

ANTIGENI DE HISTOCOMPATIBILITATE DE RISC ÎN BOALA CELIACĂ LA COPIL

GABRIEL SAMĂȘCA¹, MIHAELA IANCU², ALEXANDRU PÎRVAN³,
 MARIANA ANDREICA³, NICOLAE MIU³, ILEANA CONSTANTINESCU⁴,
 VICTOR CRISTEA¹, DORU DEJICA¹

¹Catedra de Imunologie

²Catedra de Informatică Medicală și Biostatistică

³Catedra Pediatrie II

Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

⁴Departamentul de Biologie Moleculară, Virusologie și HLA

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București

Rezumat

Introducerea glutenului în copilărie, agenții infecțioși și caracteristicile socio-economice, precum și prezența antigenilor umani de histocompatibilitate (HLA) DQ2 și/sau haplotipuri DQ8 sau variațiile genetice în mai multe gene non-HLA contribuie la dezvoltarea bolii celiace. Studii asupra implicării HLA-DQ2/DQ8 în boala celiacă la copil în România nu au fost raportate.

Pacienți și metodă. Am efectuat la 37 copii cu boală celiacă confirmată și la 9 rude de gradul întâi ale acestora, serologic negativi pentru boala celiacă, tipizarea HLA-DQ2/DQ8 prin PCR (polymerase chain reaction).

Rezultate. Testarea genetică ne relevă o prevalență de 75,6% (28 pacienți) cu predominanța haplotipurilor DR3-DQ2 și DR3-DQ2/DR3-DQ2 și a alelelor DQA1*0501 și DQB1*0201 la lotul de studiu și o prevalență de 77,8% (7 pacienți) cu predominanța haplotipului DR4-DQ8, alelele DQA1*0301 și DQB1*0302 la rudele copiilor cu boală celiacă.

Concluzii. Pozitivitatea crescută a testelor genetice demonstrează predispoziția crescută a acestora în identificarea factorilor de risc la copiii cu boala celiacă, dar și la rudele acestora.

Cuvinte cheie: antigeni de histocompatibilitate, factori de risc, boală celiacă la copii.

HISTOCOMPATIBILITY RISK ANTIGENS IN CELIAC DISEASE IN CHILDREN

Abstract

The introduction of a gluten diet in childhood, the infectious agents and socio-economic characteristics, as well as the presence of human histocompatibility antigens (HLA) DQ2/DQ8 haplotypes or genetic variations in several non-HLA genes, contribute to the development of celiac disease. No studies on the implication of HLA-DQ2/DQ8 in celiac disease in children have been reported in Romania.

Patients and method. We performed in 37 children with confirmed celiac disease and in a group of 9 first degree relatives of these, serologically negative for celiac disease, HLA-DQ2/DQ8 typing by PCR (polymerase chain reaction).

Results. Genetic testing reveals a prevalence of 75.6% (28 patients) with the predominance of DR3-DQ2 and DR3-DQ2/DR3-DQ2 haplotypes and DQA1*0501 and DQB1*0201 allele in study group and a prevalence of 77.8% (7 patients) with the predominance of DR4-DQ8 haplotype and DQA1*0301 and DQB1*0302 alleles in relatives of children with celiac disease.

Conclusions. The increased positivity of genetic tests demonstrates the

increased predisposition of these in the identification of risk factors in celiac disease in children and in their relative.

Keywords: histocompatibility antigens, risk factors, celiac disease in children.

INTRODUCERE

Prevalența bolii celiace a fost raportată până la 2% în America și Europa. Cu toate acestea, există grupuri specifice cu risc ridicat, care au o prevalență mai mare a bolii. Factorul de risc cel mai important pentru boala celiacă este prezent la rudele de gradul întâi, în special dacă poartă HLA-DQ2/DQ8. Schimbările structurale în arhitectura intestinului subțire, împreună cu modificările funcționale de permeabilitate, pot să apară chiar la rudele de gradul întâi asimptomatice. Acestea prezintă, de asemenea, riscul altor afecțiuni autoimune, precum și riscul limfomului intestinal [1].

Cele mai recente studii în acest sens le găsim pe continentul american, unde se arată că eșecul de a detecta boala celiacă la grupurile de risc, cuplat cu neputința de a trata boala, poate duce la o creștere a morbidității, cu un risc al mortalității de aproape 4 ori mai mare [2]. De asemenea, se descrie faptul că, deși riscul limfomului pare să fi scăzut în ultimele 4 decenii, persoanele cu un frate afectat de celiachie prezintă totuși un risc crescut de limfom [3]. Pe continentul european, în Olanda, se raportează o incidență a bolii celiace asociată cu limfomul T intestinal de 1 la 1 milion de persoane [4]. Aceeași cercetători [5] relatează un grup mic de pacienți cu boală celiacă (2-5%), care nu reușesc să se îmbunătățească din punct de vedere clinic și histologic, după eliminarea glutenului din alimentație. Această formă este menționată ca boală celiacă refractară și impune un risc serios de a dezvolta o enteropatie letală, asociată cu limfom limfocitar T. Ca atare, diagnosticul bolii celiace de la vârsta de copil prezintă o deosebită importanță în prevenția complicațiilor pe termen lung. Se estimează că peste 98% din persoanele cu boală celiacă posedă moleculele DQ2 și DQ8 [6]. Dacă un pacient suspect de boală celiacă prezintă testele genetice negative pentru DQ2 și DQ8 este puțin probabil să aibă boală celiacă. Ca atare, medicul clinician trebuie să se orienteze spre alte diagnostice [7], lucru confirmat și de alte studii [8], care afirmă că testarea TgA-IgA și EmA-IgA sunt cele mai sensibile teste serologice în boala celiacă, dar un rezultat negativ pentru HLA-DQ exclude diagnosticul. Ultimul consens în boala celiacă, din anul 2008, desfășurat sub egida Federațiilor Internaționale a Societăților de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție Pediatrică [9] reiterează acest fapt, afirmând că tipizarea HLA DQ2 și DQ8 prezintă sensibilitate mare, specificitate redusă, dar o

valoare predictivă pozitivă scăzută și o valoare predictivă negativă crescută pentru boala celiacă.

Scopul studiului

În acest sens am identificat potențialii factori genetici de risc, respectiv HLA-DQ2/DQ8, la copii cu boală celiacă și boli asociate acesteia, precum și la rudele de gradul întâi, respectiv frați, surori, negativi serologic pentru boala celiacă.

MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetarea s-a efectuat pe parcursul anului 2010, în cadrul Laboratorului Clinic de Imunologie și Gastroenterologie din cadrul Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii Cluj-Napoca, Clinica Pediatrie II, unde s-a efectuat testarea serologică pentru boala celiacă și extracția ADN-ului, în colaborare cu Departamentul de Diagnostic Biologie Moleculară, Imunologie, HLA și Virusologie din cadrul Institutului Clinic Fundeni, unde s-au efectuat determinările genetice HLA. Tipul studiului a fost analitic observațional.

Pacienți

Lotul studiat a cuprins un eșantion de 37 copii, diagnosticați cu boală celiacă și 9 frați și surori ai acestora, găsiți negativi serologic pentru boală celiacă. Distribuția pe sexe a lotului a fost: 10 băieți (27%) și 27 fete (73%). Testarea a cuprins determinarea prin PCR (*polymerase chain reaction*) a antigenilor de histocompatibilitate HLA.

Diagnosticul de boală celiacă la pacienții din lotul nostru s-a pus pe baza procedurii de screening serologic și a unei biopsii intestinale. Examenul histologic al biopsiei intestinale a confirmat sau a exclus diagnosticul de boală celiacă.

Metodă

Testele serologice au fost furnizate de INOVA Diagnostics Inc. (San Diego, USA). EmA-IgA au fost determinați prin imunofluorescență indirectă, utilizând ca substrat secțiuni de țesut de mucoasă esofagiană de maimuță, gata tipizate. Citirea s-a efectuat la microscopul cu fluorescență Olympus CX31. TgA-IgA au fost evidențiați prin reacții ELISA, cu ajutorul analizorului ELISA Chem Well 2910 Awareness Technology Inc., iar rezultatele obținute au fost validate doar după verificarea controlului intern al calității.

Kiturile de extracție a ADN și kitul pentru tipizarea HLA au fost produse de Inno-Train Diagnostik (Germania). S-au folosit kituri PROTRANS Domino System HLA, care determină următoarele haplotipuri specifice bolii celiace: 1. *Pattern 1* DR3-DQ2 și *Pattern 5* DR4-DQ8 ca haplotipuri singure; 2. *Pattern 2* DR3-

Articol intrat la redacție în data de: 12.12.2010

Primit sub formă revizuită în data de: 01.02.2011

Acceptat în data de: 07.02.2011

Adresa pentru corespondență: Gabriel.Samasca@umfcluj.ro

DQ2/DR3-DQ2 ca două haplotipuri identice homozigote; 3. *Pattern 3* DR3-DQ2/DR7-DQ2 și *Pattern 4* DR5-DQ7/DR7-DQ2 ca și combinații de două haplotipuri.

REZULTATE

I. Caracteristicile demografice și clinice ale subiecților studiați

Aria geografică de acoperire a cuprins pacienți din județul Cluj și județele din zona de nord-vest și centrală a Transilvaniei; Maramureș, Sălaj, Bistrița-Năsăud, Satu-Mare, Bihor, Alba, Mureș, Brașov, Hunedoara, Harghita, Suceava (Tabel 1).

Tabel 1. Distribuția geografică a pacienților.

Județ	Număr cazuri	Frecvențe relative (%)	Frecvențe relative cumulate ascendent
AB	6	16.2	16.2
AR	1	2.70	18.9
BH	1	2.70	21.6
BN	2	5.40	27
BV	1	2.70	29.7
CJ	13	35.1	64.8
HD	1	2.70	67.5
HR	2	5.40	72.9
MH	1	2.70	75.6
MM	4	10.9	86.5
SJ	2	5.40	91.9
SM	2	5.40	97.3
SV	1	2.70	100
Total	37	100	

Caracteristicile clinice ale lotului nostru au cuprins în mare parte pacienți cu boală celiacă veche, monitorizați

serologic pentru respectarea regimului fără gluten, dar și pacienți cu boli/condiții asociate, ca diabet zaharat tip I și artrită reumatoidă juvenilă (Tabel 2).

Tabel 2. Lot pacienți.

Diagnostic	Nr. pacienți
Boală celiacă	30
Boală celiacă asociată cu diabet zaharat tip I	4
Boală celiacă asociată cu artrită juvenilă	2
Boală celiacă asociată cu sindrom hipovolemic	1
Total pacienți	37

II. Rezultatele la pacienții cu boală celiacă

Pattern 1 DR3-DQ2 a fost identificat la 7 pacienți. *Pattern 2* DR3-DQ2/DR3-DQ2 a fost identificat la 6 pacienți. *Pattern 3* DR3-DQ2/DR7-DQ2 a fost identificat la un pacient. *Pattern 4* DR5-DQ7/DR7-DQ2 a fost identificat la 4 pacienți. *Pattern 5* DR4-DQ8 a fost identificat la 2 pacienți. De asemenea, 2 pacienți au prezentat o combinație între *pattern 1* și *pattern 5*, DR3-DQ2/DR4-DQ8, care susține diagnosticul serologic de boală celiacă, 1 pacient a prezentat *pattern*-ul DR5-DQ7, care a exclus diagnosticul de boală celiacă, iar la 4 pacienți nu a fost identificat nici un *pattern* specific bolii celiace (Tabel 3).

III. Rezultatele la pacienții cu boală celiacă și boli/condiții asociate

Pattern 2 DR3-DQ2/DR3-DQ2 a fost identificat la 2 pacienți cu boală celiacă și diabet zaharat tip I fără complicații. *Pattern 4* DR5-DQ7/DR7-DQ2 a fost identificat la 1 pacient cu boală celiacă și diabet zaharat tip I

Tabel 3. Rezultate tipizări haplotipuri pacienți cu boala celiacă.

Pacient	Haplotip 1			Haplotip 2			Correspondent serologic
	DRB1*	DQA1*	DOB1*	DRB1*	DQA1*	DOB1*	
1	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
2	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
3	11/12	0505	0301	07	0201	0202	DR5-DQ7/DR7-DQ2
4	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
5	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
6	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
7	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
8	11/12	0505	0301	07	0201	0202	DR5-DQ7/DR7-DQ2
9	-	-	-	-	-	-	negativ
10	11/12	0505	0301	07	0201	0202	DR5-DQ7/DR7-DQ2
11	04	0301	0302	-	-	-	DR4-DQ8
12	-	-	-	-	-	-	negativ
13	0301	0501	0201	07	0201	0202	DR3-DQ2/DR7-DQ2
14	04	0301	0302	-	-	-	DR4-DQ8
15	-	-	-	-	-	-	negativ
16	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
17	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
18	0301	0501	0201	04	0301	0302	DR3-DQ2/DR4-DQ8
19	0301	0501	0201	04	0301	0302	DR3-DQ2/DR4-DQ8
20	-	-	-	-	-	-	negativ
21	11/12	0505	0301	07	0201	0202	DR5-DQ7/DR7-DQ2
22	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
23	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
24	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
25	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
26	11/12	0505	0301	-	-	-	DR5-DQ7 (negativ)
27	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
28	0301	0501	0201	-	-	-	DR3-DQ2
29	-	-	-	-	-	-	negativ
30	-	-	-	-	-	-	negativ

fără complicații. *Pattern 5* DR4-DQ8 a fost identificat la 1 pacient cu boală celiacă și artrită juvenilă cu localizări multiple. De asemenea, 1 pacient cu boală celiacă și diabet zaharat tip I cu control slab a prezentat o combinație între *pattern 1* și *pattern 5*, DR3-DQ2/DR4-DQ8, care susține diagnosticul serologic de boală celiacă, iar 2 pacienți cu boală celiacă asociată cu sindrom hipovolemic și artrită juvenilă cu localizări multiple nu au prezentat nici un *pattern* specific bolii celiace (Tabel 4).

IV. Rezultatele la rudele pacienților negativi serologic pentru boala celiacă

Pattern 2 DR3-DQ2/DR3-DQ2 a fost identificat la 2 pacienți. *Pattern 4* DR5-DQ7/DR7-DQ2 a fost identificat la 1 pacient. *Pattern 5* DR4-DQ8 a fost identificat la 3 pacienți. De asemenea, un pacient a prezentat o combinație între *pattern 1* și *pattern 5*, DR3-DQ2/DR4-DQ8, care ne-a îndreptat spre un diagnostic de boală celiacă, un pacient a prezentat *pattern*-ul DR5-DQ7, care a exclus diagnosticul de boală celiacă, iar la 1 pacient nu a fost identificat nici un *pattern* specific bolii celiace (Tabel 5).

V. Analiza statistică de ansamblu a lotului

- Analiza *pattern*-urilor ne relevă o prevalență de 22% (8 pacienți) *Pattern 1* DR3-DQ2, 22% (8 pacienți) *Pattern 2* DR3-DQ2/DR3-DQ2, 3% (1 pacient) *Pattern 3* DR3-DQ2/DR7-DQ2, 14% (5 pacienți) *Pattern 4* DR5-DQ7/DR7-DQ2, 8% (3 pacienți) *Pattern 5* DR4-DQ8, 8% (3 pacienți) au prezentat o combinație între *pattern 1* și *pattern 5*, DR3-DQ2/DR4-DQ8, restul de 23% (9 pacienți) fiind negativi. Clasificarea genotipică ne arată o prevalență de 30% (11 pacienți) haplotipuri singure, 22% (8 pacienți) haplotipuri homozigote, 16% (6 pacienți) haplotipuri heterozigote și 8% (3 pacienți) haplotipuri noi, restul de 32% (9 pacienți) fiind negativi.

- Analiza antigenilor leucocitari DR

- analiza haplotipului 1 corespunzător *pattern*-urilor determinate ne arată o prevalență de 54.05% a DR3, 8.11% DR4, 16.22% DR5, restul de 21.62% fiind negativi;

- analiza haplotipului 2 corespunzător *pattern*-urilor determinate ne arată o prevalență de 21.62% a DR3, 8.11% DR4, 16.22% DR7, restul de 54.05% fiind negativi;

- Analiza antigenelor leucocitare DQ

- analiza haplotipului 1 corespunzător *pattern*-urilor determinate ne arată o prevalență de 54.05% DQ2 format din alela DQA1*0501 și alela DQB1*0201, 8.11% DQ8 format din alela DQA1*0301 și alela DQB1*0302, 16.22% DQ7 format din alela DQA1*0505 și alela DQB1*0301, restul de 21.62% fiind negativi;

- analiza haplotipului 2 corespunzător *pattern*-urilor determinate, arată o prevalență de 21.62 DQ2 format din alela DQA1*0501 și alela DQB1*0201, 16.21% DQ2 format din alela DQA1*0201 și alela DQB1*0202, 8.11% DQ8 format din alela DQA1*0301 și alela DQB1*0302, restul de 54.05% fiind negativi.

DISCUȚII

Predispozanța genetică manifestată prin DQ2 (respectiv prezența *pattern*-urilor DR3-DQ2, DR3-DQ2/DR3-DQ2, DR3-DQ2/DR7-DQ2, DR5-DQ7/DR7-DQ2) a fost prezentă la 22 pacienți (61 %), în timp ce pentru DQ8 (respectiv prezența *pattern*-ului DR4-DQ8) a fost observată la 3 pacienți (8%). De asemenea, la 3 pacienți (8%) a fost prezentă o combinație între HLA-DQ2 și HLA-DQ8 (respectiv între *pattern 1* și *pattern 5*, DR3-DQ2/DR4-DQ8), iar la 9 pacienți (23%) cu boală celiacă confirmată serologic și prin biopsie duodenală nu s-a evidențiat DQ2 și DQ8. Clasificarea genotipică și analiza antigenilor leucocitari ne relevă o prevalență predominantă a haplotipurilor singure și a DR3 și DQ2 format din alela DQA1*0501 și alela DQB1*0201.

Implicarea antigenilor umani leucocitari DQ2

Tabel 4. Rezultate tipizări haplotipuri pacienții cu boală celiacă și boli/condiții asociate.

Pacient	Haplotip 1			Haplotip 2			Correspondent serologic
	DRB1*	DQA1*	DQB1*	DRB1*	DQA1*	DQB1*	
1	-	-	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	-	-	
3	04	0301	0302	-	-	-	DR4-DQ8
4	11/12	0505	0301	07	0201	0202	DR5-DQ7/DR7-DQ2
5	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
6	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
7	0301	0501	0201	04	0301	0302	DR3-DQ2/DR4-DQ8

Tabel 5. Rezultate tipizări haplotipuri rude pacienți negativi serologic pentru boala celiacă.

Pacient	Haplotip 1			Haplotip 2			Correspondent serologic
	DRB1*	DQA1*	DQB1*	DRB1*	DQA1*	DQB1*	
1	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2
2	11/12	0505	0301	-	-	-	DR5-DQ7
3	11/12	0505	0301	07	0201	0202	DR5-DQ7/DR7-DQ2
4	04	0301	0302	-	-	-	DR4-DQ8
5	04	0301	0302	-	-	-	DR4-DQ8
6	0301	0501	0201	04	0301	0302	DR3-DQ2/DR4-DQ8
7	-	-	-	-	-	-	negativ
8	04	0301	0302	-	-	-	DR4-DQ8
9	0301	0501	0201	0301	0501	0201	DR3-DQ2/DR3-DQ2

și DQ8 în boala celiacă este cunoscută și reiterată [10], boala celiacă fiind descrisă ca o afecțiune multifactorială, rezultată din interacțiunea HLA-DQA1 și variantele genei HLA-DQB1, cunoscute ca fiind asociate cu susceptibilitatea la celiachie [11]. Cunoașterea HLA-DQ este importantă și pentru dezvoltarea terapiilor de viitor, care vor ridica însă multe discuții critice, cum ar fi inhibarea peptidelor glutenice de către antagoniști ai HLA-DQ [12].

Totuși, la pacienții negativi pentru DQ2 și DQ8 se ridică unele probleme. Datorită complexității acestei boli, recent s-a propus un nou algoritm diagnostic [13], în care lipsa DQ2 și DQ8 nu ar exclude diagnosticul de boală celiacă. Ei sugerează ca diagnosticul bolii celiace să fie confirmat dacă cel puțin 4 dintre următoarele 5 criterii sunt îndeplinite: (1) simptomele tipice ale bolii celiace, (2) pozitivitatea serologică a claselor de imunoglobuline, (3) o clasă de autoanticorpi specifici bolii celiace la titru înalt, (4) antigeni umani leucocitari DQ2 sau DQ8, (5) diagnosticul bolii celiace prin biopsia mucoasei intestinului subțire și răspuns la dieta fără gluten.

La rudele de gradul întâi ale copiilor cu boală celiacă, un studiu recent [14], evaluând prevalența HLA DQ2/8, observă că un total de 85% din rudele de gradul întâi au fost pozitive pentru HLA DQ2, prezentând riscul dezvoltării bolii celiace. Aceste date sunt confirmate de studiul nostru, 7 pacienți din lotul de 9 având haplotipul DQ2 și DQ8, ceea ce ne determină, cu toate costurile ridicate ale metodei, să propunem introducerea unui program de screening genetic al bolii celiace la acești pacienți.

CONCLUZII

Studiul relevă variabilitatea genotipică a haplotipurilor cu factor de risc pentru boala celiacă, confirmată prin tipizarea de haplotipuri cunoscute cu predominanța DQ2, dar și prin descoperirea de noi combinații de haplotipuri. Tipizarea HLA rămâne testul cel mai fidel în identificarea factorilor de risc, respectiv a prezenței DQ2 și DQ8, în scop diagnostic și prognostic în boala celiacă la copil. Rudele copiilor cu boală celiacă, deși au testele serologice negative pentru boala celiacă, datorită pozitivității haplotipurilor specifice pentru boala celiacă prezintă riscul dezvoltării limfomului intestinal.

Bibliografie

1. Hugh James Freeman. Risk factors in familial forms of celiac disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16:1828-1831.
2. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F et al. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2009; 137:88-93.
3. Gao Y, Kristinsson SY, Goldin LR, Björkholm M, Caporaso NE, Landgren O. Increased risk for non-Hodgkin lymphoma in individuals with celiac disease and a potential familial association. *Gastroenterology* 2009; 136:91-98.
4. Verbeek WH, Van De Water JM, Al-Toma A, Oudejans JJ, Mulder CJ, Coupé VM. Incidence of enteropathy-associated T-cell lymphoma: a nation-wide study of a population-based registry in The Netherlands. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43:1322-1328.
5. Tack GJ, Verbeek WH, Schreurs MW, Mulder CJ. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010; 7:204-213.
6. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garrity C et al. Celiac disease. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 2004; 104:1-6.
7. James SP, James SP, This month at the NIH: Final statement of NIH Consensus Conference on celiac disease. *Gastroenterology*. 2005; 128:6.
8. Hadithi M, von Blomberg BM, Crusius JB, Bloemena E, Kostense PJ, Meijer JW et al. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Ann Intern Med*. 2007; 147:294-302.
9. Fasano A, Araya M, Bhatnagar S, Cameron D, Catassi C, Dirks M et al. Consensus guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47:214-219.
10. Tjon JM, van Bergen J, Koning F. Celiac disease: how complicated can it get? *Immunogenetics*. 2010 Jul 27. [Epub ahead of print]
11. Snyder CL, Young DO, Green PHR, Taylor AK. Celiac Disease. In: Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K, editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. 2008 Jul 03.
12. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*. 2009; 137:1912-1933.
13. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *Am J Med*. 2010; 123:691-693.
14. Srivastava A, Yachha SK, Mathias A, Parveen F, Poddar U, Agrawal S. Prevalence, human leukocyte antigen typing and strategy for screening among Asian first-degree relatives of children with celiac disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25:319-324.