



1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE



**Gliadin-33mer
patogeneze, perspektivní terapie a monitoring celiakie
Kocna P.**

Adventní seminář - Zámek Liblice - 28.listopadu 2024



Gliadin 33-mer

1

Význam v etiopatogenezi celiakie

2

Význam v perspektivní terapii celiakie

3

Význam v monitorování celiakie



Gliadin 33-mer

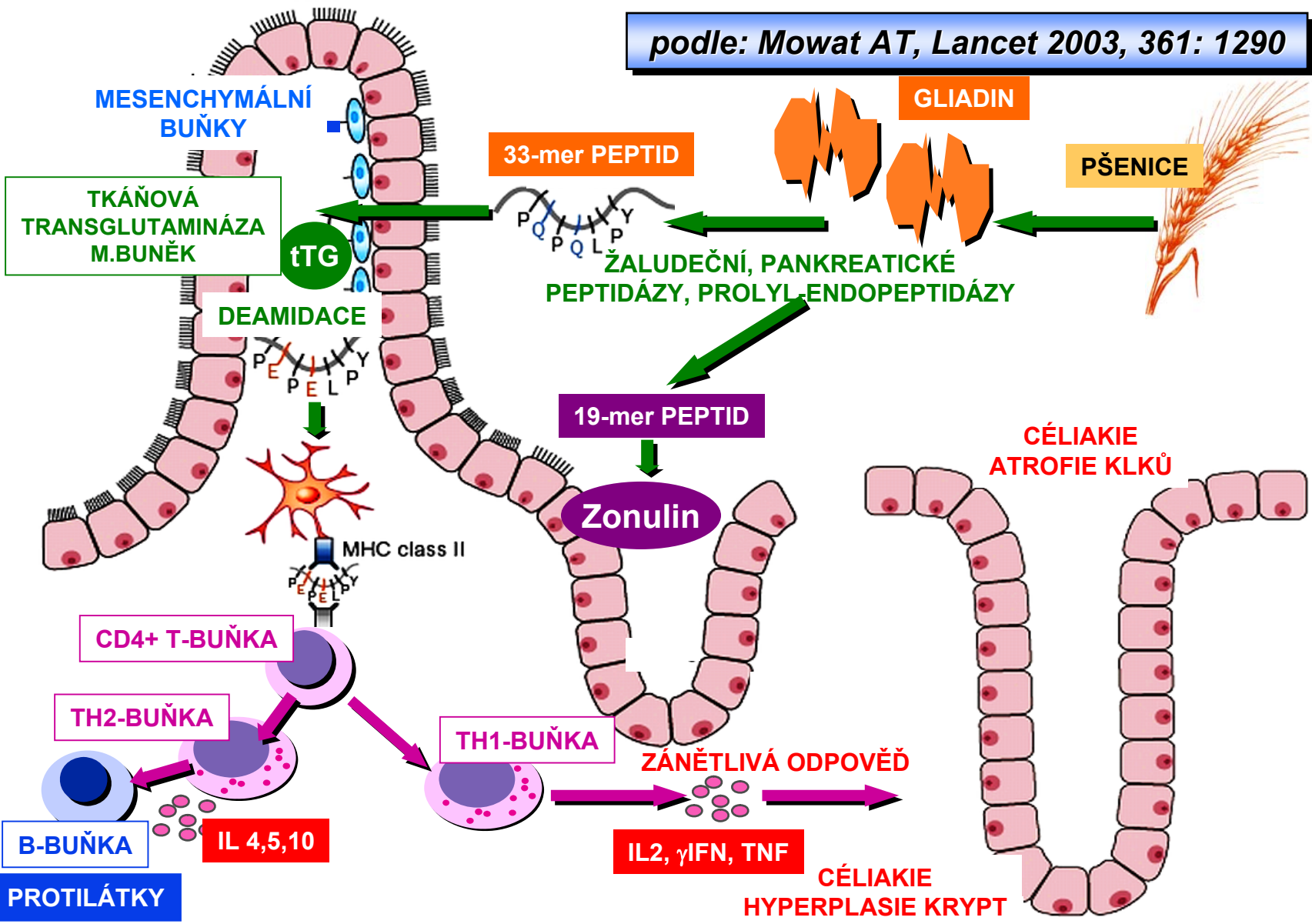
1

Význam v etiopatogenezi celiakie

Význam v perspektivní terapii celiakie

Význam v monitorování celiakie

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

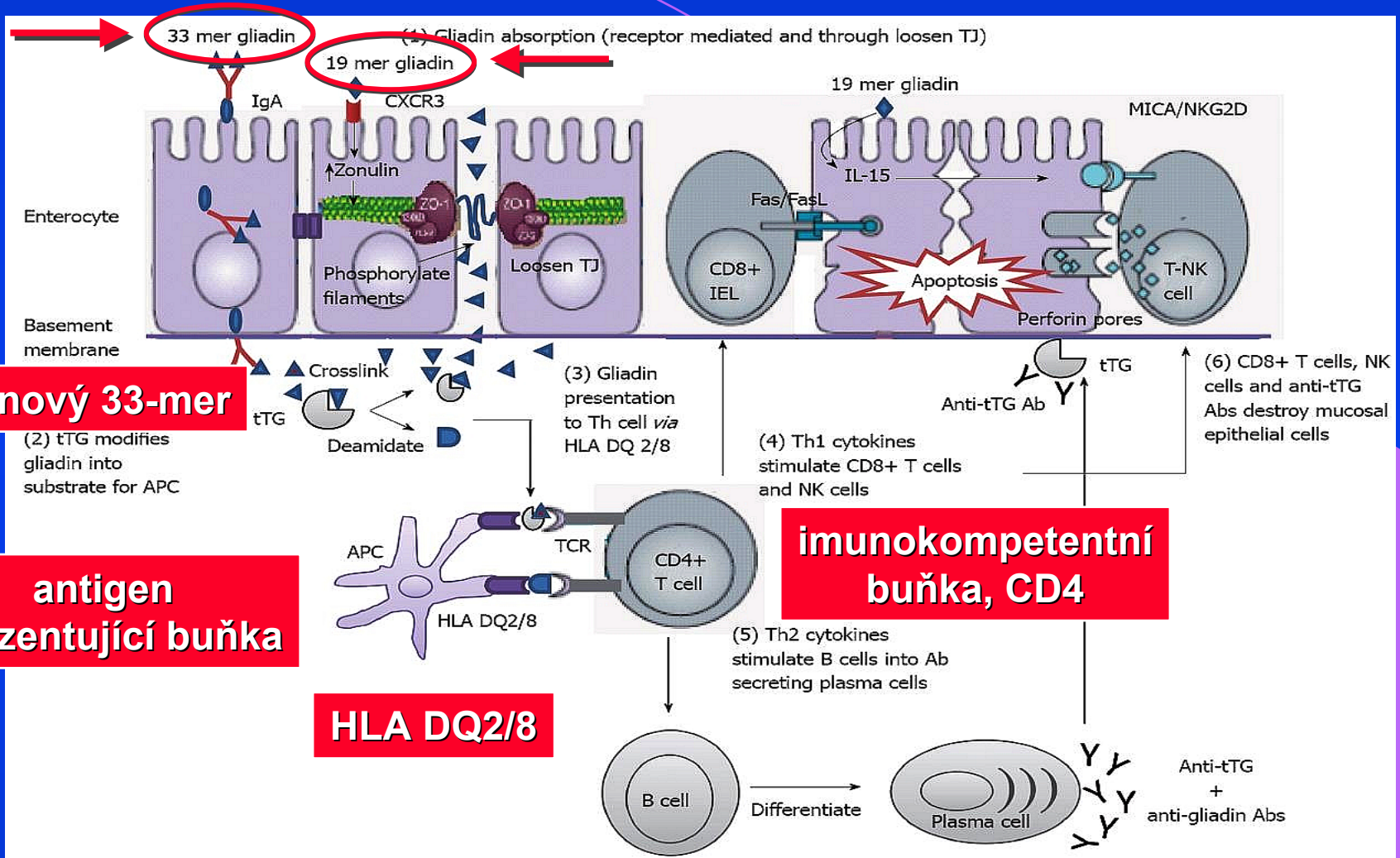
Gliadin 33-mer je deamidován tkáňovou transglutaminázou

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

Aktivované T-buňky produkují cytotoxické mediátory

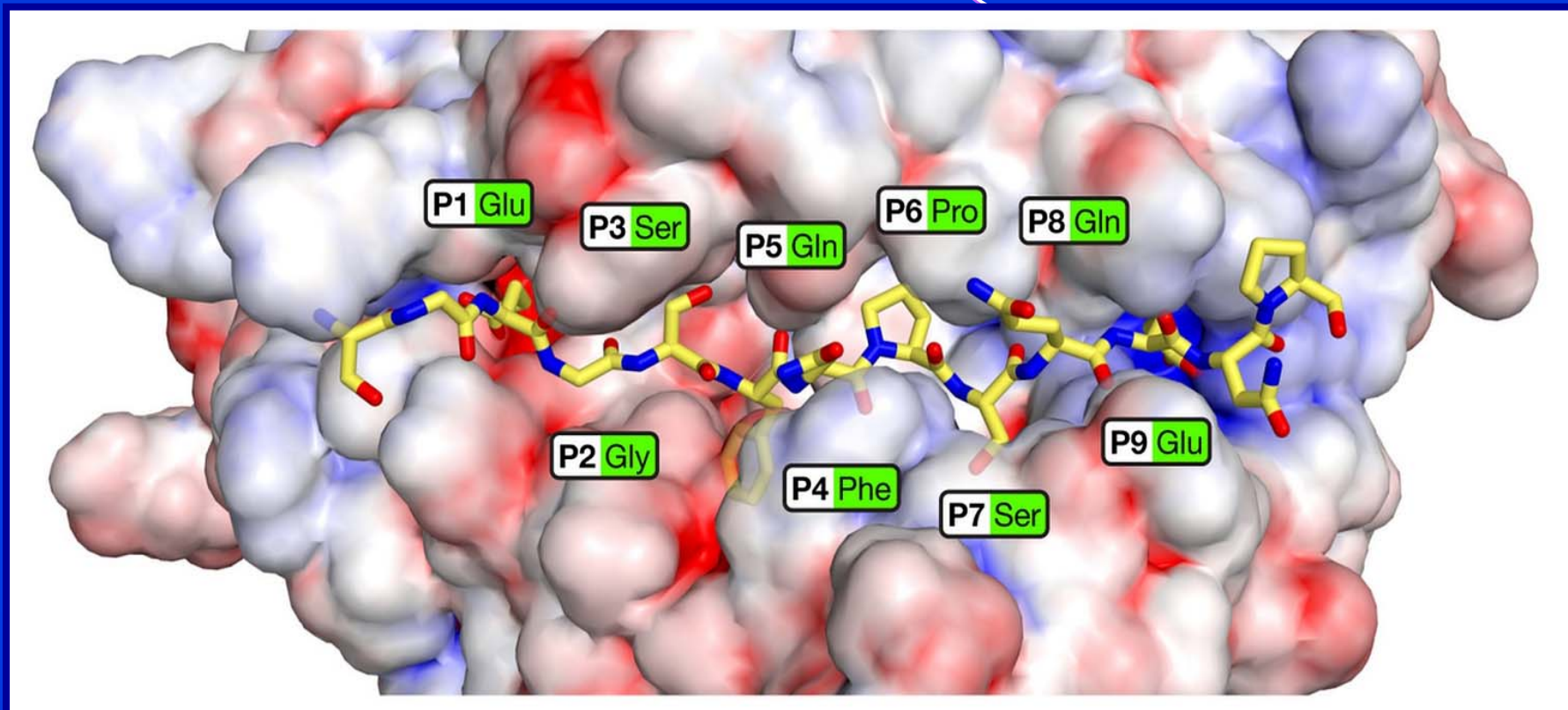
Cytotoxické mediátory vedou k zánětu sliznice a její atrofii

Aktivované B-buňky produkují protilátky



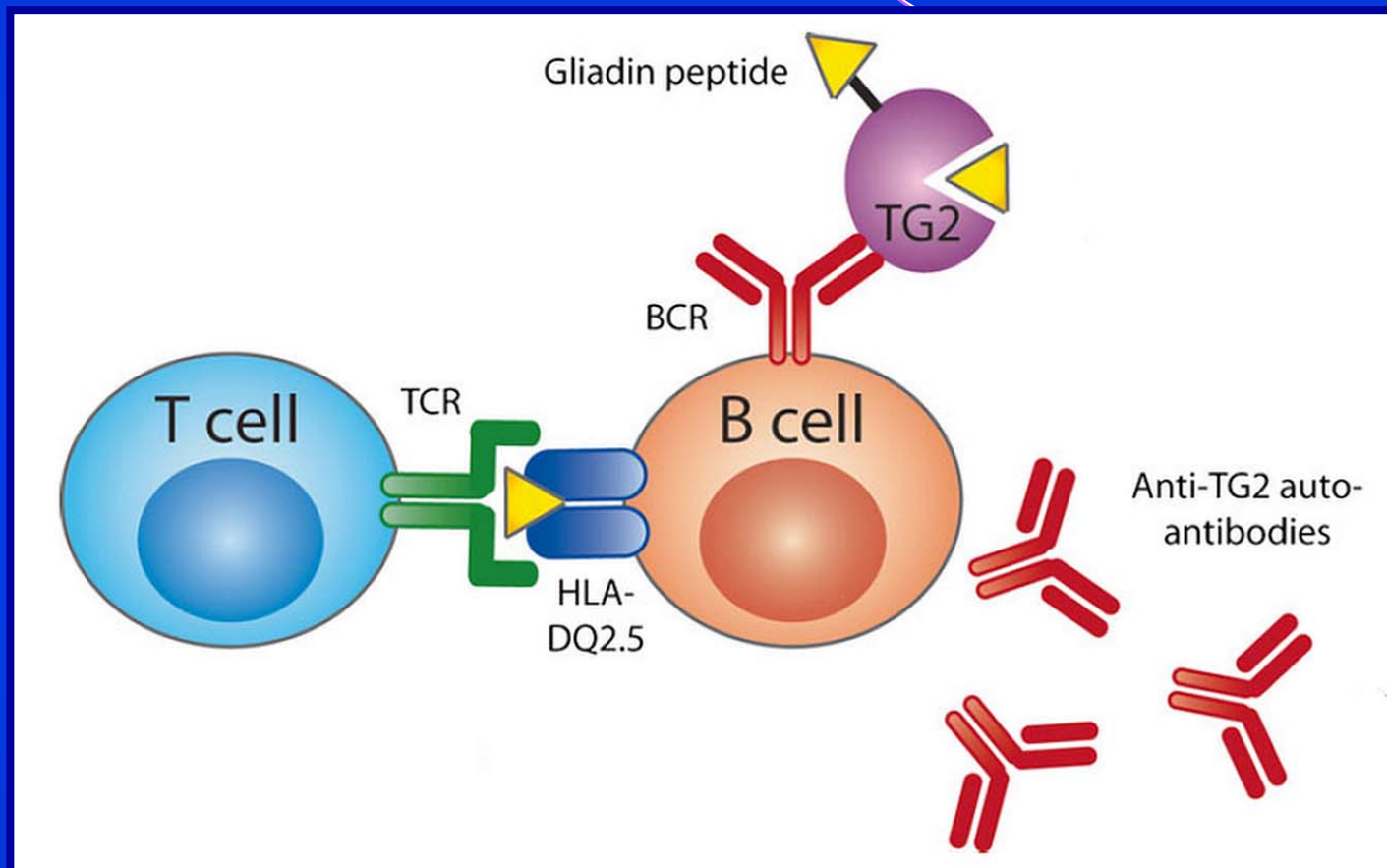
Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. World J Gastroenterol. 2012 Nov 14;18(42):6036-6059

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

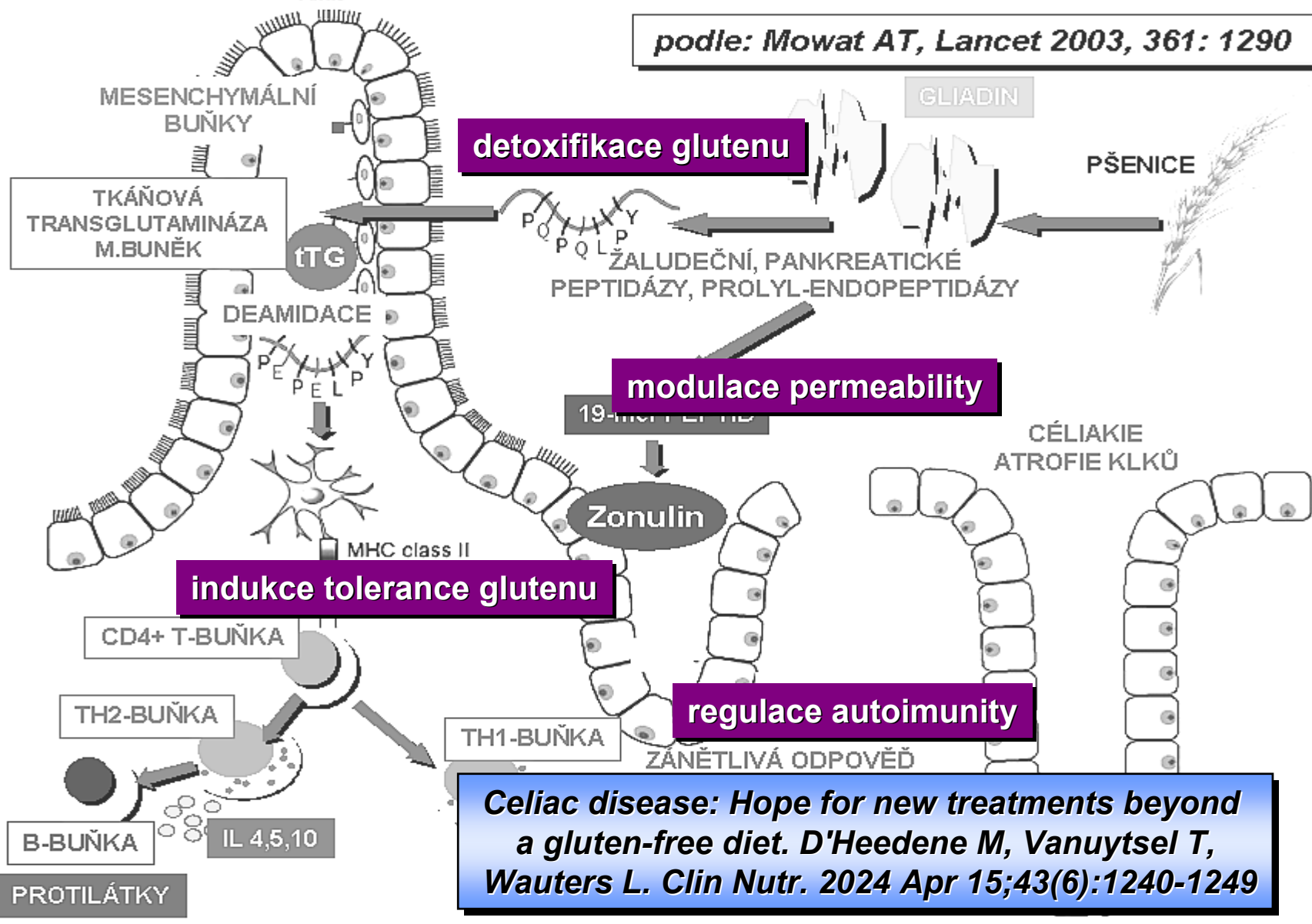
Význam v monitorování celiakie



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)

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



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)



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



PERSPEKTIVNÍ TERAPIE CELIAKIE - ENZYMOTERAPIE

Enzym	Složka	Stav	Reference
Cysteine endoprotease	ALV001	Výzkum	Siegel M. Chem. Biol. (2006)
Sphingomonas capsulata PEP	ALV002	Výzkum	Gass J. Gastroenterology (2007)
Latiglutenase	ALV003	Fáze 2	Tye-Din JA. Clin. Immunol. (2010)
Elastase	CEL-3B	Výzkum	Guterrez S. Molecular Metabolism (2017)
Cysteine endopeptidase B	EP-B2	Výzkum	Bethune MT. Chem. Biol. (2006)
Serine endoprotease	Kuma030	Fáze 1	Wolf C. J. Am. Chem. Soc. (2015)
Dipeptidyl peptidase- IV	DPP-IV	Výzkum	Li D. Therap. Advan.Chronic Dis.e (2020)
Cysteine protease	Triticain α	Výzkum	Gorokhovets NV. Int. J. Mol. Sci. (2017)
Aspergillus niger endopeptidase	AN-PEP	Fáze 2	Konig J. Sci. Rep. (2017)
Combination of microb. enzymes	STAN-1	Fáze 2	Korponay-Szabo I. J. Ped. Gastro. (2010)
Glutenase	E40	Předklinické	Mamone G. Front. Nutr. (2022)
Protease Nepenthes spp.	Nepenthesin	Výzkum	Ray M. Sci. Rep. (2016)

Potential therapeutic options for celiac Disease: An update on Current evidence from Gluten-Free diet to cell therapy. Noori E, Hashemi N, Rezaee D. et al. Int Immunopharmacol. 2024; 133:112020



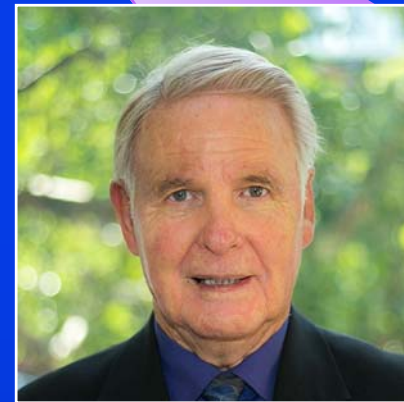
CELIAKIE - DETOXIFIKACE GLIADINU CARICAINEM

GLUTEGUARD JE EXTRAKTEM Z CARICA PAPAYA, OBSAHUJE ENZYM CARICAIN A DALŠÍ PROLYL-ENDOPEPTIDÁZY, NELÉČÍ CELIAKII, JE POTRAVINOVÝM DOPLŇKEM, CENA ZA 30 TABLET JE 30 \$



Q Q P Y P Q P Q

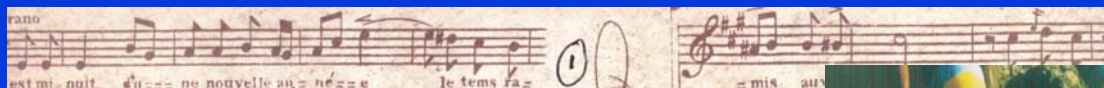
CARICAIN
(Carica Papaya.)



Enzyme Therapy for Patients with Celiac Disease - An Update
Cornell HJ, Stelmasiak T, Lerner A.
International Journal of Celiac Disease, 2021; 9/1: 28-34



HUGH J. CORNELL - 93. LET (V PRAZE BYL 1990)



Dear Petr, Jana and family,
Once again I am writing
Christmas to convey my best wishes at
this time of the year. We normally go to a Lutheran
not far away but our pastor has been at
the larger congregation at Bendigo in
so we will have only a small Christmas
of our own lay people.

Everybody looked
family photographs and we were high
by grand-children Rafael and Paulina
to be enjoying the happy occasion. They
am sending you a few snapshots
Merrin, Brent, Tasha and Ryan.

I am keeping good health for
a man of 93 and owe much of that to Merrin



hope you will
we in mind and body and that
all avoided COVID! I remember
were in a choir at some stage.
at Jakob and Karolina are busy
with chamber music - professionally. Music
is an important part of my life, but I can't play
an instrument. With best wishes, Hugh.



POTRAVINOVÉ DOPLŇKY DEGRADUJÍCÍ LEPEK



PREPARÁTY OBSAHUJÍ ŘADU ENZYMŮ, KTERÉ LEPEK ŠTĚPÍ, DLE
VÝROBCE JSOU URČENY PRO OSOBY S INTOLERANCÍ NA
POTRAVINY OBSAHUJÍCÍ LEPEK



Gliadin 33-mer

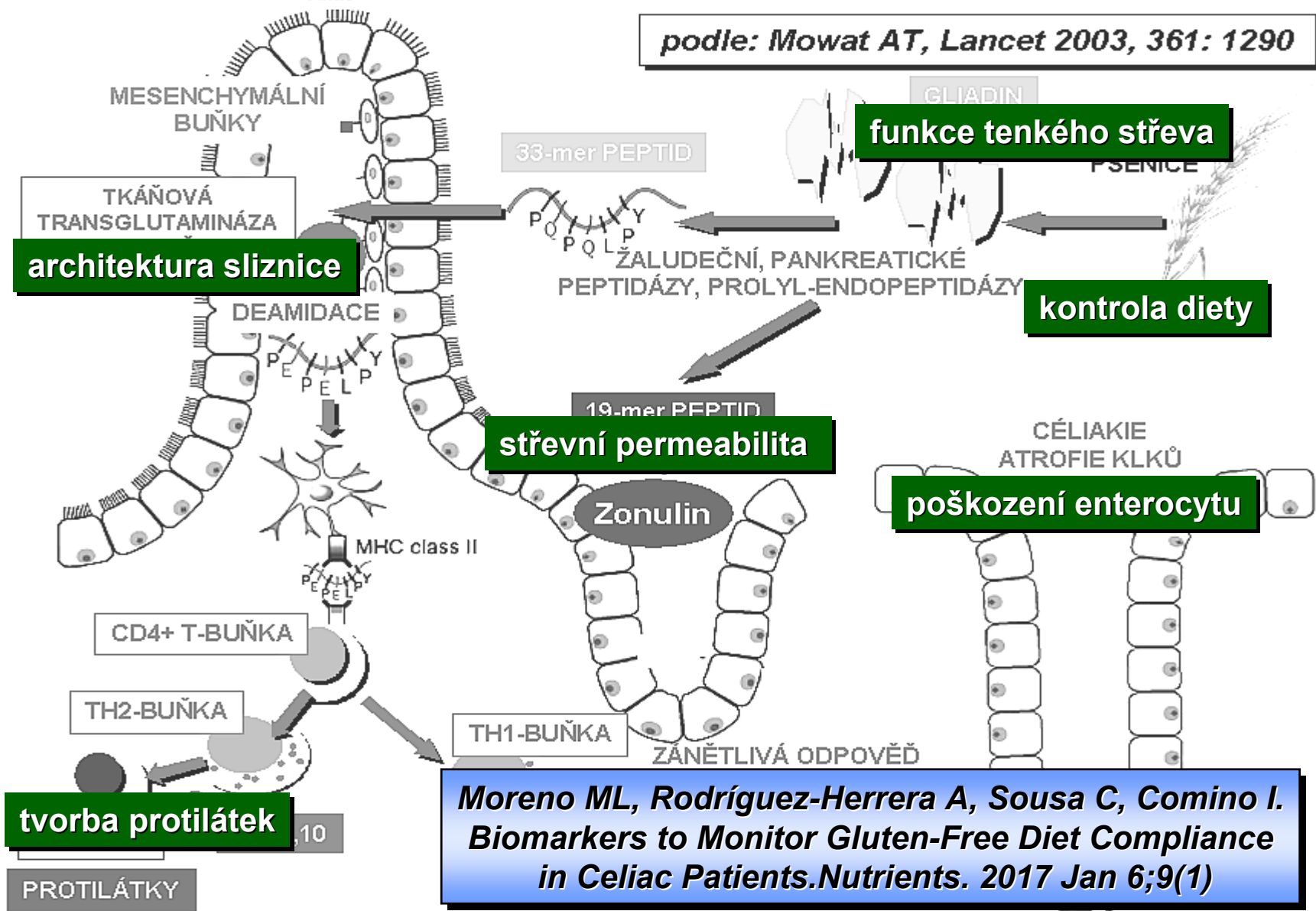
Význam v etiopatogenezi celiakie

Význam v perspektivní terapii celiakie

3

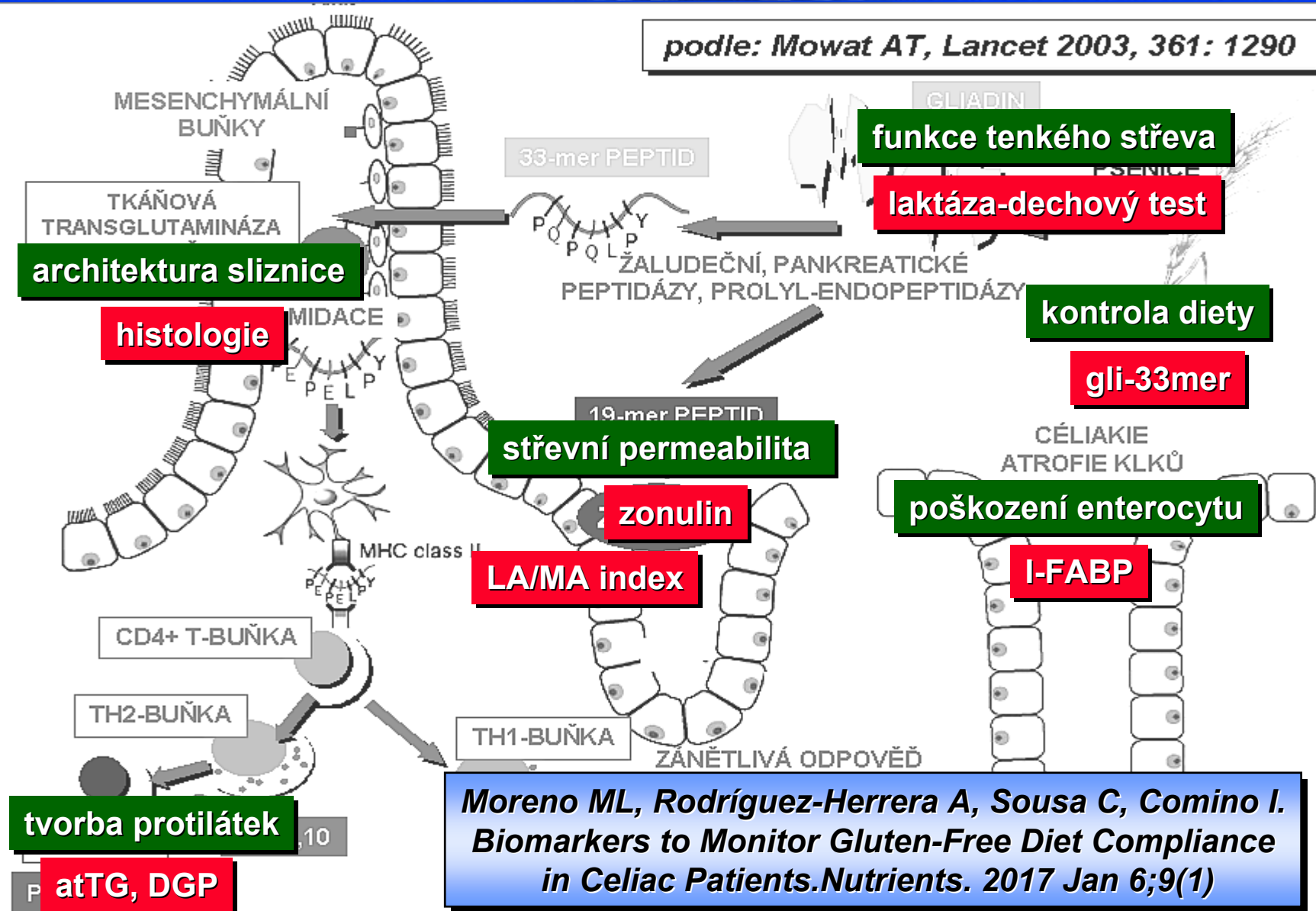
Význam v monitorování celiakie

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



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 jedné o nereagující celiakii nebo refrakterní celiakii.

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

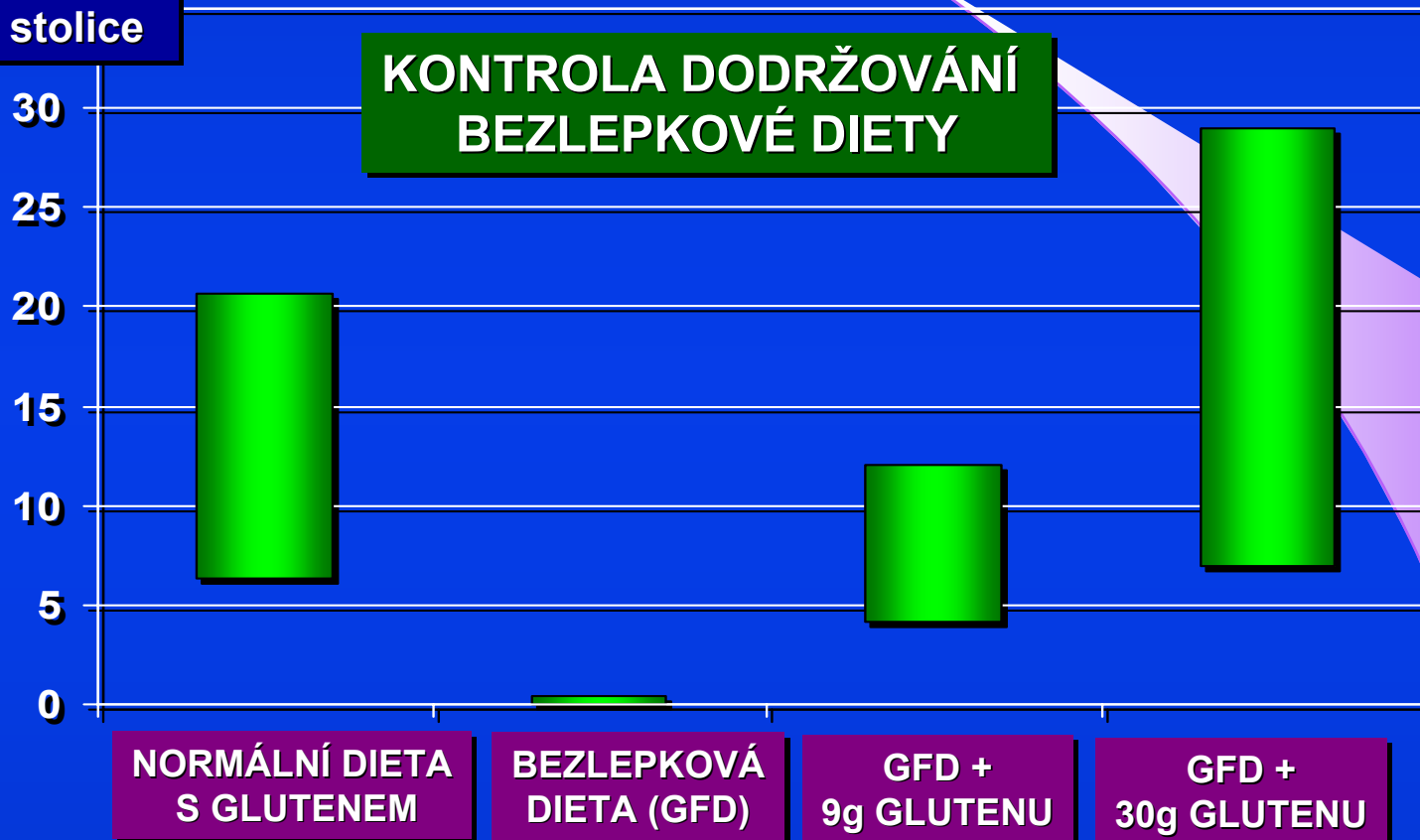
Coto L, Mendia I, Sousa C, Bai JC, Cebolla A.

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



GLIADIN 33mer VE STOLICI

gli-33mer
ng/mg stolice

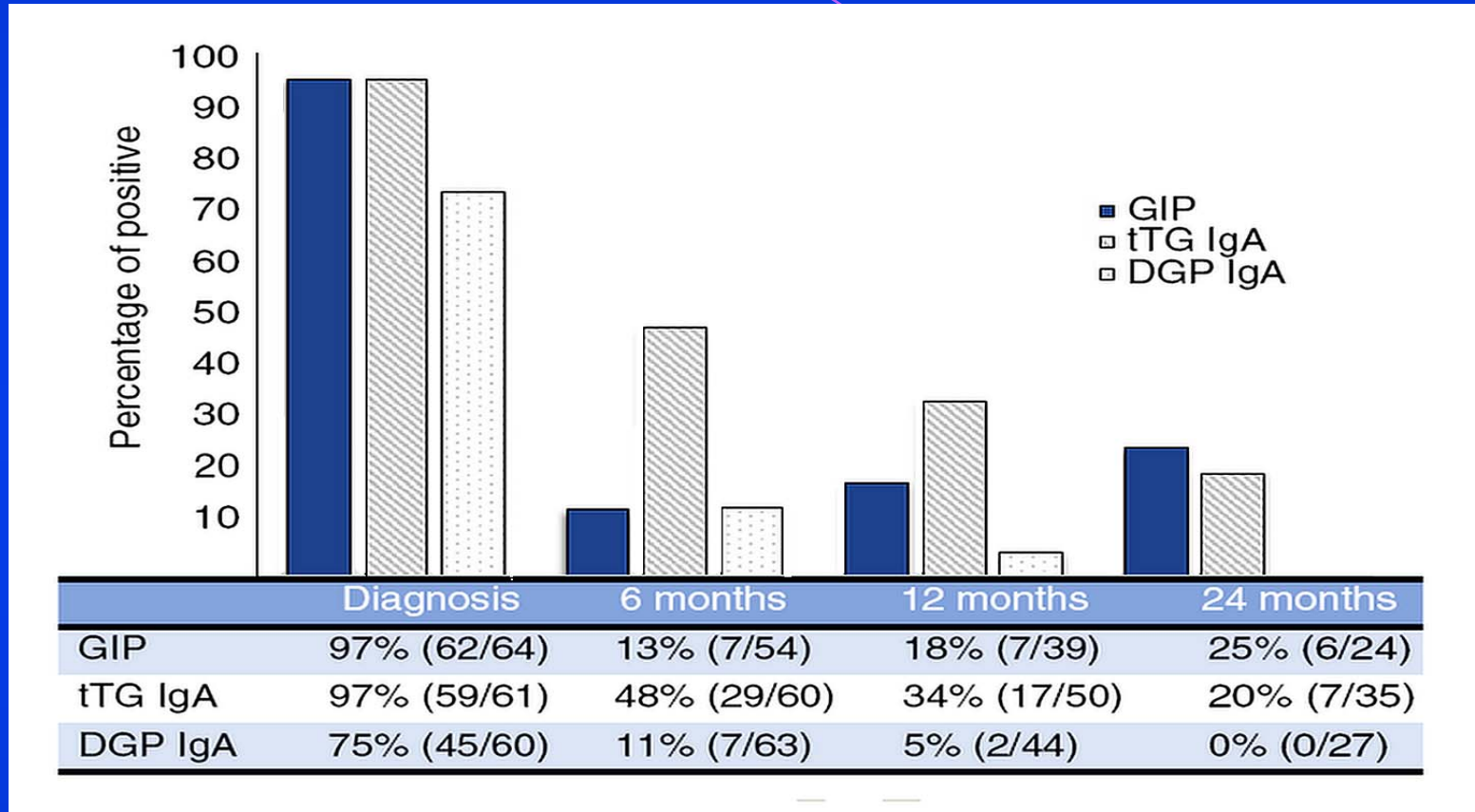


Monitoring of gluten-free diet compliance in celiac patients by assessment of gliadin 33-mer equivalent epitopes in feces.

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

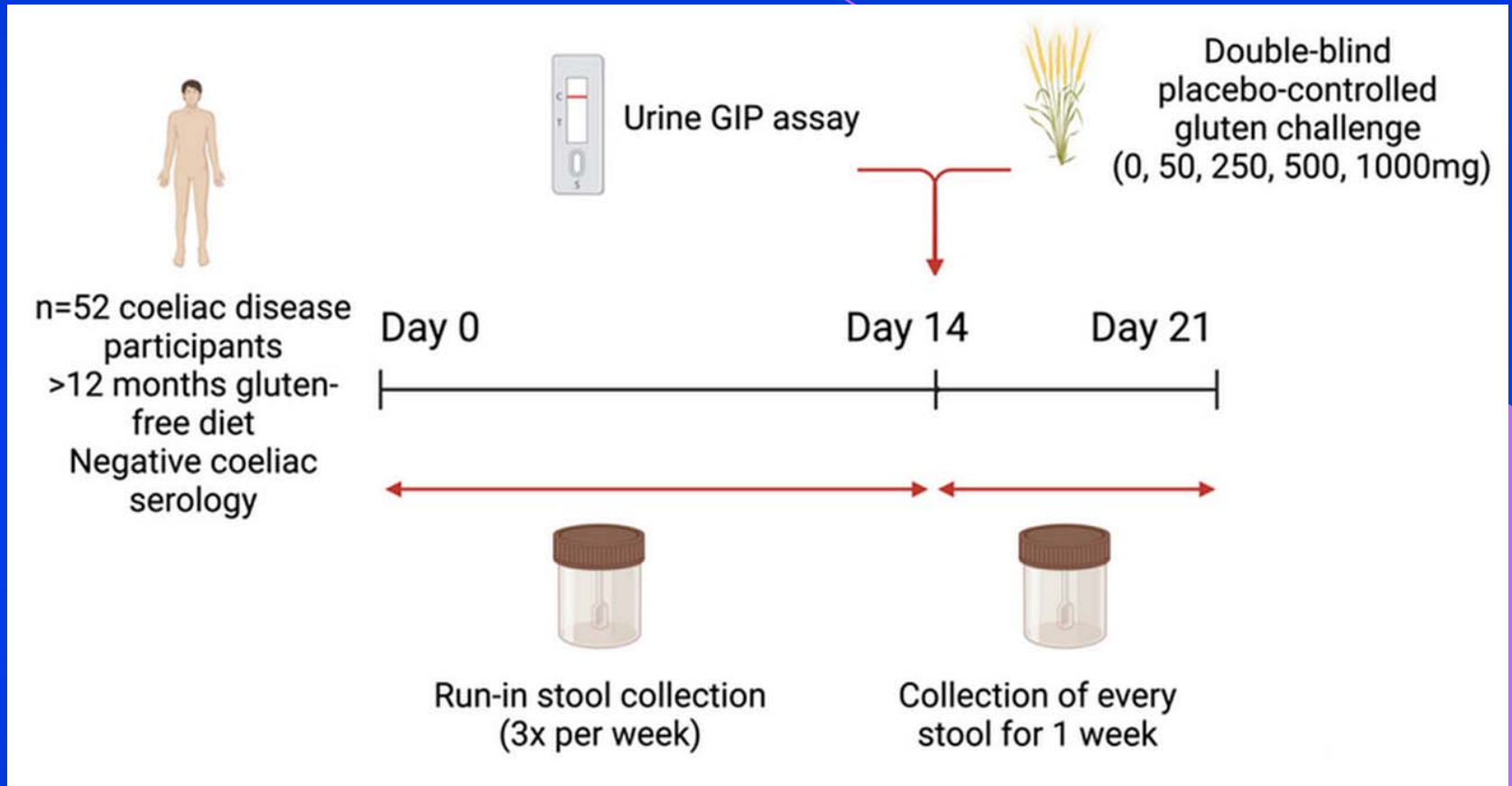


GLIADIN 33mer VE STOLICI



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 a MOČI



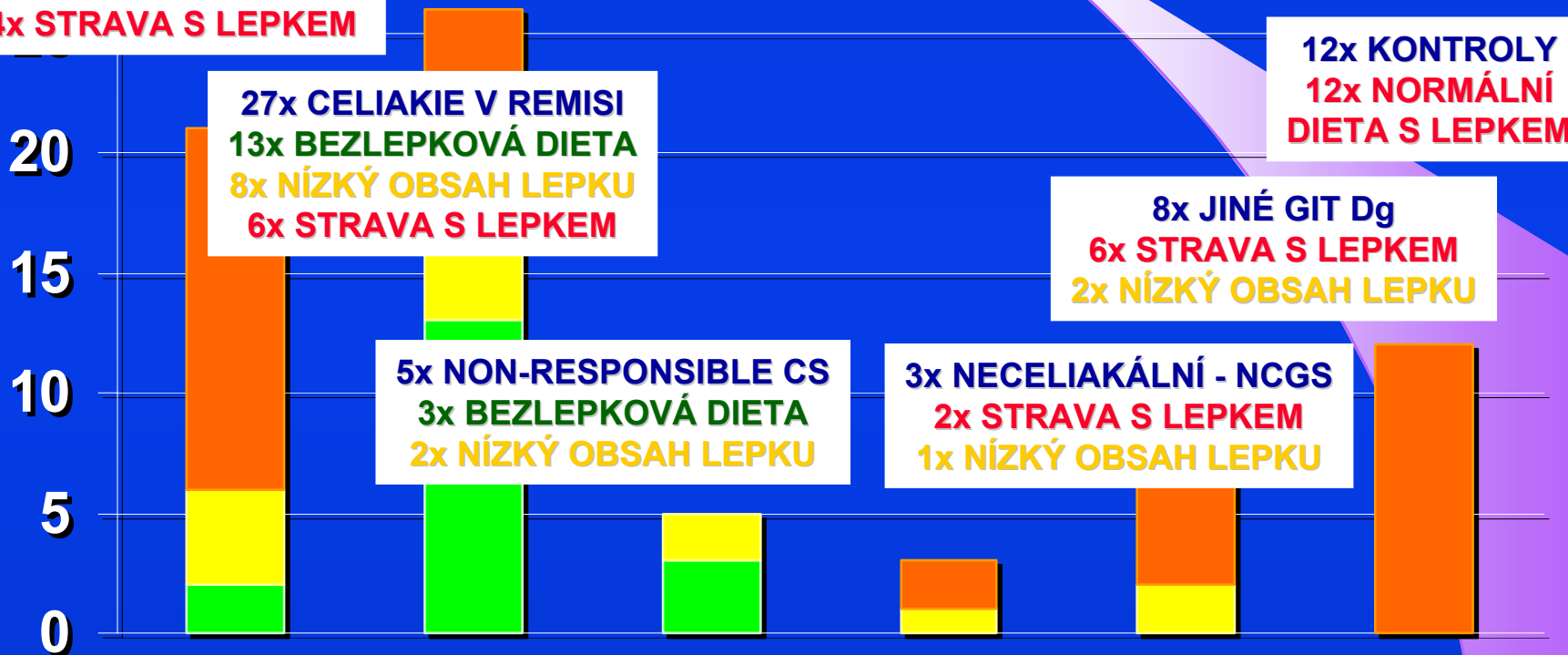
Stool Gluten Peptide Detection Is Superior to Urinary Analysis, Coeliac Serology, Dietary Adherence Scores and Symptoms in the Detection of Intermittent Gluten Exposure in Coeliac Disease: A Randomised, Placebo-Controlled, Low-Dose Gluten Challenge Study. Russell AK, Lucas EC, Henneken LM.et al. Nutrients.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



GLIADIN 33mer VE STOLICI - STUDIE VFN

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



Kocna P., Vaníčková Z., Dvořák M., Kohout P.: Monitorování nemocných s celiakií, dodržování bezlepkové diety – vlastní zkušenosti s testem detekce 33mer-gliadinu ve stolici. XXII.Hradecké gastro-hepatologické dny, 2018: 37-38



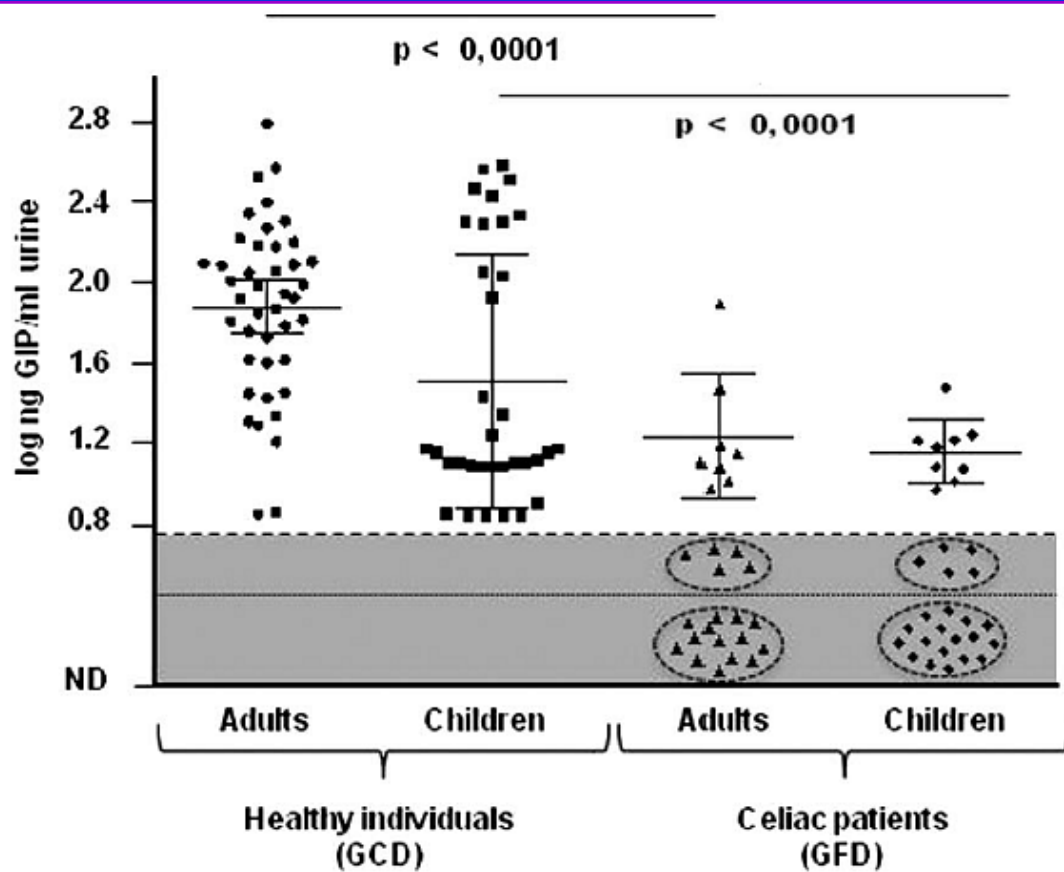
GLIADIN 33mer VE STOLICI

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-

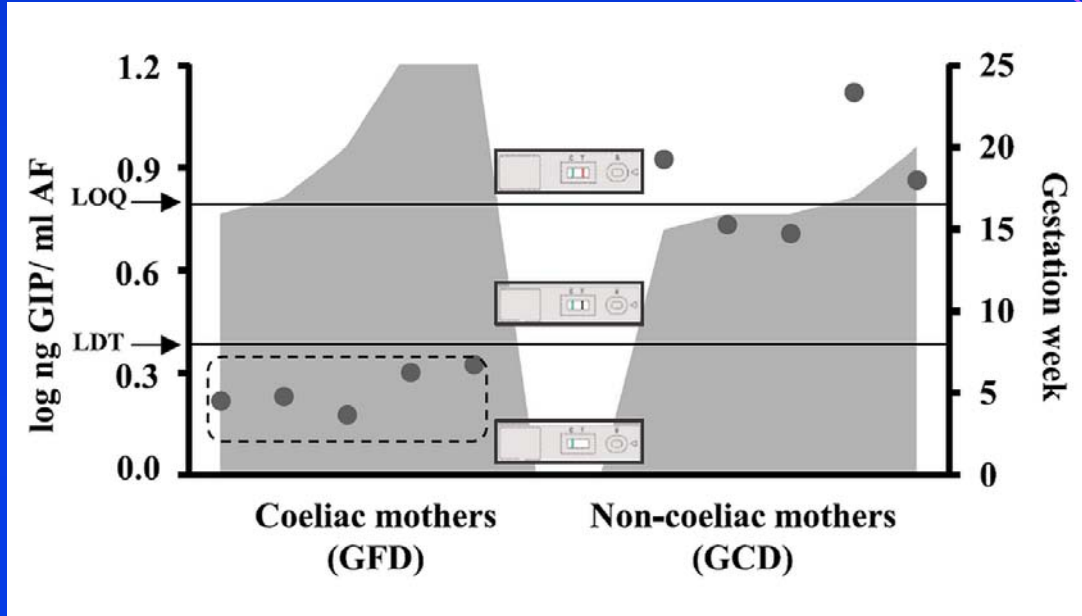
Histologie - atrofie: 66,7 % uGIP+ vs. 32,7 % uGIP- pacientů (p = 0,01).

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

DETEKCE GLIADIN 33meru V AMNIOVÉ TEKUTINĚ



Autoři vyvinuli specifickou imunoanalýzu pro detekci GIP v plodové vodě a studovali jsme jejich akumulaci, dynamiku vylučování a expozici plodu v souboru 125 těhotných žen s různou lepkovou dietou a gestačním věkem.

Studie poprvé prokazuje fetální expozici glutenovým imunogenním peptidům a prokazuje pozitivní korelaci s příjmem lepku u matky. Znalost časně expozice GIP in utero může **výrazně změnit dosavadní strategie** v načasování a zavedení bezpečného množství lepku u dětí s celiakií.

Foetal gluten immunogenic peptides during pregnancy: a new determinant on the coeliac exposome. Moreno ML, González-Rovira M, Martínez-Pancorbo C. et al. BMC Med. 2024 Jul 18;22(1):295



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