, Qiao SW, Snir O, Sollid LM. Coeliac disease – from genetic and immunological studies to clinical applications. Scand J Gastroenterol. 2015;50:708–17.
33. Barker JM. Clinical review: type 1 diabetes-associated autoimmunity: natural history, genetic associations, and screening. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91:1210–7.
34. Larizza D, Calcaterra V, Klersy C, et al. Common immunogenetic profile in children withmultiple autoimmune diseases: the signature of HLA-DQ pleiotropic genes. Autoimmunity. 2012;45:470–5.
35. Almeida F, Gandolfi L, Costa K, Picanço M, Almeida L, Nóbrega Y, Pratesi R, Pratesi C, Selleski N: Frequency of HLA-DQ, susceptibility genotypes for celiac disease, in Brazilian newborns. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 2018, 6:779-784.