ABSTRACT

Coeliac disease (CD) is a permanent intolerance to gluten that results in damage to the mucosa of the small intestine. This damage consists of mucosal inflammation and loss of absorptive surface area and is manifested by a broad spectrum of symptoms and nutritional deficiencies. The immune mediated damage to small bowel mucosa triggered by an immune response to the gliadin fraction of gluten, a component of wheat, barley and oats.

This study was performed to determine the Prevalence of Coeliac disease among Sudanese children with type 1 diabetes mellitus(T1D)using ELISA technique) , to evaluate how well the (tag SNP) results correlate with HLA genotypes(using PCR techniques), to determine the homozygosity and heterozygosity for a risk haplotypes, and todetrmine which HLA haplotypes are involved in an increase risk of CD among Sudanese .The tTG-IgA results showed an occurrence of 26out of 373 T1D patients (6.97%) compared to 2% among controls. CD was confirmed by biopsy sample from the duodenum of 9 out of 17(53%) of T1D patients ,and one out of the controls who showed villous atrophy. The HLA-DQB1 typing showed Ratio of DQ2+ to the DQ2- was 6:1 folds in CD+ve group while it was , 7:1 folds in T1D+ve CD group .

The six SNPs showed specificity (94-99%) in detecting of all haplotypes DQ2 (D2.5&DQ2.2),DQ7,and DQ8.And high sensitivity (75-83%) for haplotypes DQ2 (D2.5&DQ2.2),DQ8,However the sensitivity (37%) was much lower for DQ7.

□□□□□ □□□□□□ □□□□ □□□□□□□□ □□□□□□□□□□ □□□□□□□ □□□ □□□□□ □□□□□□ □□□□□□□□□□ □□□

□□□□□□□ □□□□□□□□ □□□□□□□ □□□□□

ينتج مرض حساسية القمح عن عدم تحمل الأمعاء لمادة الجلوتين مما ينتج عنه أضرار جسيمة للغشاء المبطن للأمعاء الدقيقة وهذه الأضرار تكون على شكل التهاب للغشاء المخاطي المبطن للأمعاء الدقيقة ونقص كبير في مساحة وحدات الامتصاص (الخملات)، ويتم تشخيص هذا المرض عن طريق الأعراض الكثيرة والمختلفة التي تصيب المرضى نتيجة لسوء امتصاص الغذاء المهضوم، رد الفعل المناعي ضد الغشاء المبطن للأمعاء الدقيقة يحدث نتيجة وهي جزء من مادة الجلوتين الموجودة في القمح والشعير والشوفان.مرض حساسيه القمح مرتبط مع فئة معينة من الأليلات معقد التوافق النسيجي الكبير التي تمثل خريطه لموقع (HLA)هلا- مستضد الكريات البيض البشريةلأليلات , DQ2لأليلات DQ8، المرتبطه بزيادة القابليه للاصابه بمرض حساسيه القمح. و قد أجريت هذه الدراسة لتحديد مدى انتشار مرض حساسيه القمح بين الأطفال السودانيين المصابين بداء السكري من النوع الأول(باستخدام تقنيه المقايسه المناعيه-ELISA technique) ولتقييم مدى نجاح تتطابق نتائج النوكليوتيدات المفرده متعدد الاشكال (SNP) مع النتائج المورثات (HLA)هلا- مستضد الكريات البيض البشرية (باستخدام تغنيه تفاعل البلمره المتسلسل-PCR technique)، الأطفال الذين يعانون من داء السكري من النوع الأول. لتحديد وجود زيجوتات متماثلة وزيجوتات متغايره ذات خطوره من أليلات النمط الفرداني ، ولتحديد أليلات (HLA) هلا- مستضد الكريات البيض التي تذيد من خطر الاصابه بحساسيه القمح. نتائج هذه الدراسة باستخدام(ELISA tTG) فحص أضداد الأنسجة اظهرت حدوث ايجابيه 26 مريض بنسبه6.97 % بين المرضى المصابين بداء السكري من النوع الأول (T1D)، ولكن عندما تم التأكد باخذ عينه من الاثني عشر من سبعة عشر مريضا فقط تسعة منهم وأظهرت نتائجهم ضمور في الخملات53 %. وأظهرت واحد من اثنين من عناصر التحكم(CO) ضمور الخملات بنسبه 2%.اما نتائج التحليل الاحصائي اظهرت عدم وجود فروقات معنويه بالنسبه للمرضي T1D عند مقارنه البيانات المتحصل عليها. اظهرت نتائج هلا - DQB1لمجموعه مرضي حساسيه القمح ومجموعه المرضى زوي المصلي الايجابي المصابين بداء السكري من النوع الأول نسبه DQ2+ الي DQ2- هي نسبه 6:1 و نسبه7:1 في المجموعتين علي التوالي. هلا- مستضد الكريات البيض البشرية التقليدية اظهرت ارتفاع نسبه تخصصيه مابين99 %- 94% عند الأليلات من نوع, DQ2 (D2.5&DQ2.2),DQ8,DQ7وايضا اظهرت النتائج نسب

حساسيه مابين الي 83٪75- ٪ عند الأليلات من نوع DQ2(D2.5&DQ2.2),DQ8 بلرغم من ان الأليلات من نوع DQ7 اظهرت نسبه حساسيه قليله حوالي 37% .

Dedication

To the person who taught me patience, strive, and pushed me towards success in life and gave me all care and happiness.

TO My Mother

Acknowledgments

Al Hamdu to **ALLAH** in the beginning and end.

I would like to thank **Prof. Abdel Rahim Mohmed Hussien**, for suggesting the point of research, valuable and expert supervision and continuous advice. Also I would like to express my appreciation to **Prof. Omyma Mohy Eldeen Sabir** for her co-supervision and encouragement during the experimental work. **.** I wish to express my deepest gratitude to my Finnish supervisor **Prof. Paivi Savaalinen** for giving me a chance to visit her lab so as to do the practical part of the study, for her great financial and technical support during the study period in Finland, and for her kindness.

I would like to thank **Dr.Miska Elyamen** for her co-supervision and efforts during the study

Also I will not forget to thank The **Head Unit of GIT endoscopy**, **at Al –Amal , Military ,and Soba hospitals**. Finally, Iwould like to thank the head of Pediatrics Departments at , Pediatrics Hospitals Clinics of Wad Madani , Omdurman ,Elbuluk ,and Gaffer Ibn Ouf for their help and support.

Special thanks to **t**he Head of the Biology Department, Central laboratory **Dr.Hanan Moawya ,** and the Immunology Unit members.

Table of Content

Items	Page
Abstract	I
Arabic Abstract	II
Dedication	III
Acknowledgments	IV
Table of contents	V- IX
List of Tables	X
List of figures	XI
Abbreviations	XII

Gezira state

VIII

Khartoum State

VIII

Appendices

Appendix 1

Appendix 11

List of Tables

Table3-1: Study groups 25

Table 4-8Validation of SNPs Prediction results 46

List of Figures

Figure 4-1:Agarose gel Showing SSP- PCR amplification for HLADQB1* genotyping of CD. 41

Abbreviations

Abs	Antibodies
AGAs	Antigliadin antibodies
APCs	Antigen presenting cells
ARA	IgA anti-reticulin antibodies
ASMA	Anti smooth muscle antibodies
CD	Celiac disease
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
EMAs	Antiendomysial antibodies
FN	False Negative
FP	False positive
GZ	Gezira state
HLA	Human leukocyte antigen
IELs	Intra epithelial lymphocytes
KH	Khartoum State
MHC	Major histocompatibility antigens
NPV	Negative predictive Value
PPV	Positive predictive value
SES	Sensitivity
SNM	single-nucleotide markers
SPC	Specificity
TID	TypeI Diabetes
TN	True negative
TP	True positive
TTG	Tissue transglutaminase enzyme

CTL4	CytotoxicT-Lymphocyte Antigen 4
CD28	Cluster of Differentiation 28
ICOS	Inducible co-stimulator
CCRT3	C-C chemokine receptor type 3
IL18RAP	Interleukin 18 receptor accessory protein
TAGAP	T-cell activation RhoGTPase Protein activating
IL12A	Interleukin 12A
IL-2	Interleukin 2