



1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE



Novinky v terapii a monitorování celiakie Gliadin 33-mer Kocna P.



Gluten Free Prague Expo 2024 & 19. Fórum celiaků - 18. 5. 2024



Gliadin 33-mer

1

Význam v etiopatogenezi celiakie

2

Význam v perspektivní terapii celiakie

3

Význam v monitorování celiakie



Gliadin 33-mer

1

Význam v etiopatogenezi celiakie

Význam v perspektivní terapii celiakie

Význam v monitorování celiakie

HISTOLOGIE STŘEVNÍ SLIZNICE

slizniční klky

enterocyty

slizniční klky
chybí

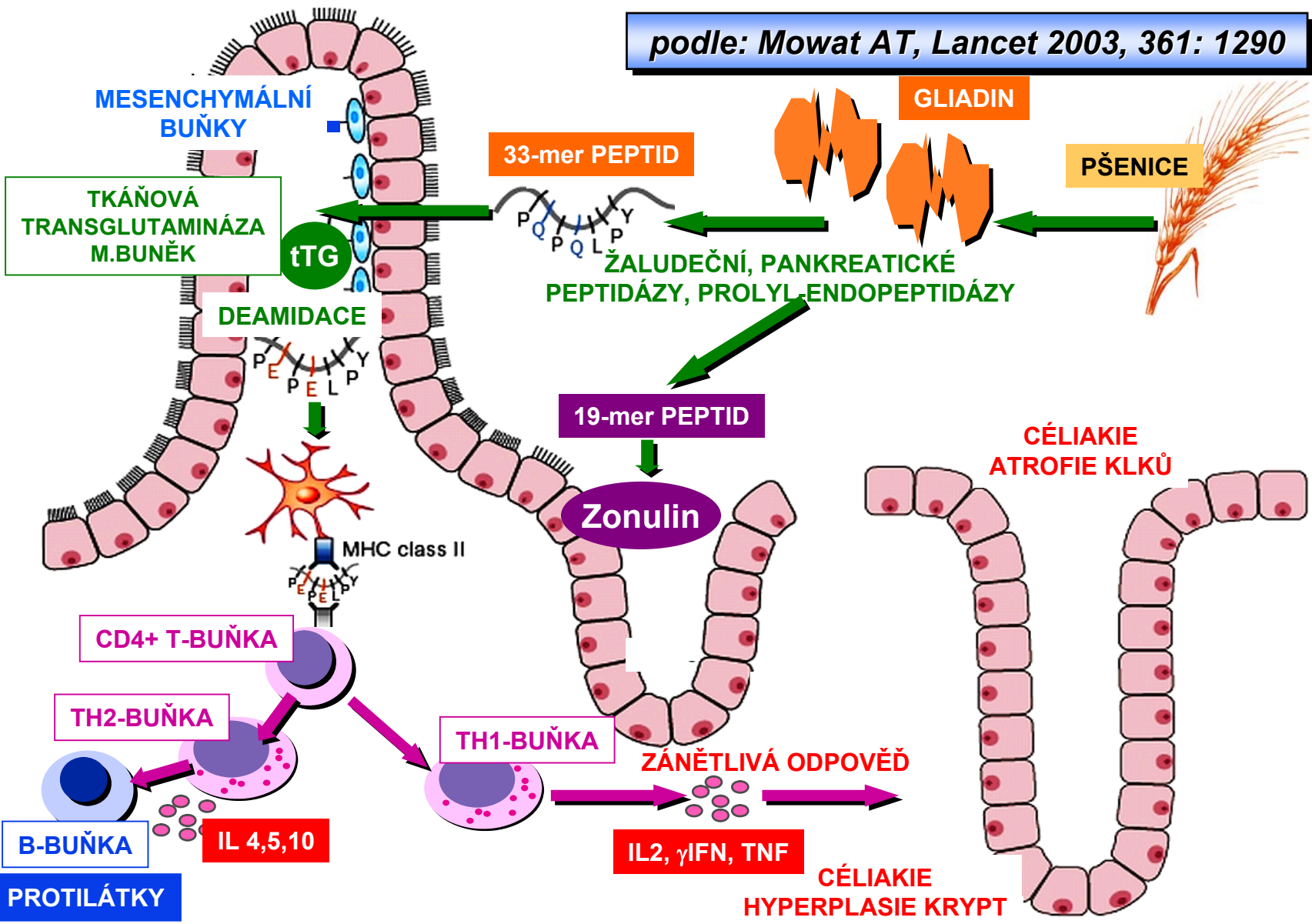
enterocyty
chybí

hyperplazie krypt

NORMÁLNÍ
SLIZNICE

PLOCHÁ, ATROFICKÁ
SLIZNICE

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290





ETIOPATOGENEZE CELIAKIE

Lepek v potravě je zdrojem gliadinů

Přirozené trávení proteinů – lepku v zažívacím traktu

Vzniká rezistentní gliadinový peptid s 33 aminokyselinami

Vzniká další gliadinový peptid s 19 aminokyselinami

Gliadinový 19-mer stimuluje zonulin, zvyšuje se propustnost

Gliadinový peptid 33-mer proniká do střevní sliznice

Gliadin 33-mer je deamidován tkáňovou transglutaminázou

Deamidovaný gliadin 33-mer se váže na HLA-DQ receptor

Aktivované T-buňky produkují cytotoxické mediátory

Cytotoxické mediátory vedou k zánětu sliznice a její atrofii

Aktivované B-buňky produkují protilátky



ETIOPATOGENEZE CELIAKIE

Lepek v potravě je zdrojem gliadinů

Přirozené trávení proteinů – lepku v zažívacím traktu

Vzniká rezistentní gliadinový peptid s 33 aminokyselinami

Vzniká další gliadinový peptid s 19 aminokyselinami

Gliadinový 19-mer stimuluje zonulin, zvyšuje se propustnost

Gliadinový peptid 33-mer proniká do střevní sliznice

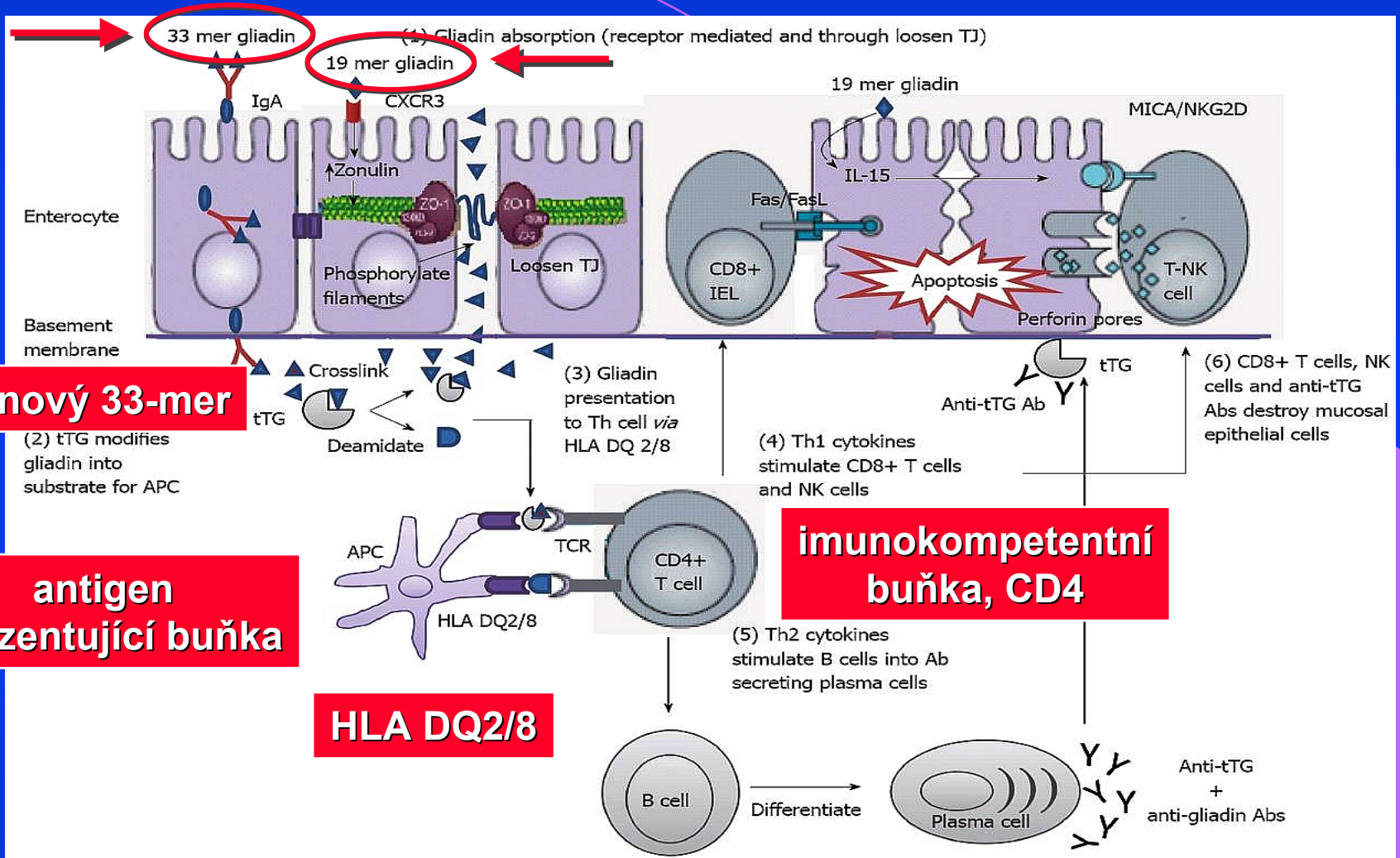
Gliadin 33-mer je deamidován tkáňovou transglutaminázou

Deamidovaný gliadin 33-mer se váže na HLA-DQ receptor

Aktivované T-buňky produkují cytotoxické mediátory

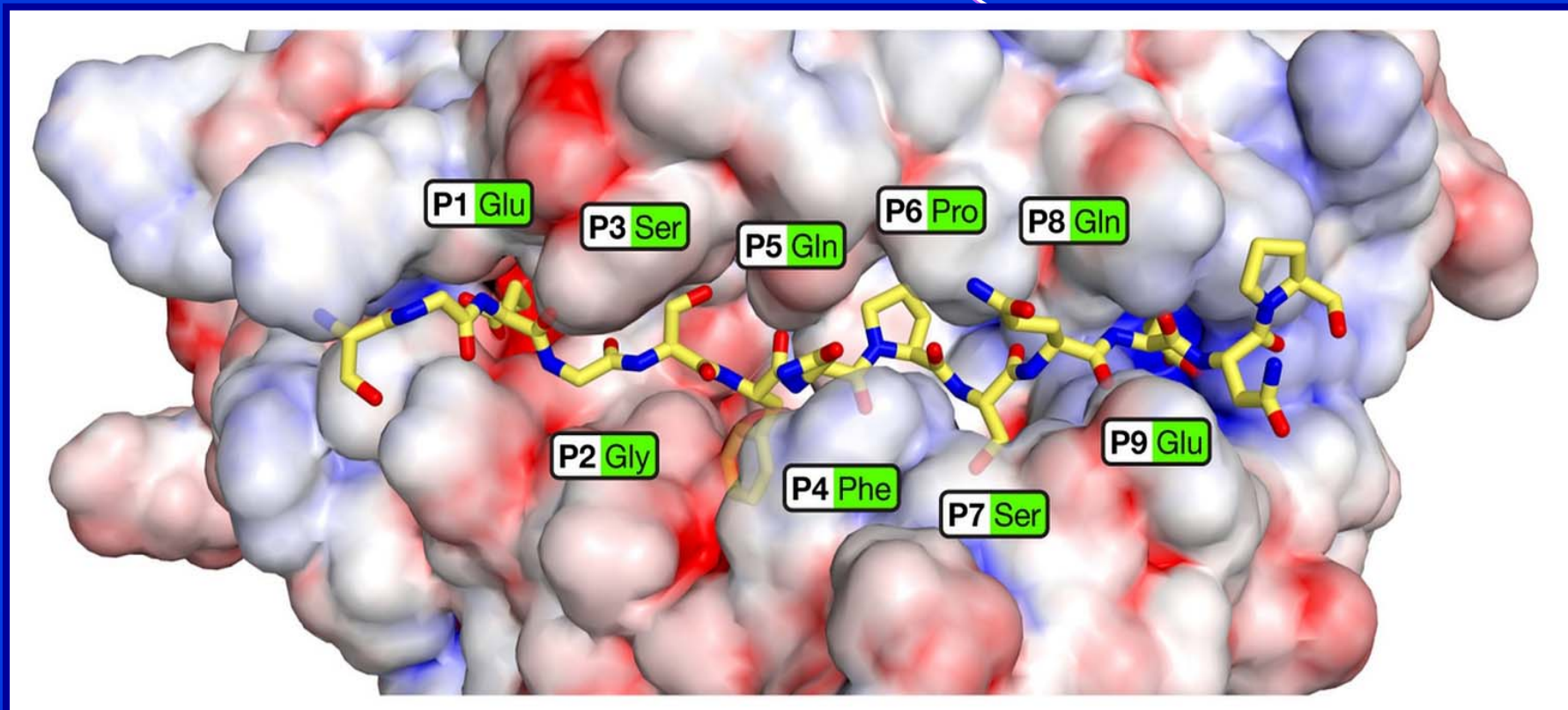
Cytotoxické mediátory vedou k zánětu sliznice a její atrofii

Aktivované B-buňky produkují protilátky



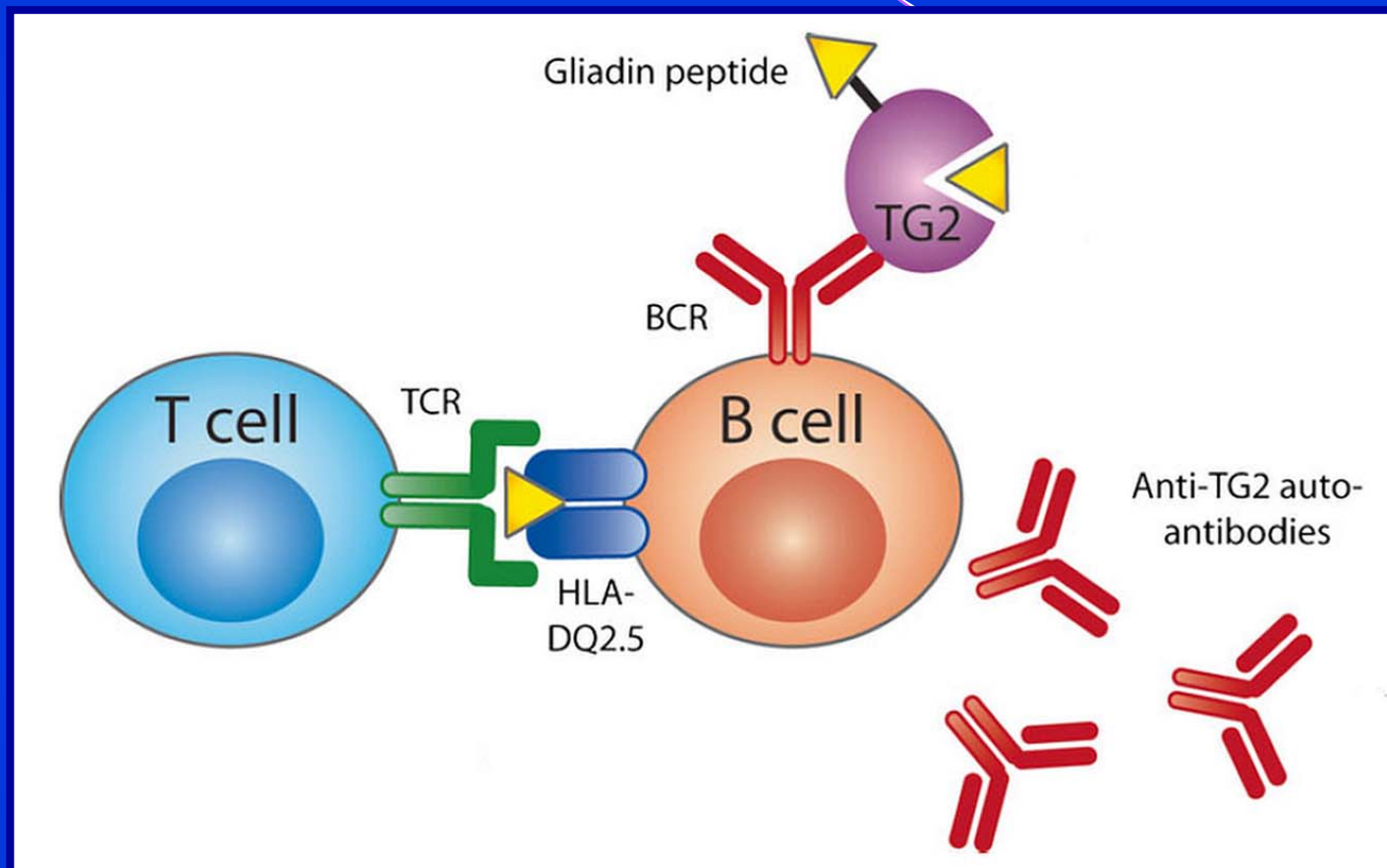
Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. World J Gastroenterol. 2012 Nov 14;18(42):6036-6059

VAZBA GLIADINOVÉHO PEPTIDU NA HLA-DQ8



Celiac Disease. in The Autoimmune Diseases ed. Rose NR, Mackay IR, Sollid LM., Lundin KAE. Academic Press, 2014: 1247-1267

VAZBA GLIADINOVÉHO PEPTIDU NA T-BUŇKY a B-BUŇKY



The adaptive immune response in celiac disease. Qiao SW, Iversen R, Ráki M, Sollid LM. Semin Immunopathol. 2012 Jul;34(4):523-540



Gliadin 33-mer

Význam v etiopatogenezi celiakie

2

Význam v perspektivní terapii celiakie

Význam v monitorování celiakie



OBJEVOVÁNÍ
LÉKU

VĚDCI ZKOUMAJÍ
5–10 000 SLOUČENIN

PREKLINICKÁ FÁZE

250 SLOUČENIN

KLINICKÁ STUDIE

I. fáze

Stanovení správné dávky léku

5 SLOUČENIN

5–100 dobrovolníků

II. fáze

Hodnocení účinnosti
na malé skupině lidí

100–500 dobrovolníků

III. fáze

Plošný výzkum na pacientech

1 000–5 000
dobrovolníků

SCHVALOVÁNÍ LÉKU

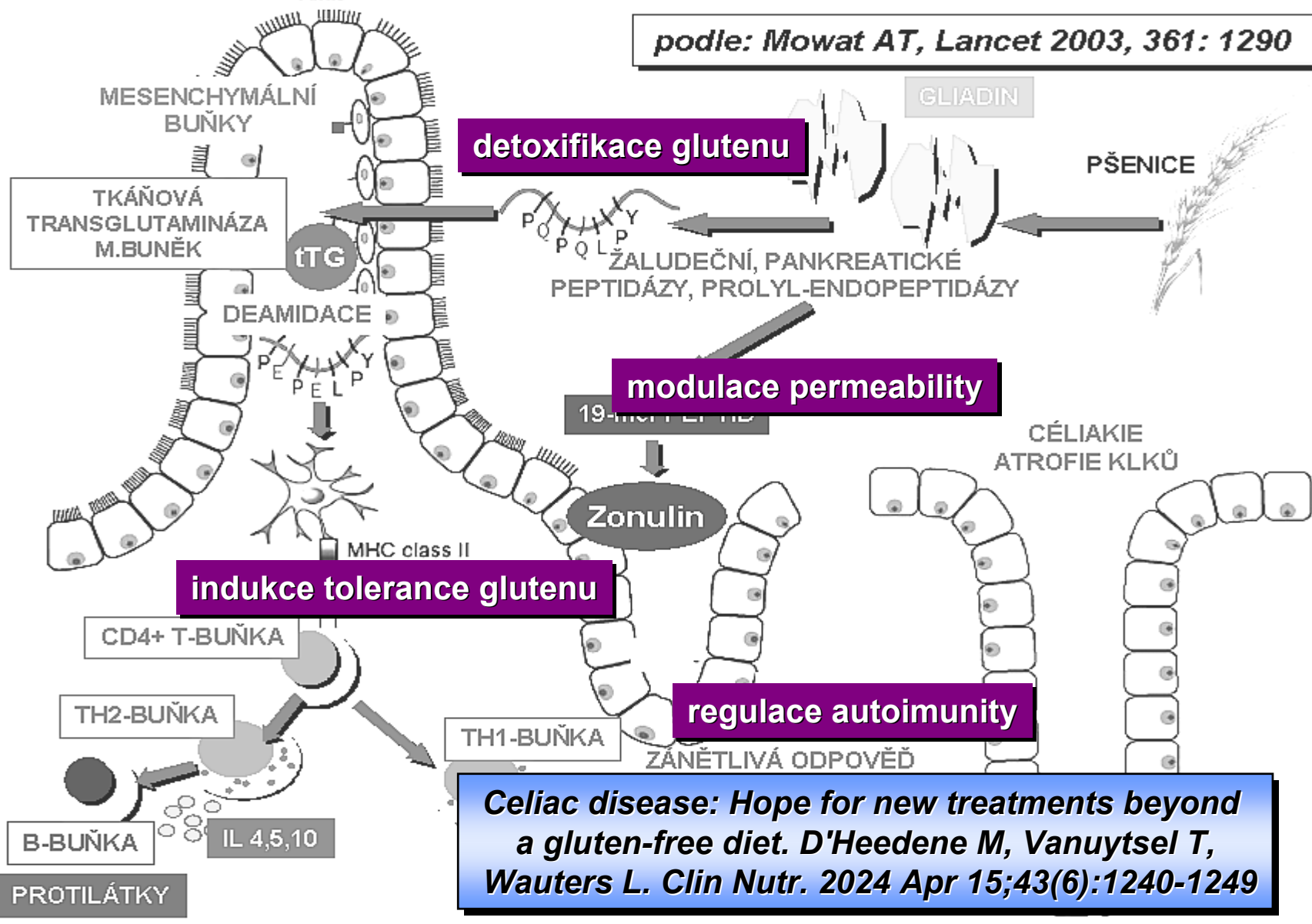
1 LÉK

IV. fáze

Monitoring po uvedení na trh

10–15 let, 8–44 miliard korun

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



Celiac disease: Hope for new treatments beyond a gluten-free diet. D'Heedene M, Vanuytsel T, Wauters L. Clin Nutr. 2024 Apr 15;43(6):1240-1249



PERSPEKTIVNÍ TERAPIE CELIAKIE

Typ léčiva	Testované látky	Počet studií	Klinické stadium
Detoxifikace glutenu	AN-PEP, TAK-062, ALV003, AGY	11	1,2
Modulace permeability	Larazotide acetate	4	2
Indukce tolerance glutenu	NexVax2, TAK-101, KAN-101	9	1,2
Regulace autoimunity	ZED-1227, AMG-714	3	2

Celiac disease: Hope for new treatments beyond a gluten-free diet. D'Heedene M, Vanuytsel T, Wauters L. Clin Nutr. 2024 Apr 15;43(6):1240-1249



L G Q Q Q P F P P Q Q P Y P Q P Q P F

FM-POP (Flavobacterium meningosepticum)
Prolyl oligopeptidase

AN-PEP (Aspergillus niger)
Prolyl endopeptidase

Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, Moester M, de Ru A, Baak-Pablo R, van Veelen P, Edens L, Koning F. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2006 Oct; 291(4): G621 - 629

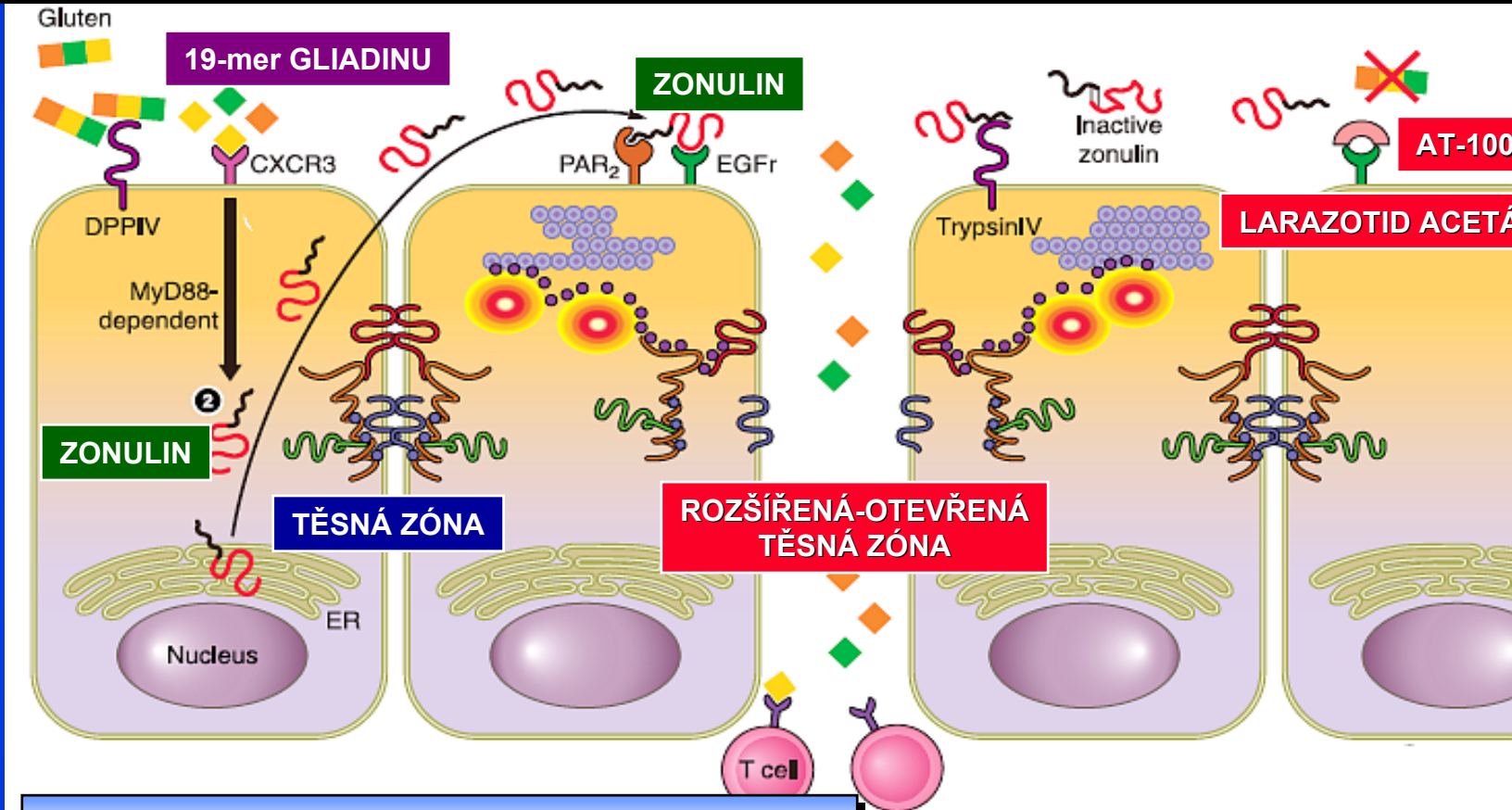
L Q L Q P F P Q P Q L P Y P Q P Q L P Y P Q P Q L P Y P Q P Q P F

EP-B2 (Barley)
Cysteine endoprotease B-isoform 2

SC-PEP (Sphingomonas capsulata)
Prolyl endopeptidase

Combination enzyme therapy for gastric digestion of dietary gluten in patients with celiac sprue. Gass J, Bethune MT, Siegel M, Spencer A, Khosla C. Gastroenterology. 2007 Aug;133(2): 472 - 480

CELIAKIE - TERAPIE INHIBITOREM ZONULINU

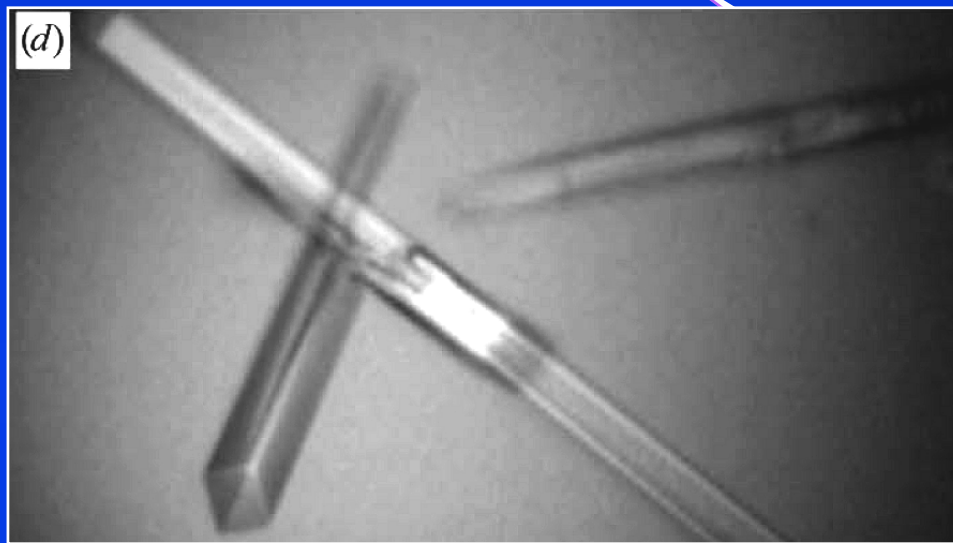


podle: Fasano A. *Physiol Rev* 2011, 91:151

Larazotide acetate regulates epithelial tight junctions in vitro and in vivo

Gopalakrishnana S, Duraia M, Kitchensa K, Tamiza AP, Somervillea R, Ginskia M, Patersona BM, Murray JA, Verduc EF, Alkana SS, Pandeya NB. *Peptides* 2012: 35, 86

PERSPEKTIVNÍ TERAPIE CELIAKIE



KRYSTAL HLA-DQ8 S DEAMIDOVANÝM PEPTIDEM α_1 Gli - EGSFQPSQE

The production and crystallization of the human leukocyte antigen class II molecules HLA-DQ2 and HLA-DQ8 complexed with deamidated gliadin peptides implicated in coeliac disease
Kate N. Henderson et al. - *Acta Crystallographica*, (2007) F63, 1021–1025



PERSPEKTIVNÍ TERAPIE CELIAKIE

1. Detoxifikace glutenu, prolidázy, endopeptidázy
Eliminace gliadinového 33-mer peptidu

2. Modulace permeability
Larazotid acetát blokuje receptor zonulinu

3. Indukce tolerance glutenu
NexVax2-vakcína, gliadinové nanopartikule

4. Regulace autoimunity
Inhibitor tkáňové transglutaminázy (TG2)



PERSPEKTIVNÍ TERAPIE CELIAKIE

1. Detoxifikace glutenu, prolidázy, endopeptidázy

Eliminace gliadinového 33-mer peptidu

2. Modulace permeability

Larazotid acetát blokuje receptor zonulinu

3. Indukce tolerance glutenu

NexVax2-vakcína, gliadinové nanopartikule

4. Regulace autoimunity

Inhibitor tkáňové transglutaminázy (TG2)



Gliadin 33-mer

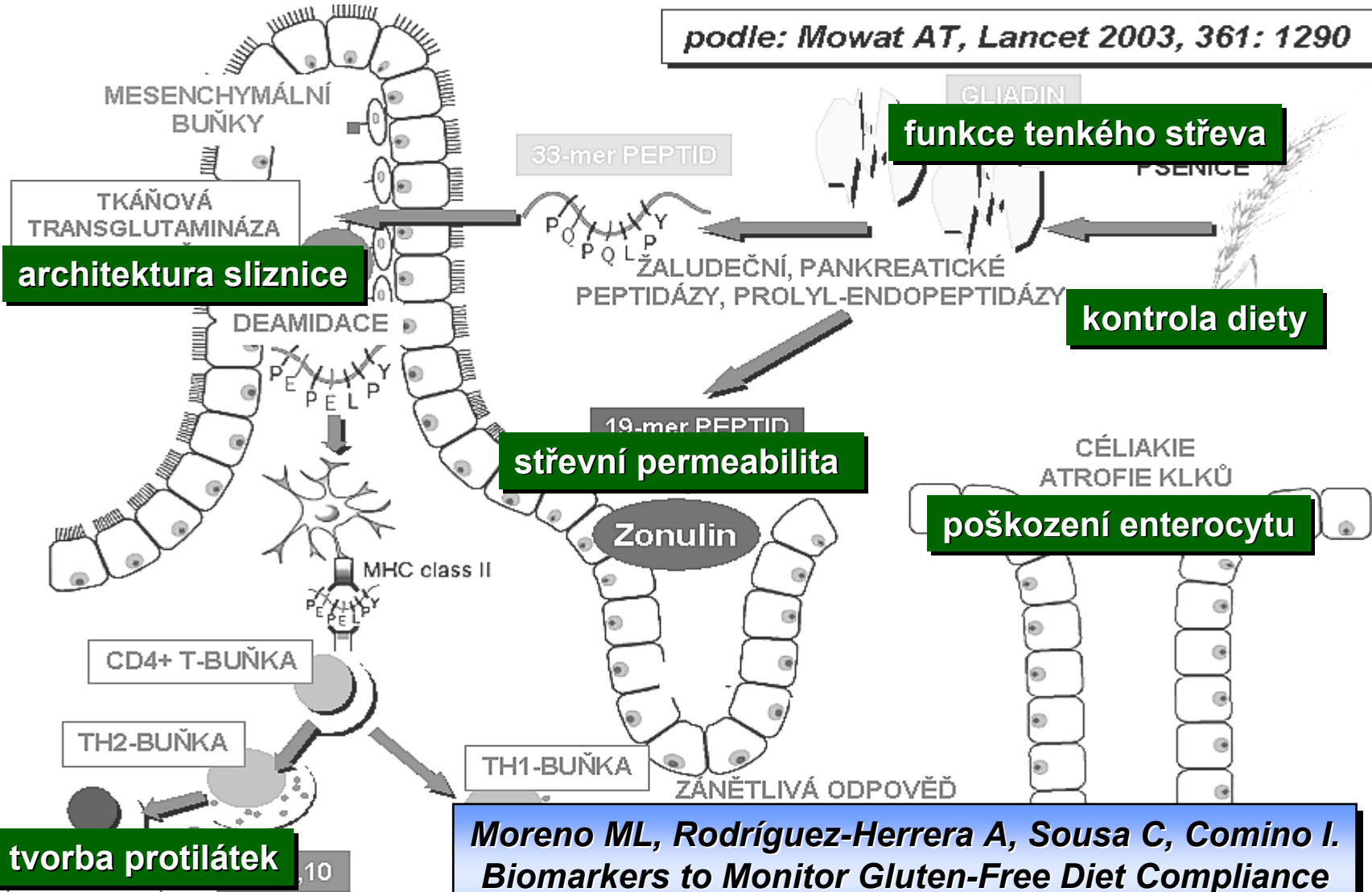
Význam v etiopatogenezi celiakie

Význam v perspektivní terapii celiakie

3

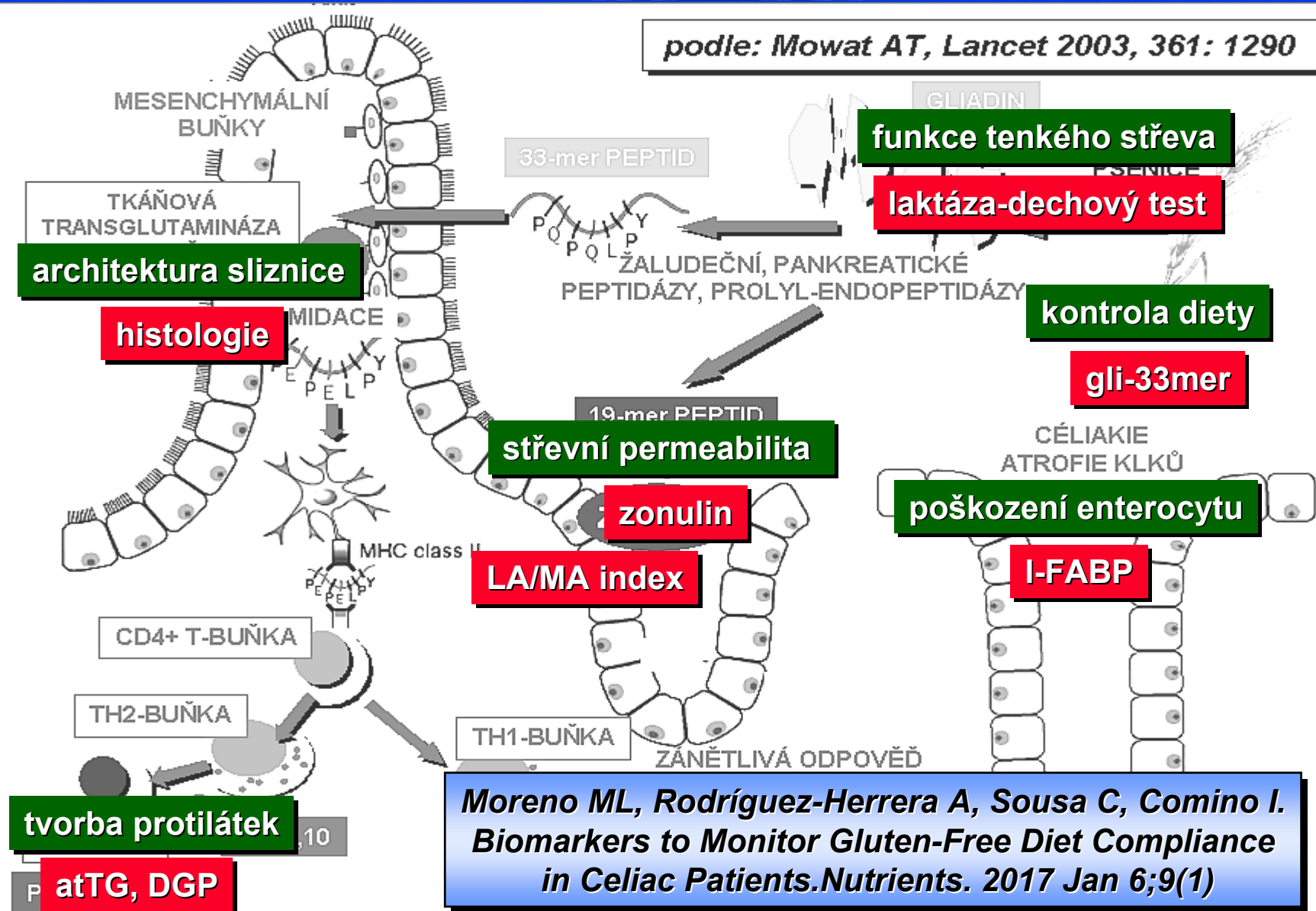
Význam v monitorování celiakie

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



Moreno ML, Rodríguez-Herrera A, Sousa C, Comino I. Biomarkers to Monitor Gluten-Free Diet Compliance in Celiac Patients. *Nutrients*. 2017 Jan 6;9(1)

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290





MONITOROVÁNÍ CELIAKIE

Histologie střevní sliznice, biopsie

Funkční diagnostika tenkého střeva, dechové testy

Stanovení protilátek k transglutamináze

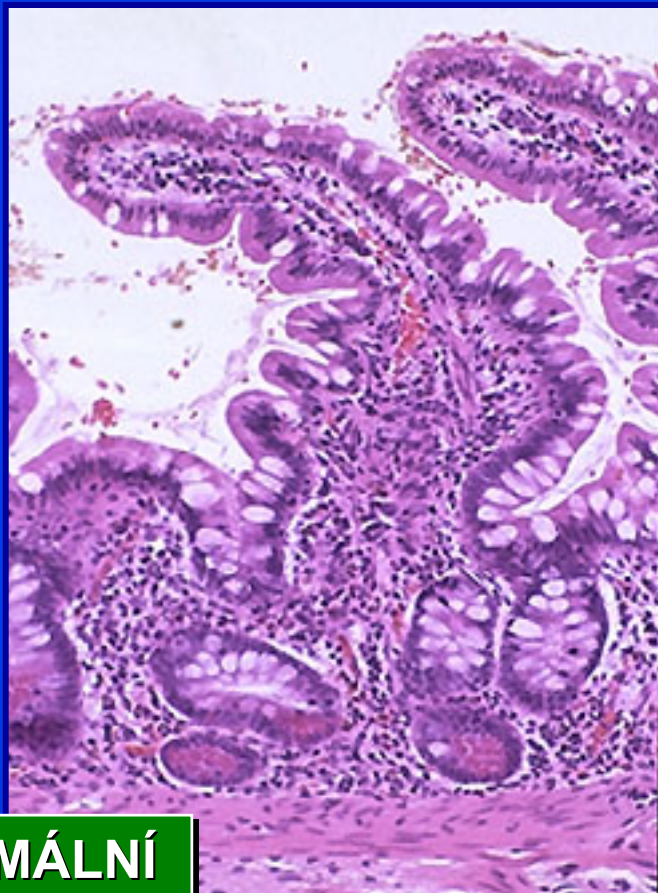
Analýza střevní permeability, La/Ma index, zonulin

Detekce poškození enterocytu, I-FABP, citrulin

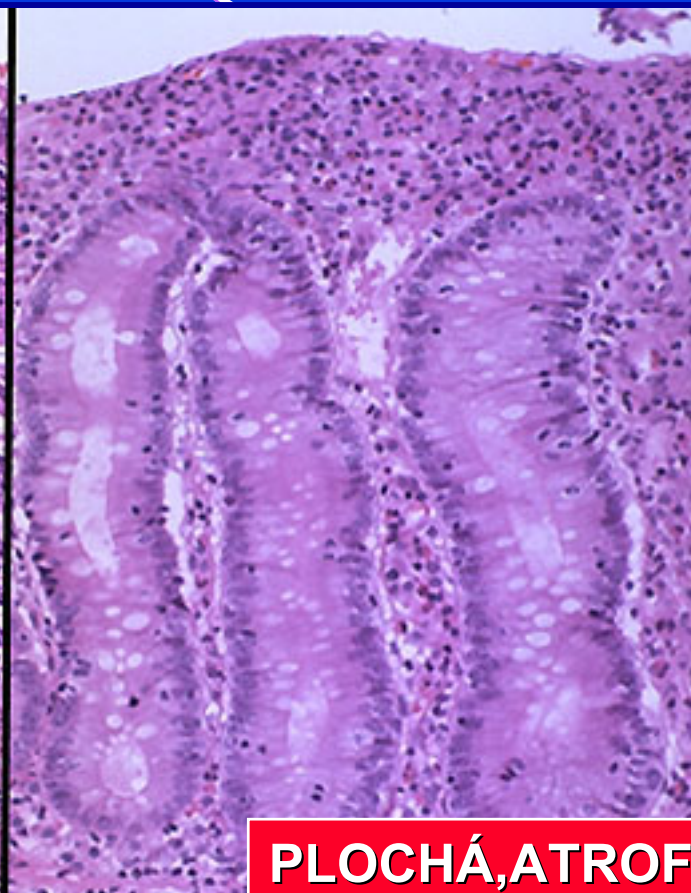
Analýza dodržování bezlepkové diety

Stanovení gliadin 33-mer peptidu ve stolici/moči

HISTOLOGIE STŘEVNÍ SLIZNICE



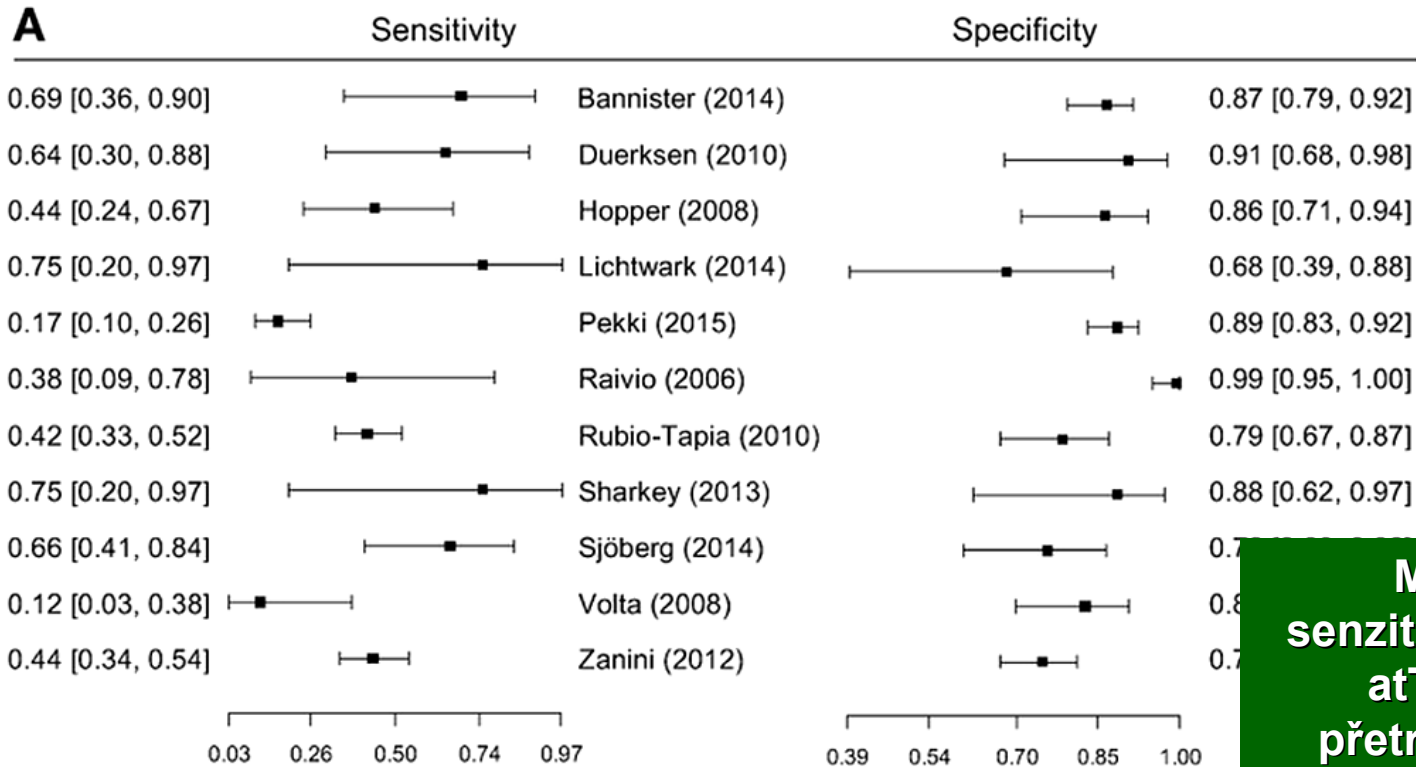
**NORMÁLNÍ
SLIZNICE**



**PLOCHÁ, ATROFICKÁ
SLIZNICE**



PROTILÁTKY atTG - VARIABILITA TESTŮ / VÝROBCŮ

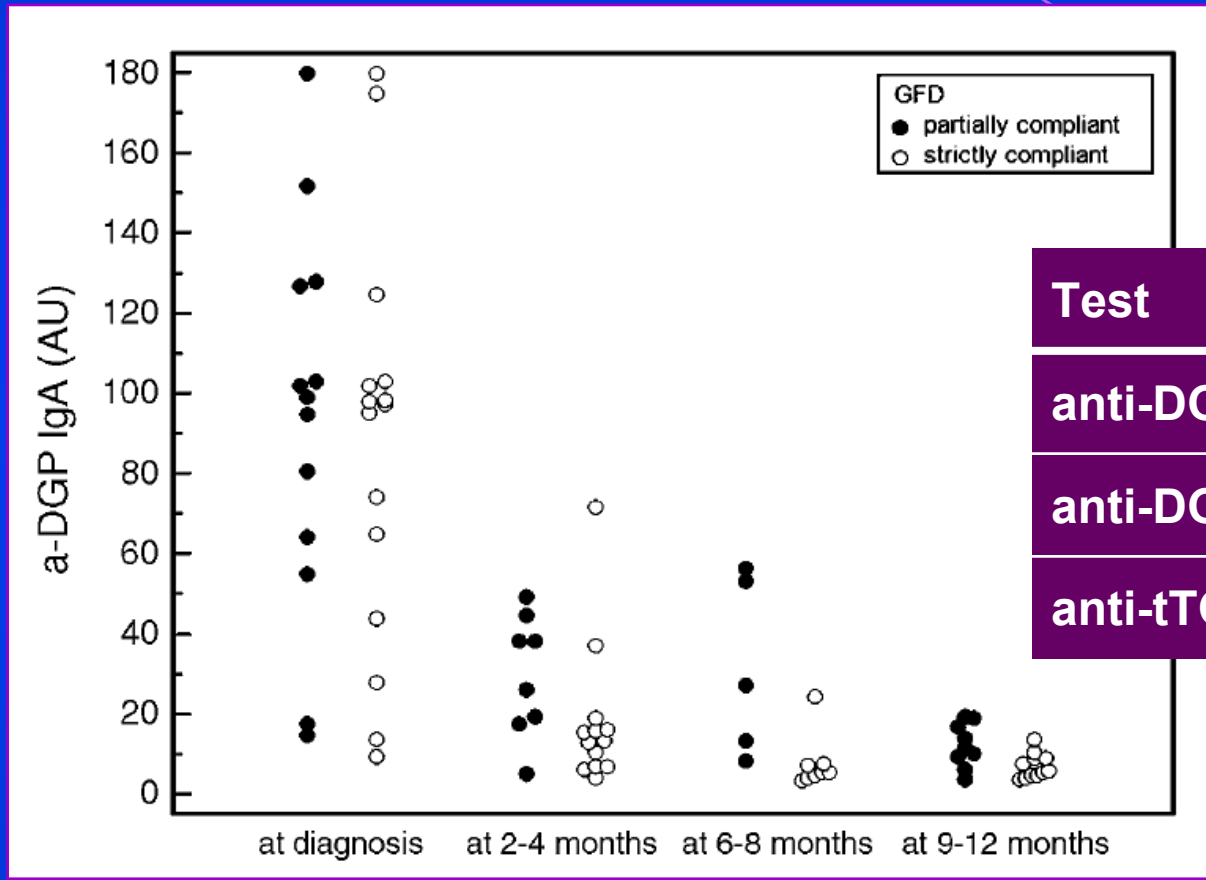


**Meta analýza
senzitivita - specificita
atTG protilátky
přetrvávající atrofie
celiakie na GFD**

Tests for Serum Transglutaminase and Endomysial Antibodies Do Not Detect Most Patients With Celiac Disease and Persistent Villous Atrophy on Gluten-free Diets
Silvester JA, Kurada S, Szwajcer A. et al.: *Gastroenterology*. 2017; 153(3): 689 - 701



MONITORING DIETY - anti-DGP IgA PROTILÁTKY



Test	Senzitivita %
anti-DGP IgA	60 (40.7-76.6)
anti-DGP IgA+G	76 (57.6-88.5)
anti-tTG IgA	24 (11.5-43.4)

Use of deamidated gliadin peptide antibodies to monitor diet compliance in childhood celiac disease. Monzani A, Rapa A, Fonio P. et al. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2011 Jul;53(1):55-60

FUNKČNÍ TESTY TENKÉHO STŘEVA



Hydrogen analyzátor
Lactotest 202

LAKTÓZOVÝ DECHOVÝ TEST
ZATÍŽENÍ 20g LAKTÓZY
MĚŘENÍ VODÍKU / METANU 5 HODIN
CUT-OFF KRITERIUM 20 ppm
METANOGENNÍ BAKTERIE
PŘEMĚŇUJÍ VODÍK NA METAN
HODNOTIT LZE SOUČET H_2+2CH_4

Regression of lactose malabsorption in coeliac patients after receiving a gluten-free diet. Ojetti V, Gabrielli M, Migneco A. et al.: Scand J Gastroenterol. 2008;43(2):174-177



MONITOROVÁNÍ CELIAKIE

Histologie střevní sliznice, biopsie

Funkční diagnostika tenkého střeva, dechové testy

Stanovení protilátek k transglutamináze

Analýza střevní permeability, La/Ma index, zonulin

Detekce poškození enterocytu, I-FABP, citrulin

Analýza dodržování bezlepkové diety

Stanovení gliadin 33-mer peptidu ve stolici/moči



GLIADIN 33mer VE STOLICI

67 publikací v PubMed a Web of Science, klíčová slova „gluten immunogenic peptides“ v kombinaci s „feces-urine-coeliac-gluten free diet-adherence“ publikovaných v angličtině a španělštině v období 2012 a lednem 2021.

Detekce vylučovaného GIP ve stolici nebo moči je přesným přístupem pro stanovení dobrovolné nebo nedobrovolné konzumace lepku. Izolovaná měření GIP nemusí identifikovat intermitentní dodržování diety a použití více vzorků přispívá k vyšší senzitivě a specificitě detekce GIP.

ELISA je vhodná pro laboratorní kvantifikaci GIP, zatímco proužky LFIA by měly být použity pro sebekontrolu pacientů.

Detekce GIP může u symptomatických pacientů pomoci určit, zda se jedná o nereagující celiakii nebo refrakterní celiakii.

Determination of gluten immunogenic peptides for the management of the treatment adherence of celiac disease: A systematic review.

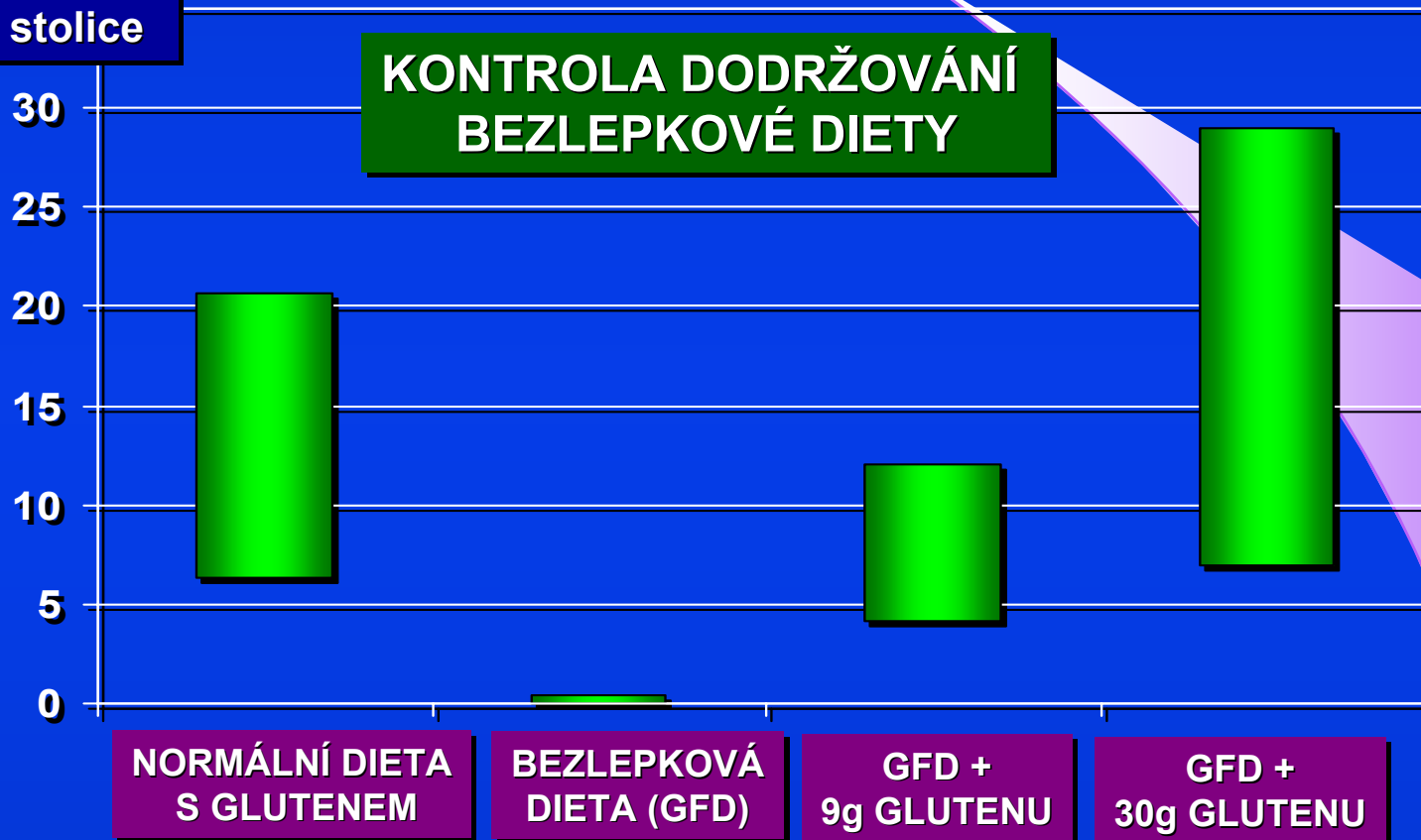
Coto L, Mendia I, Sousa C, Bai JC, Cebolla A.

World J Gastroenterol. 2021 Oct 7;27(37):6306-6321



GLIADIN 33mer VE STOLICI

gli-33mer
ng/mg stolice

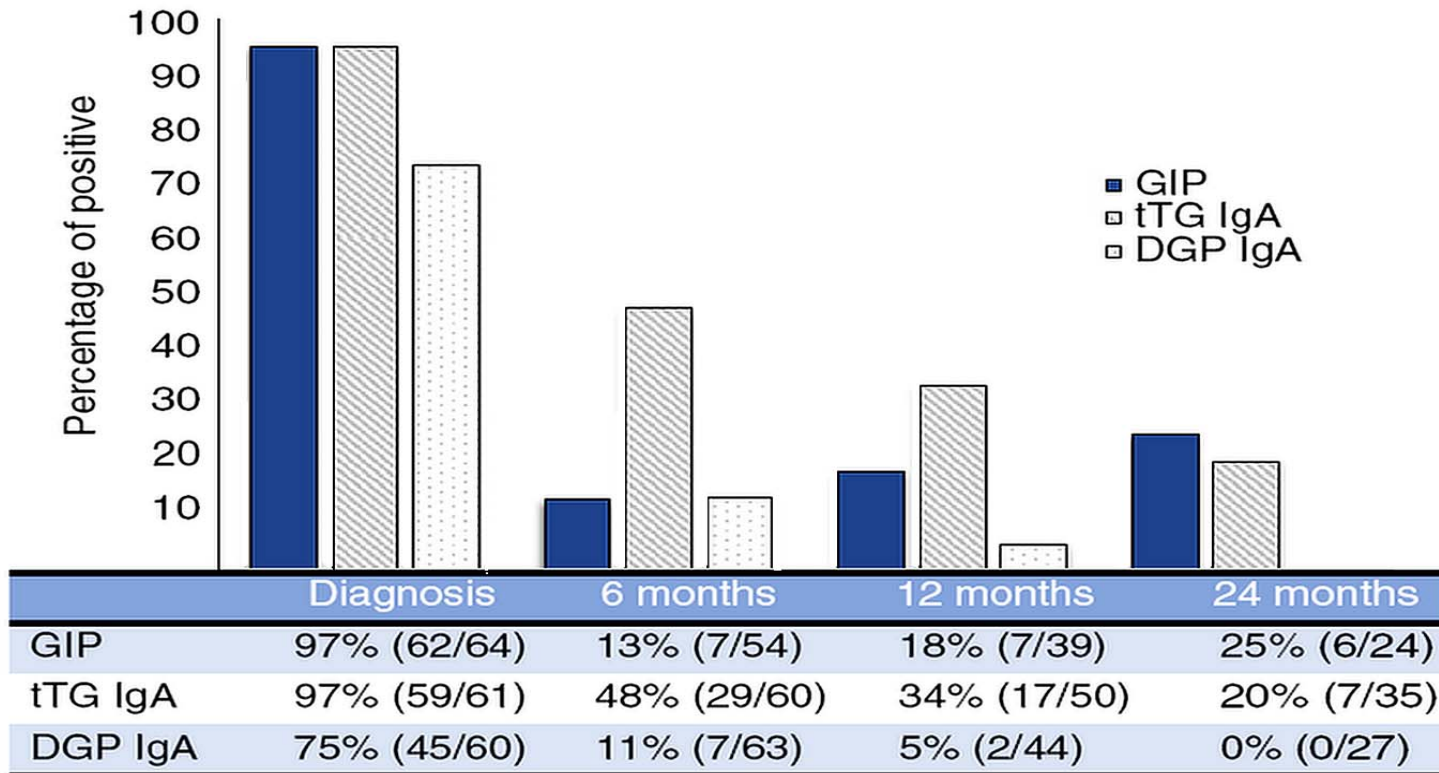


Monitoring of gluten-free diet compliance in celiac patients by assessment of gliadin 33-mer equivalent epitopes in feces.

Comino I, Real A, Vivas S, et al. Am J Clin Nutr. 2012; 95: 670-677



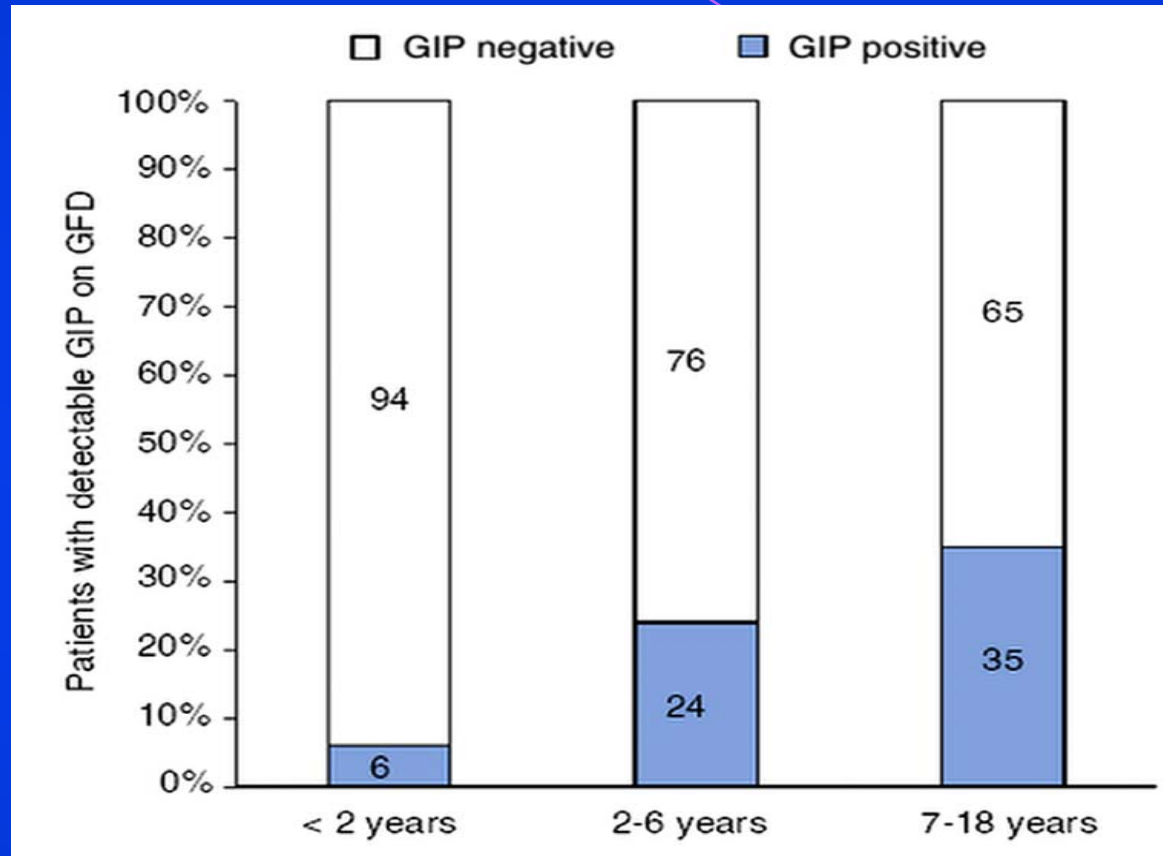
GLIADIN 33mer VE STOLICI



Prospective longitudinal study: use of faecal gluten immunogenic peptides to monitor children diagnosed with coeliac disease during transition to a gluten-free diet. Comino I, Segura V, Ortigosa L. et al. Aliment Pharmacol Ther. 2019 Jun;49(12):1484-1492

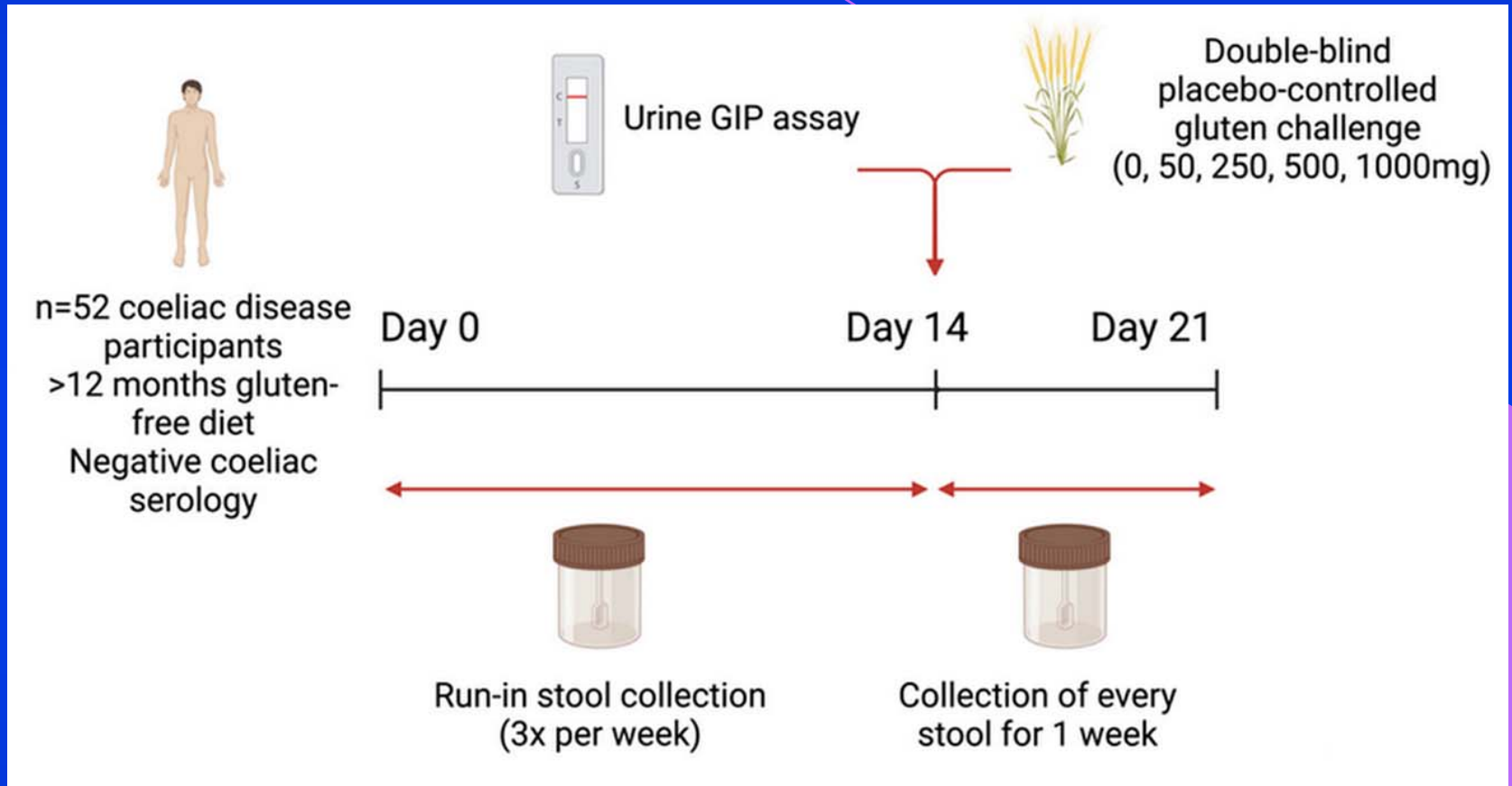


GLIADIN 33mer VE STOLICI



Prospective longitudinal study: use of faecal gluten immunogenic peptides to monitor children diagnosed with coeliac disease during transition to a gluten-free diet. Comino I, Segura V, Ortigosa L. et al. Aliment Pharmacol Ther. 2019 Jun;49(12):1484-1492

GLIADIN 33mer VE STOLICI a MOČI



Stool Gluten Peptide Detection Is Superior to Urinary Analysis, Coeliac Serology, Dietary Adherence Scores and Symptoms in the Detection of Intermittent Gluten Exposure in Coeliac Disease: A Randomised, Placebo-Controlled, Low-Dose Gluten Challenge Study. Russell AK, Lucas EC, Henneken LM.et al. Nutrients. 2024;16(2):279



GLIADIN 33mer VE STOLICI

75 VZORKŮ STOLICE, INDIKACE CELIAKIE
iVYLISA GIP ELISA (Biomedal, Spain)
Rozsah detekce - 0.16-5 µg GIP/g stolice

20x **AKTIVNÍ CELIAKIE**
2x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
4x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**
14x **STRAVA S LEPKEM**

12x **KONTROLY**
12x **NORMÁLNÍ
DIETA S LEPKEM**

27x **CELIAKIE V REMISI**
13x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
8x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**
6x **STRAVA S LEPKEM**

8x **JINÉ GIT Dg**
6x **STRAVA S LEPKEM**
2x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**

5x **NON-RESPONSIBLE CS**
3x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
2x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**

3x **NECELIAKÁLNÍ - NCGS**
2x **STRAVA S LEPKEM**
1x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**

20
15
10
5
0





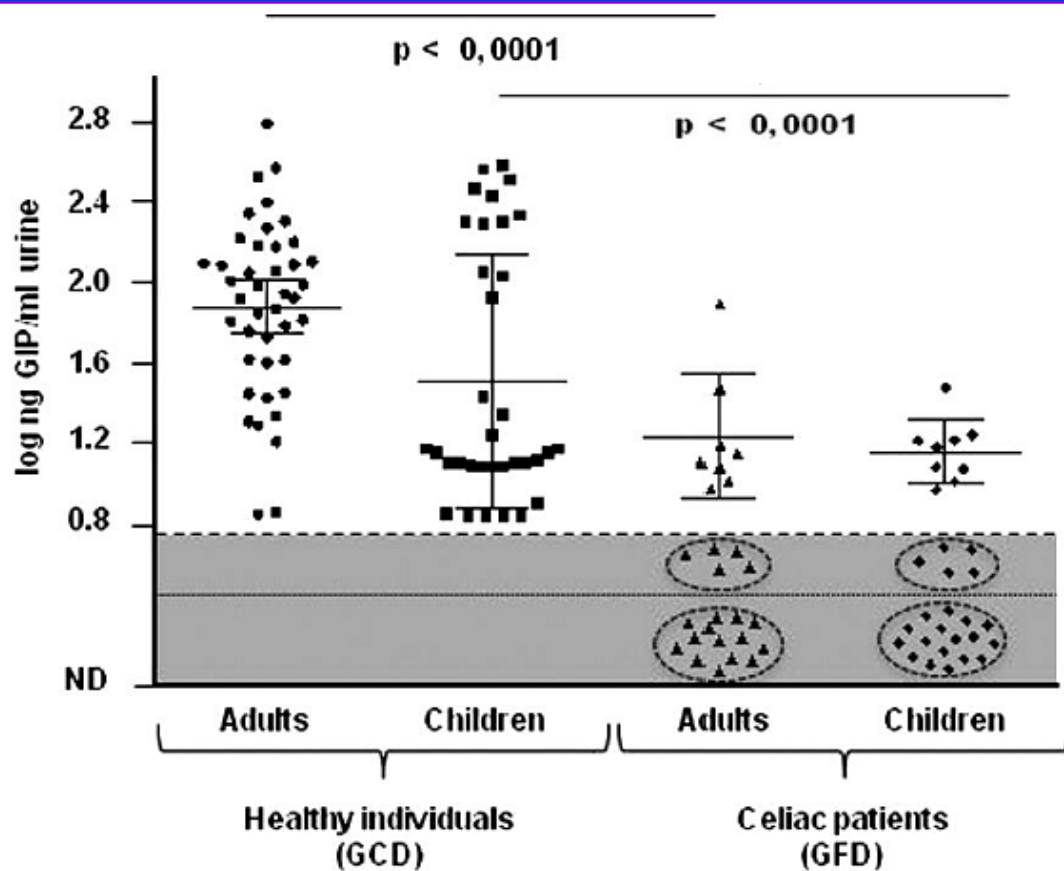
GLIADIN 33mer VE STOLICI

Prospektivní studie - 29 nově diagnostikovaných dětí s celiakií - 18 (62 %) dívek, věkové rozmezí 2-15 let. Pokles GIP ve stolici do normy (89,7 %) při kontrolním vyšetření za 4 měsíce byl významně větší než u anti-tTG IgA (34,5 %) ($p < 0,001$). Všechny děti a jejich zákonní zástupci deklarovali striktní dodržování bezlepkové diety.

Hodnocení GIP ve stolici může být citlivějším ukazatelem dodržování bezlepkové diety než anti-tTG IgA, zejména v úvodních měsících, kdy vzhledem k výrazně pomalejšímu poklesu do normy nemůžeme u anti-tTG IgA ani při striktním dodržování bezlepkové diety čekat negativní výsledek. Vyšetření GIP ve stolici je citlivějším markerem compliance s dietou než informace od samotných pacientů, toto vyšetření by tak bylo možno využít k vytipování subpopulace dětí a jejich rodin, které potřebují větší pomoc se správným dodržováním bezlepkové diety.

Stanovení lepku ve stolici jako metoda k ověření compliance s bezlepkovou dietou u dětí s nově diagnostikovanou celiakií. Vyhnánek R., Khaznadar Z., Vyhnánek R., Paulík M. Gastroent Hepatol 2021; 75(6): 519–523

DETEKCE GLIADIN 33meru V MOČI PŘI CELIAKII



Detekce Gli-33meru v moči imunochromatografickým testem,
Vyhodnocení - GlutenTox Reader - LFT analyzátor
Detekční limit:
25mg glutenu v potravě
Kvantifikovatelné množství GIP
signifikantně koreluje se závažností CS podle Marshovy škály.

Detection of gluten immunogenic peptides in the urine of patients with coeliac disease reveals transgressions in the gluten-free diet and incomplete mucosal healing. Moreno ML, Cebolla Á, Munoz-Suano A et al. Gut. 2017; 66(2): 250-257



GLIADIN 33mer V MOČI U DOSPĚLÝCH

280 pacientů, kteří uváděli úplnou adherenci k bezlepkové dietě, průměrný věk 42.9 roku, diagnóza stanovena v dospělosti - průměrný věk při diagnóze 31,7 roku, hodnoceny byly od dubna 2019 do února 2020, stanoven GIP v moči (uGIP), protilátky ke tkáňové transglutamináze (tTGA), duodenální histologie a kapslová endoskopie (CE).

Pozitivní hodnota uGIP+ byla u 32 nemocných (11,4 %)

Pozitivita uGIP nesouvisela v titrem tTGA - 4,4 % tTGA+ vs. 10,9 % tTGA-

Histologie - atrofie: 66,7 % uGIP+ vs. 32,7 % uGIP- pacientů (p = 0,01).

Přítomnost atrofie nekorelovala s tTGA.

Výsledky uGIP významně korelovaly s duodenální biopsií, která byla dříve považována za zlatý standard pro hodnocení aktivity CS.

Evaluation of a Single Determination of Gluten Immunogenic Peptides in Urine from Unaware Celiac Patients to Monitor Gluten-Free Diet Adherence. Lombardo V, Scricciolo A, Costantino A et al. Nutrients. 2023;15(5):1259



VÝZNAM GLIADIN-33mer PEPTIDU V CELIAKII

- ✓ **gliadin-33mer** je unikátním peptidovým fragmentem α 2-gliadinu
- ✓ **gliadin-33mer** peptid je zcela specifický pro prolaminy pšenice - glutenu
- ✓ **gliadin-33mer** peptid je zcela rezistentní na gastrointestinální peptidázy
- ✓ **gliadin-33mer** je považován za nejdůležitější imunogenní sekvenci v glutenu
- ✓ **gliadin 33-mer** je stimulátorem CD4-T buněk po deamidaci tkáňovou transglutaminázou
- ✓ enzymatické štěpení **gliadin-33-meru** je testováno v terapii celiakie
- ✓ detekce **gliadin 33-meru** ve stolici a moči se stává novým neinvazivním biomarkerem
- ✓ detekce **gliadin 33-mer** peptidu ve stolici a moči je objektivním hodnocením dodržování bezlepkové diety



DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST