

Çölyak hastalığının moleküler genetik temelleri

Cemal Ün¹, Sema Aydoğdu²

GSF National Research Center for Environment and Health ¹Institute of Development Genetics Doktoru (PhD),
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi ²Pediyatri Doçenti

SUMMARY: Ün C, Aydoğdu S. (GSF-National Research Center for Environment and Health, Institute of Developmental Genetics, Neuherberg, Germany and Department of Pediatrics, Ege University Faculty of Medicine, Izmir, Turkey). Molecular genetic fundamentals of celiac disease. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2003; 46: 75-79.

Celiac disease (CD), the most common food sensitive enteropathy in humans is a disease affecting mainly the proximal small intestine due to a permanent intolerance to proteins of gluten, contained in certain cereals (wheat, rye, barley, oat). The severity of the gastrointestinal symptoms varies according to age at diagnosis. In children, chronic diarrhea, failure to thrive, abdominal distention and iron deficiency are usually present. After childhood, the clinical picture of CD is often less typical and has a more moderate symptomatology. The prevalence of CD is about 1/200 to 1/1000 in the European population and 1/250 in the United States. From the genetic point of view, CD is a multifactorial disease, involving both genetic and environmental factors. In the last few years a number of studies in different populations have been carried out using molecular genetic methods like linkage analysis and candidate gene analysis to identify genes causing celiac disease. One susceptibility locus is the MHC region, with a particular association with the HLA-DQ alleles DQA1*0501 and DQB1*0201. However, haplotype sharing studies suggest that genes within the MHC complex contribute no more than 40% to the sibling familial risk of disease.

Key words: celiac disease, linkage analysis, candidate gene, locus.

ÖZET: Çölyak hastalığı, insanlarda en sık görülen besin kökenli ince bağırsak hastalığıdır. Buğday, arpa, çavdar ve yulafın içerdiği bitkisel protein glutene karşı ömür boyu süren intoleransla karakterizedir ve özellikle ince bağırsağın proksimalini tutar. Hastalık belirtileri ve ciddiyetleri yaşla değişiklik göstermektedir. Çocuklarda sıklıkla kronik ishal, büyüme geriliği, karın şişliği, demir eksikliği ile ortaya çıkarken, ileri yaşlarda gastrointestinal sistem dışı bulgularla veya daha hafif şekillerde karşımıza gelebilmektedir. Çölyak hastalığı prevalansı Avrupa ülkelerinde 1/200 ile 1/1000 arasında değişmekte, Amerika Birleşik Devletleri'nde ise 1/250 olarak bildirilmektedir. Genetik açıdan, çevresel ve genetik faktörlerin etkili olduğu multifaktöriyel bir hastalıktır. Son yıllarda bu hastalığa neden olan gen lokuslarının bulunması için, bağlantı analizi (linkage analysis) ve aday gen analizi (candidate gene analysis) gibi yöntemler kullanılarak değişik topluluklarda önemli araştırmalar yapılmıştır. Üzerinde çalışılan lokuslardan en önemlisi MHC bölgesinde bulunan DQA1*0501 ve DQB1*0201 allelleridir. Fakat bu lokus hastalığın sadece %40'ı kadarını açıklayabilmektedir.

Anahtar kelimeler: çölyak hastalığı, bağlantı analizi, aday gen, lokus.

Çölyak hastalığı ya da glutene duyarlı enteropati, insanlarda en sık görülen besin kökenli bir ince bağırsak hastalığıdır. Yaşam boyu süren tek besin allerjisidir. Buğday, arpa, çavdar, bir miktarda yulafta bulunan gluten isimli bitkisel proteine yönelik hücrel ve humoral immün sistem

aktivasyonu ile karakterizedir. Günümüzde, çölyaklı bireylerin doğuştan genetik bir yatkınlığa sahip olduğu ve bunun uygun çevresel koşullar altında hastalığa dönüştüğü kabul edilmektedir. Belirtiler çocukluk yaş döneminde, özellikle küçük çocuklarda daha klasik olup, kronik-

durdurulamayan ishal, büyüme geriliği ve karın şişliği üçlemesi ile karakterizedir. Daha ileri yaşlarda ise gastrointestinal sistem dışı daha farklı bulgularla veya daha hafif şekillerde karşımıza gelebilmektedir. Çölyak hastalığından şüphe edildiğinde IgG ve IgA tipinde anti gliadin antikor ve IgA tipinde anti endomisium antikor testleri tarama testi olarak kullanılmakta, kesin tanı için klinik, biyokimyasal, serolojik bulgular ile ince bağırsak biyopsi bulgularının birleştirilmesi gerekmektedir¹⁻³. Hastalığın görülme sıklığı Avrupa ülkeleri için 1/200-1/1000 arasında bildirilirken, Amerika Birleşik Devletleri için 1/250 olarak verilmektedir³. Ancak "sessiz" veya "latent" şekillere sahip hastaların gözlem dışı kalabileceği ve bu oranların daha da yüksek olabileceği düşünülmektedir. Özellikle erişkin grupta tanı alamama intestinal malign lenfoma, osteoporozise yol açabilmektedir. Çölyak hastalığının günümüzde bilinen tek tedavi yöntemi ömür boyu glutensiz bir diyetle beslenmedir ve bu diyet altında hastalar normal yaşamlarını sürdürebilmektedir⁴.

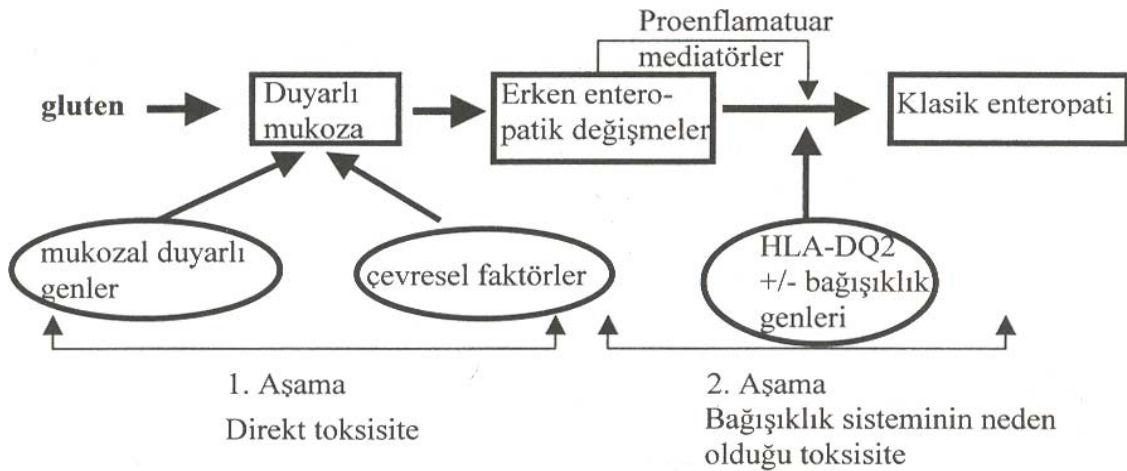
Çölyak hastalarının buğday arpa ve çavdara allerjik olduğu bilinirken, yine bir tahıl olan yulafa karşı allerjik olup olmadığı kesin olarak bilinmemektedir⁵. Ancak Finlandiya'dan bir çalışmaya göre yulafın allerjik etkisi çok düşük veya yok denecek kadar azdır⁶. Tahıllar aslında dünyadaki çoğu toplumun beslenmesinde temel karbonhidrat kaynağıdır ve yapılarında çeşitli depo proteinlerini barındırırlar. Çölyak hastalığında asıl sorumlu olan glutenin alkolde

çözülebilir fraksiyonu prolaminlerdir. Prolaminlerin yapıları çok iyi bilinmesine ve çölyak hastalığındaki rolleri belirlenmiş olmasına rağmen hastalık üzerindeki etki mekanizmaları halen tartışmalıdır (Şekil 1)^{5,7}.

Çölyak hastalığının patogenezi ve fenotipi

Çölyak hastaları her yaş grubunda, kronik ishal, karın şişliği, kilo kaybı, oral tedaviye yanıtız demir eksikliği anemisi, sürekli yorgunluk hissi gibi klasik ve çoklu belirtilerle karşımıza gelebildiği gibi, çocuklarda sadece boy kısalığı, erişkinlerde osteoporoz gibi tekli semptomlarla da gelebilir. Tanı gecikmesi veya diyetle uyumsuzluk tiroidit, diyabet gibi otoimmün kökenli hastalıkların da tabloya eklenmesine neden olmaktadır. Aslında bu hastaların ortalama yaşam süresi, glutensiz diyetin tam anlamıyla uygulandığı koşullarda, hasta olmayan insanlarla aynı düzeydedir^{4,8}.

Çölyaklı bireyler buğday, arpa, çavdar ve yulafa (?) duyarlı iken, farklı bitki ailelerinden olan pirinç, mısır, soya, baklagiller ve darı gibi bitkilere duyarlılık göstermezler. Tohumda depolanan proteinler fiziksel özelliklerine göre albuminler, globülinler ve prolaminler olarak üçe ayrılmaktadır. Globülin ve albuminler çiçekli bitkilerde yaygın olarak görülürken, alkolde çözülebilir prolaminler sadece çim bitkilerinde görülmektedir. Prolamin proteinleri toksik etki yapılarıyla tanınmakta ve buğday, arpa, çavdar ve yulaf gibi bitkilerde bulunmaktadır⁷. Prolaminler, gliadin (buğday), secalin (arpa),



Şekil 1. Çölyak hastalığı oluşumunda gliadinin değişik aşamalı etkileri.

hordein (çavdar) ve avenin (yulaf) olmak üzere dörde ayrılmakta, ayrıca sülfürden zengin, sülfürden fakir ve yüksek moleküler ağırlıklı olmak üzere de sınıflandırılmaktadır. Gliadinlerin bir kısmı sülfürden zengin iken, bir kısmı da sülfürden fakirdir ve eşit derecede toksik etki yaptıkları düşünülmektedir. Yüksek moleküler ağırlıklı prolaminlerin etkisi tam bilinmemektedir⁵.

Çölyak hastalığının genetiği

Genetik açıdan çölyak hastalığı, hem çevresel (gluten) hem de genetik faktörlerin (MHC genleri) etkili olduğu multifaktöriyel bir hastalıktır. Yapılan segregasyon analizleri çölyaklıların birinci dereceden akrabalarının %10-15, HLA benzer kardeşlerinin %30-50 ve tek yumurta ikizlerinin ise %70-100 oranında bu hastalığa yakalanma riski taşıdığını ortaya koymuştur⁹. Hastalığın oluşumunda rol oynayan gen ya da lokusların bulunmasına yönelik genetik çalışmalara göre HLADQ2 haplotipi hastalıkta çok önemli bir lokustur. Ancak bu lokusun hastalığın ortaya çıkmasında rol oynayan tek lokus olmadığı, hastaların sadece %40'ından sorumlu olduğu ve başka lokus-larında etkide bulunduğu düşünülmektedir^{8,10}.

Çölyak hastalığı ile ilgili bağlantı analizi çalışmaları

Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkan kompleks hastalıklar son yıllarda klinik ve ekonomik önemleri nedeniyle, özellikle gelişmiş ülkelerde ön plana çıkmışlardır. Bu tür hastalıkların genetik kökenlerinin araştırılmasında büyük gelişmeler kaydedilmiştir¹¹. Kompleks hastalıklara neden olan genetik yapıların ortaya çıkarılmasında genom analizleri özel bir önem taşımaktadır. İnsan genomu projeleri ile gen kartlarının çıkarılmış olması ve bu kartlar üzerinde polimorf moleküler genetik işaretleyicilerin sık aralıklarla yer alması, genetik kökeni bilinmeyen hastalıklarla ilgili tüm genomu kapsayan bağlantı analizlerinin yapılabilmesini sağlamıştır. Moleküler genetik işaretleyiciler olarak en çok mikrosatellitlerden yararlanılmaktadır. Mikrosatellitler genom içerisinde ardışık tandem tekrarlar şeklinde görülen DNA motifleridir. Bu motifler genelde (CA)_n ya da (TG)_n olup ortalama on kez tekrarlanmaktadır. Mikrosatellitlerin yüksek polimorfizm göstermeleri gen lokalizasyon-larının

saptanmasında uygun bir kullanım alanı sağlamaktadır¹².

Çölyak hastalığının ortaya çıkmasında HLA genleri dışında rol alan gen bölgelerinin bulunması için ilk bağlantı analizi (linkage analysis) İrlanda'da Zhong ve arkadaşları¹³ tarafından 15 aile üzerinde yapılmıştır. Sonuçta, kromozom 3, 5, 6, 7, 11, 13, 15 ve 22 üzerindeki bölgelerle çölyak hastalığının ilişkili olduğu saptanmıştır. Daha sonra Houlston ve arkadaşları¹⁴ İngiltere'de 28 ailede yaptıkları bağlantı analizi çalışmasında tüm genomu araştırmayıp, Zhong ve arkadaşlarının¹³ bulduğu genom bölgelerini aday olarak seçmişlerdir. Çalışmanın sonunda kromozom 3, 5, 7, 11, 19, 22 üzerinde bulunan ve çölyak hastalığı ile ilişkili olduğu düşünülen genom bölgeleri onaylanmamış, ancak kromozom 6, 13 ve 15 üzerindeki bölgeler onaylanmıştır¹⁴. İtalya'dan Greco ve arkadaşları¹⁵ tarafından yapılan bir bağlantı analizinde ise toplam 110 hasta ve bunların anne-babalarını içeren bir deney grubunda 281 işaretleyici ile çölyak hastalığında rol alan genlerin lokalize olduğu genom bölgeleri araştırılmıştır. Bu çalışmada HLA genlerine ek olarak kromozom 5 ve 11 üzerindeki bölgelerin de hastalığın oluşumunda rol alan genleri içerdiği ileri sürülmüştür¹⁵. Son olarak Finlandiya'dan bir çalışmada ise 60 aile araştırılmış ve kromozom 1, 4, 5, 7, 9 ve 16 üzerinde bağlantı bölgeleri tanımlanmıştır (Tablo I)¹⁶.

Çölyak hastalığı ile ilgili aday gen çalışmaları

Son yıllarda çölyak hastalığı ilgili bir çok aday gen çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalar DM, LMP, TAP, ve TNE, CTLA-4 gibi genleri içermektedir¹⁷⁻²⁶. Bu araştırmalara göre TAP ve LMP genleriyle çölyak hastalığı arasında bir bağlantı olduğu bulunmuş; ancak bu genlerle HLADQ2 lokusu arasında sıkı bir bağlantının (linkage) olması bu sonuçların HLADQ2'nin sekonder etkisinden kaynaklandığını düşün-dürmüştür⁹.

Yapılan araştırmalar çölyak hastalarının ince bağırsaklarında gluten-spesifik T hücrelerinin varlığını gösterirken, aynı durum kontrol gruplarında saptanmamıştır. T hücrelerinin doku zedelenmesine neden olan interferon-λ ürettiği bilinen bir gerçektir²⁷⁻²⁹. Bu durum T hücresi ilgili genler, CTLA-4 ve T hücre reseptör geni-TCR'nin aday gen olarak seçilip araştırılmasına yol açmıştır. Sonuçta CTLA-4 geniyile çölyak

Tablo I. Çölyak hastalığı ile ilgili bağlantı analizi çalışmaları

Topluluk	Yöntem	Bulunan lokuslar	Kaynak
İrlanda	Mikrosatellit	6p12, 3q27, 5q33.3, 7q31.3, 11p11, 15q26, 19p13.3, 19q13.1, 19q13.4 ve 22cen	Zhong et al ¹³ (1996)
İngiltere	Mikrosatellit	15q26	Houlston et al ¹⁴ (1997)
İngiltere	Mikrosatellit	—	Brett et al ⁸ (1998)
İtalya	Mikrosatellit	11qter	Greco et al ¹⁵ (1998)
Amerika	Mikrosatellit	—	Neuhausen et al ⁹ (2002)
Finlandiya	Mikrosatellit	1p36, 4p15, 5q31, 7q21, 9p21-23, 16q12.	Liu et al ¹⁶ (2002)

Tablo II. Çölyak hastalığı ile ilgili aday gen çalışmaları

Topluluk	Gen	Bağlantı	Kaynak
Fransa	DM	Hayır	Djilali-Saiah et al ¹⁸ (1996)
Fransa	LMP	Evet	Djilali-Saiah et al ¹⁷ (1994)
Fransa	TAP	Evet	Djilali-Saiah et al ¹⁷ (1994)
Fransa	CTLA-4	Evet	Djilali-Saiah et al ²³ (1998)
İtalya, Tunus	CTLA-4	Evet	Clot et al ¹⁰ (2000)
İsveç	CTLA-4	Evet	Popat et al ²⁵ (2002)
Almanya	TCR	Hayır	Roschman et al ³¹ (1996)

hastalığı arasında bazı topluluklarda ilişki bulunurken, TCR'nin değişik şekillerinin hastalıkla her hangi bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır (Tablo II)²⁹⁻³¹.

Sonuç

Çölyak hastalığı genetiği ile ilgili çalışmalar, hastalığın çevresel ve genetik etkiler altında ortaya çıkan multifaktöriyel bir karakter taşıdığı göstermiştir. HLA-DQ2 haplotipi ile çölyak hastalığı arasındaki sıkı ilişki bilimsel olarak ortaya konmuşken, bu lokus ancak hastalıkların %40 kadarını açıklamakta ve bu da hastalıkta rol alan başka lokuslarında varlığını gündeme getirmektedir. Bu lokusların bulunması için değişik topluluklarda bağlantı analizi ve aday gen yöntemleri uygulanarak genom analizleri uygulanmış ve bu çalışmalar sonucunda LMP, TAP ve CTLA-4 gibi lokusların da bu hastalık üzerinde etkisi olduğu bulunmuştur. Ancak değişik topluluklarda yapılan çalışmalar her zaman benzer sonuçları vermemektedir. Bu durum laboratuvar yöntemlerinin ve topluluk büyüklüklerinin farklılığından kaynaklanabileceği gibi hastalıkla bağlantısı olan olası mutasyonların farklı populasyonlarda farklı şekilde segregasyonundan da kaynaklanabilir.

Küçük gen etkilerinin bulunabilmesi için çok sayıda deneğe gereksinim vardır ve bu alanda yapılan tüm çalışmalar birbirlerini tamamlayıcı özellikler taşımaktadır.

Çölyak hastalığının moleküler genetik özelliklerinin saptanabilmesi için, üzerinde çalışılan toplulukla ilgili sağlıklı bir fenotip analizine ve sağlam verilere gereksinim vardır. Gelişmiş ülkelerde, çölyak hastalığının sıklığı bilinirken, ülkemizdeki sıklık hakkında halen yeterli bir çalışma ve veri yoktur. Çölyak hastalıklı Türklerin moleküler genetik karakterizasyonunun yapılabilmesi için bu ön çalışmaların yapılması zorunludur.

KAYNAKLAR

1. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: a molecular approach to the spectrum of gluten sensitivity. *Gastroenterology* 1992; 102: 330-354.
2. Van de Wal Y, Kooy Y, Van Veelen P, Vader W, Koning F. Coeliac disease: it takes three to tango! *Gut* 2000; 46: 734-737.
3. King AL, Ciclitira PJ. Celiac disease: strongly heritable, oligogenic, but genetically complex. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 70-75.

4. Book L, Hart A, Black J, Feolo M, Zone JJ, Neuhausen SL. Prevalence and clinical characteristics of celiac disease in Down syndrome in a US study. *Am J Med Genet* 2001; 98: 70-74.
5. Gotkin A, Jewell D. The pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 206-210.
6. Janatuinen E, Pikkarainen P, Kempainen T, et al. A comparison of diets with and without oats in adults with celiac disease. *N Engl J Med* 1995; 333: 1033-1037.
7. Shewry P, Napier J, Tatham A. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. *Plant Cell* 1995; 7: 945-956.
8. Brett PM, Yiannakou JY, Morris MA, et al. A pedigree-based linkage study of coeliac disease: failure to replicate previous positive findings. *Ann Hum Genet* 1998; 62: 25-32.
9. Neuhausen SL, Weizman Z, Camp NJ, et al. HLA DQA1-DQB1 genotypes in Bedouin families with celiac disease. *Hum Immunol* 2002; 63: 502-507.
10. Clot F, Babron MC. Genetics of celiac disease. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 76-80.
11. Altmuller J, Palmer LJ, Fischer G, Scherb H, Wjst M. Genomewide scans of complex human diseases: true linkage is hard to find. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 1413.
12. Montaldo HH, Meza-Herrera CA. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. <http://www.ejbg.org/content/vol1/issue2/>.
13. Zhong F, McCombs C, Olson JM, et al. An autosomal screen for genes that predispose to celiac disease in the western counties of Ireland. *Nat Genet* 1996; 14: 329-333.
14. Houlston RS, Tomlinson IP, Ford D, et al. Linkage analysis of candidate regions for coeliac disease genes. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1335-1339.
15. Greco L, Corazza G, Clot F, et al. Genome search in Celiac disease. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 669-675.
16. Liu J, Suh-Hang Juo SH, Holopainen P, et al. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 51-59.
17. Djilali-Saiah I, Caillat-Zucman S, Schmitz J, Chaves-Vieira ML, Bach JF. Polymorphism of antigen processing (TAP, LMP) and HLA class II genes in celiac disease. *Hum Immunol* 1994; 40: 8-16.
18. Djilali-Saiah I, Benini V, Schmitz J, et al. Absence of primary association between DM gene polymorphism and insulin dependent diabetes mellitus or celiac disease. *Hum Immunol* 1996; 49: 22-27.
19. McManus R, Wilson AG, Mansfield J, Weir DG, Duff GW, Kelleher D. TNF2, a polymorphism of the tumour necrosis-alpha gene promoter, is a component of the celiac disease major histocompatibility complex haplotype. *Eur J Immunol* 1996; 26: 2113-2118.
20. McManus R, Moloney M, Borton M, et al. Association of celiac disease with microsatellite polymorphisms close to the tumor necrosis factor genes. *Hum Immunol* 1996; 45: 24-31.
21. de la Concha EG, Ferna'ndez-Arquero M, Vigil P, et al. Celiac disease and TNF promoter polymorphisms. *Hum Immunol* 2000; 61: 513-517.
22. Polvi A, Maki M, Collin P, Partanen J. TNF microsatellite alleles a2 and b3 are not primarily associated with celiac disease in the Finnish population. *Tissue Antigens* 1998; 51:553-555.
23. Djilali-Saiah I, Schmitz J, Harfouch-Hammoud E, Mougenot JF, Bach JF, Caillat-Zucman S. CTLA-4 gene polymorphism is associated with predisposition to coeliac disease. *Gut* 1998; 43: 187-189.
24. Clot F, Fulchignoni-Lataud MC, Renoux C, et al. Linkage and association study of the CTLA-4 region in coeliac disease for Italian and Tunisian populations. *Tissue Antigens* 1999; 54: 527-530.
25. Popat S, Hearle N, Wixey J, et al. Analysis of the CTLA4 gene in Swedish coeliac disease patients. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 28-31.
26. Bevan S, Popat S, Braegger CP, et al. Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease. *J Med Genet* 1999; 36: 687-690.
27. Papadopoulos GK, Wijmenga C, Koning F. Interplay between genetics and the environment in the development of celiac disease: perspectives for a healthy life. *J Clin Invest* 2001; 108: 1261-1266.
28. Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. Transmission test for linkage disequilibrium: The insulin gene region and insulin- dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet* 1993; 52: 506-516.
29. Biagi F, Zimmer KP, Thomas PD, Ellis HJ, Ciclitira PJ. Is gliadin mispresented to the immune system in coeliac disease? A hypothesis. *QJM* 1999; 92: 119-122.
30. Holopainen P, Arvas M, Sistonen P, et al. CD28/CTLA-4 gene region on chromosome 2q33 confers genetic susceptibility to celiac disease. A linkage and family-based association study. *Tissue Antigens* 1999; 53: 470-475.
31. Roschmann E, Wienker TF, Volk BA. Role of T cell receptor delta gene in susceptibility to celiac disease. *J Mol Med* 1996; 74: 93-98.