

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra buněčné a vývojové biologie



Gluten a asociace celiakie s jinými chronickými chorobami

Bakalářská práce

Michaela Hornová

Školitelka: Prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.

Praha 2009

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Prof. MUDr. Heleny Tlaskalové, DrSc. a na základě uvedené literatury.

Praze, srpen 2009

Michaela Hornová
.....

Michaela Hornová

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce Prof. MUDr. Heleně Tlaskalové, DrSc. za její ochotu a trpělivost při psaní této práce. Mé díky patří také rodině a všem členům laboratoře především Mgr. Zuzaně Zákostelské, Mgr. Kláře Klimešové, Mgr. Jaroslavě Příbylové za všestrannou pomoc a podporu při psaní této bakalářské práce.

Seznam použitých zkratk

AGA	antigliadinová protilátka
CD	diferenční antigen
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EGF	epidermální růstový faktor
EMA	endomysální protilátka
GWAS	celogenomová analýza
HLA	hlavní lidský (histokompatibilní) antigen
IEL	intraepiteliální lymfocyty
Ig	imunoglobulin
IL	interleukin
IFN – α	interferon – α
INF – γ	interferon - γ
kDa	kilodalton
MHC gp	Glykoprotein hlavní histokompatibilní komplex
MIC	neklasická molekula MHC I. třídy
NKG2D	receptor pro stresem indukované MHC I
T _H	pomocný T - lymfocyt
T - reg	regulační T-lymfocyt
TNF - α	faktor nekrotizující nádory
tTG	tkáňová transglutamináza

Obsah

1. Abstrakt	6
1.1. Abstrakt.....	7
2. Úvod	8
3. Gluten	9
4. Klinické projevy, diagnostika a patogeneza celiakie	10
4.1. Diagnostika celiakie.....	11
4.2. Vlastní testování.....	12
4.3. Genetické predispozice a vnější faktory	13
4.4. Adaptivní a přirozená imunita.....	15
5. Asociace s jinými chronickými chorobami	17
5.1. „Genome Wide Association studies“ GWAS.....	18
5.2. Známé geny související s celiakií.....	19
5.3. Asociace některých zánětlivých a autoimunitních chorob s celiakií.....	21
5.4. Neurologické a psychiatrické komplikace u celiakie	22
5.5. Intolerance glutenu a kožní onemocnění.....	23
6. Závěr	25
7. Seznam citované literatury	26

1. Abstrakt

Glutenová enteropatie (celiakie) je chronické celoživotní onemocnění charakterizované trvalou nesnášenlivostí lepku (glutenu) a jemu podobných proteinů z pšenice a žita u geneticky predisponovaných jedinců. Tyto proteiny vyvolávají silnou autoimunitní odpověď zahrnující aktivaci adaptivní a přirozené imunity s tvorbou velkého množství prozánětlivých cytokinů, což následně vede k rozvinutí zánětu, atrofii klků a hyperplazii krypt v tenkém střevě.

Díky novým možnostem screeningu jsou v posledních letech stále častěji diagnostikovány případy pacientů i s atypickými příznaky, které se nemusí projevovat zažívacími obtížemi, ale mohou zahrnovat anémii, neplodnost, endokrinní choroby, neurologické a psychiatrické potíže.

Toto klinické podezření vede k preventivnímu screeningu těchto rizikových osob, především příbuzných pacientů s celiakií, pacientů s Downových syndromem a autoimunitními chorobami. Oblast výzkumu se v poslední době soustředí na podstatu patogenetických mechanismů celiakie a na popsání genetických asociací s ostatními autoimunitními chorobami. Je to slibná strategie umožňující pochopit klíčový způsob vzájemného vlivu genetického pozadí jedince s imunitní odpovědí na požitý lepek.

Klíčová slova: celiakie, gluten, autoimunitní onemocnění, atrofie klků, hyperplazie krypt

1.1. Abstract

Celiac disease is an immune mediated enteropathy caused by a permanent gluten intolerance developing in genetically predisposed individuals. Wheat proteins and other related proteins of rye and barley trigger a strong autoimmune response characterized by the activation of both adaptive and innate immunity. It initiates onset of inflammation, villous atrophy and crypt hyperplasia in the small intestine.

In the last years, the diagnosis is becoming more frequent due to ability to reveal asymptomatic patients by their positive serologic screening. These patients with celiac disease are characterized by the presence of extra - intestinal manifestations including anaemia, infertility, endocrinological disorders, neurological problems and psychiatric disorders.

This clinical suspicion leads to preventive screening of people, who are at this risk, especially relatives of celiac patients and patients with Down syndrome and autoimmune diseases. The research interest is now being more concentrated on the genetic side of this disease and is investigating analysis of pathogenesis mechanisms and genetic associations among autoimmune diseases. This seems to be a promising way giving us the right comprehension of how a person's genetic background interplays with the immune response to wheat ingestion.

Key words: celiac disease, gluten, autoimmune disorders, villous atrophy, screening

2. Úvod

Celiakie je chronické autoimunitní onemocnění sliznice tenkého střeva postihující jedince s genetickou predispozicí, které je vyvoláno požitím pšeničného lepku (glutenu) a jemu příbuzných proteinů patřících do skupiny prolaminů (např. hordeiny, sekaliny). Toto riziko postihuje až 1 % populace a je spojováno se silnou genetickou predispozicí hlavně v genové oblasti HLA molekul. V současné době jsou zkoumány i varianty dalších genů ležících mimo oblast HLA a ovlivňujících adaptivní a přirozenou imunitu.

U pacientů s celiakií je zvýšená hladina protilátek proti glutenu a IgA, IgG autoprotilátek k různým autoantigenům např. k endomyziální tkáňové transglutamináze (tTG), zprostředkující posttranslační deaminace a transaminace glutaminu. Deaminované peptidy glutenu jsou předkládány CD4⁺ T - buňkám infiltrující lamina propria tenkého střeva, kde jsou rozeznávány v kontextu s HLA-DQ2 a HLA-DQ8 molekulami. Výsledkem je silná zánětlivá odpověď charakterizovaná produkcí T_H0 a T_H1 cytokinů, atrofií klků a produkcí autoprotilátek.

Není znám mechanismus vzniku autoprotilátek proti transglutamináze. Zánětlivé projevy způsobené T - a B - buněčnou odpovědí však obvykle vymizí po odstranění glutenů z diety. Bezlepková dieta je jediným základním léčebným opatřením u všech nemocných (přehled Catassi and Fasano 2008).

3. Gluten

Gluten je obsažen ve většině běžných obilovin jako zásobní bílkovina. Nachází se hlavně v pšenici, ječmenu a žitu. Může být však obsažen i v ostatních zdánlivě bezpečných potravinách a to díky kontaminaci při zpracování potravin. Skládá se z velkého množství bílkovin. Podle rozpustnosti v alkoholovém roztoku jsou rozdělovány na rozpustné monomerní gliadiny a nerozpustné nízko či vysoko molární gluteniny. Gluteniny mají uvnitř řetězce disulfidické vazby a jsou méně rozpustné ve vodě. Gluteniny jsou na rozdíl od gliadinů propojené disulfidickými vazbami i mezi řetězci a formují 500 kDa až 10 MDa seskupené proteinové komplexy (Wieser 2007). To napomáhá ke skrytí imunotoxických epitopů v zažívacím traktu až k výslednému uvolnění endogenními gastrointestinálními proteázami. Gliadiny mají strukturální zvláštnosti (např. častý výskyt aminokyselin prolinu a glutaminu), které vysvětlují vyšší imunologickou reaktivitu u pacientů s celiakií.

Glutenové proteiny jsou minimálně tráveny, to znamená, že jsou odolné enzymatické degradaci v žaludku, trávicím enzymům slinivky a proteázám kartáčového lemu ve střevě (Green and Jabri 2003). V důsledku toho se odolné peptidy z jídla dostávají až do proximální části tenkého střeva (Hausch, Shan et al. 2002). Zde se odhalují proteolyticky odolné a pro pacienty s celiakií imunotoxické oblasti zbytků peptidů bohatých na prolin a glutamin, jako například α - gliadinová část dlouhá 33 aminokyselin (Shan, Molberg et al. 2002).

Zánětlivá odpověď je však vyvolána pouze u geneticky predisponovaných jedinců a v začátku je lokalizována v tenkém střevě. Nicméně dále zánět pokračuje rozsáhlejší humorální odpovědí na gluten. Kromě glutenových peptidů, které se zatím ještě neznámým způsobem dostávají přes střevní epitel do kontaktu s lymfoidní tkání, prochází přes epiteliální bariéru i spousta dalších proteinů, ale bez ztráty jejich imunoreaktivity (Husby, Foged et al. 1987). Tento intaktní přenos malého množství proteinů je zajištěn buď M - buňkami, nebo nespecifickou endocytózou na apikální straně enterocytální membrány. M - buňky jsou zvláštním typem membránovým epiteliálních buněk schopných pohlcovat antigeny z lumen střeva a dopravovat je do lymfoidních folikulů - (Peyerových plaků) (Tlaskalova-Hogenova, Stepankova et al. 2004).

Epitelová vrstva tenkého střeva má strukturu klků a je tvořena polarizovanými buňkami enterocytů. Ty jsou na apikální straně k sobě spojeny transmembránovými proteinovými komplexy těsných spojení (tight junctions) a adherentních spojení (adherent junctions) (Schneeberger and Lynch 2004).

Během aktivní fáze, kdy je ve stravě přítomen gluten, dochází k určitému narušení epiteliální bariéry. Ta je více paracelulárně a transcelulárně propustná díky produkovaným T_H1 prozánětlivým cytokinům interferonu- γ (IFN- γ) a faktoru nekrotizujícího nádory (TNF α). Léze vykazují zploštění klků a hyperplasii krypt a dochází ke zvýšené apoptóze enterocytů (Catassi and Fasano 2008).

Účinkem endogenních enzymů se stávají glutenové peptidy po enzymatické deaminaci více imonotoxickými, aktivují vrozenou imunitu a na základě imunogenetických vlastností u predisponovaného jedince rozvinou onemocnění. K deaminaci dochází na vybraných glutaminových zbytcích enzymem transglutaminázou. Následuje vazba těchto glutenových peptidů s mnohem vyšší afinitou k HLA - DQ2 molekulám a tím zvýšení stimulační schopnosti gluten-reagujících T - buněk. Pacient s celiakií vytváří protilátky nejen proti epitopům glutenu, ale i proti transglutamináze.

Od okamžiku výskytu symptomů celiakie je nutné dodržovat celoživotní bezlepkovou dietu, protože jakékoliv další množství lepku spouští potíže a projevy onemocnění.

4. Klinické projevy a symptomy celiakie

Klinické projevy a symptomy celiakie jsou velice různorodé a individuální pro každého pacienta s celiakií. Liší se charakteristicky podle věkových skupin. U malých dětí je typický průjem a celkové neprosívání. Zvracení, anorexie, zácpa nejsou také výjimkou. Starší děti a dospělí se potýkají i s extraintestinálními manifestacemi onemocnění, mohou mít neurologické symptomy anebo anémii (D'Amico, Holmes et al. 2005).

Díky sledování rodin s výskytem celiakie jsou někteří pacienti diagnostikováni již v rané fázi (Fasano, Berti et al. 2003). Například Turnerův syndrom, Downův syndrom a

diabetes I. typu jsou nápadně často asociovány s celiakií (Bettendorf, Doerr et al. 2006; Goh and Banerjee 2007; Shamaly, Hartman et al. 2007). Zajímavá je však zvýšená incidence autoimunitních chorob u pacientů s celiakií ve srovnání s běžnou populací (Viljamaa, Kaukinen et al. 2005). Mimo jiné i to, že bezlepková dieta u pacientů s různými chronickými chorobami může zlepšit klinické symptomy (Tlaskalová-Hogenová et al. 2007).

V tenkém střevě může vlivem zánětu dojít až k atrofii klků, hyperplasii krypt a intraepiteliální lymfocytóze. Důsledkem narušení správné funkce střeva dochází k nutriční malabsorpci, průjmům a v některých případech může chronický zánět u pacientů s neléčenou celiakií vést až ke vzniku maligního T – buněčného lymfomu tenkého střeva (Tlaskalova-Hogenova et al. 1999). Avšak u většiny pacientů po dodržování přísné bezlepkové diety dochází k obnovení správné struktury a funkce střeva.

Navzdory široké přítomnosti glutenu ve stravě je prevalence celiakie na základě sérologického testování 1:100 (Vancikova, Chlumecky et al. 2002). Mnoho dalších případů zůstává asymptomatických a nediodagnostikovaných. Sérologický screening mezi dárci krve v České republice ukázal podobnou prevalenci této choroby. Ze statických údajů se ví, že u nás je určena diagnóza celiakie přibližně u 5000 lidí. Podle screeningu se dá předpokládat, že množství nediodagnostikovaných celiaků se v naší republice blíží 50 000.

4.1. Diagnostika celiakie

Sérologické testy jsou velice vhodné k testování rizikových skupin lidí, jako jsou blízcí příbuzní pacientů, kde je velká pravděpodobnost výskytu celiakie v prvním a druhém příbuzenském stupni. Především tyto testy jsou užitečné k prokázání celiakie u lidí s atypickými příznaky, u lidí s chorobami často asociovanými s celiakií, s diabetem I. typu či jinými autoimunitními chorobami (Rashid, Butzner et al. 2009).

K vyšetřování se používají vysoce senzitivní a specifické sérologické testy na protilátky proti tkáňové transglutamináze (tTG) a anti-endomysální protilátky (EMA). Oba testy

detekují protilátky třídy imunoglobulinu A (IgA). Testování na anti gliadinové protilátky (AGA) se pro screening nedoporučuje kvůli nízké senzitivitě a přesnosti.

Měření celkové koncentrace sérového IgA je podmínkou předcházení falešně negativních výsledků, protože výskyt IgA imunodeficience je u pacientů s celiakií desetkrát až patnáctkrát častější než u běžné populace (Cataldo, Marino et al. 1997). Také jedinci stravující se bezlepkovými potravinami mohou mít negativní výsledky těchto testů, což je podmíněné schopností velmi rychlé regenerace střevní sliznice (přibližně po šesti měsících). Velkou roli hraje individuální odpověď každého jedince a množství a frekvence přijímaného glutenu ve stravě. Vyvolání relapsu onemocnění může proto trvat pár týdnů, u někoho však i roky. K přesnému potvrzení diagnózy je nutné zajistit podání dostatečného stimulačního množství glutenu, a tím vyvolat typické histologické změny před provedením biopsie tenkého střeva. Špatně stanovený negativní výsledek může oddálit léčbu a zvýšit riziko vážných komplikací jakými jsou například osteoporóza, neplodnost, lymfom tenkého střeva a asociace dalších autoimunitních onemocnění (Rashid, Butzner et al. 2009).

4.2. Vlastní testování

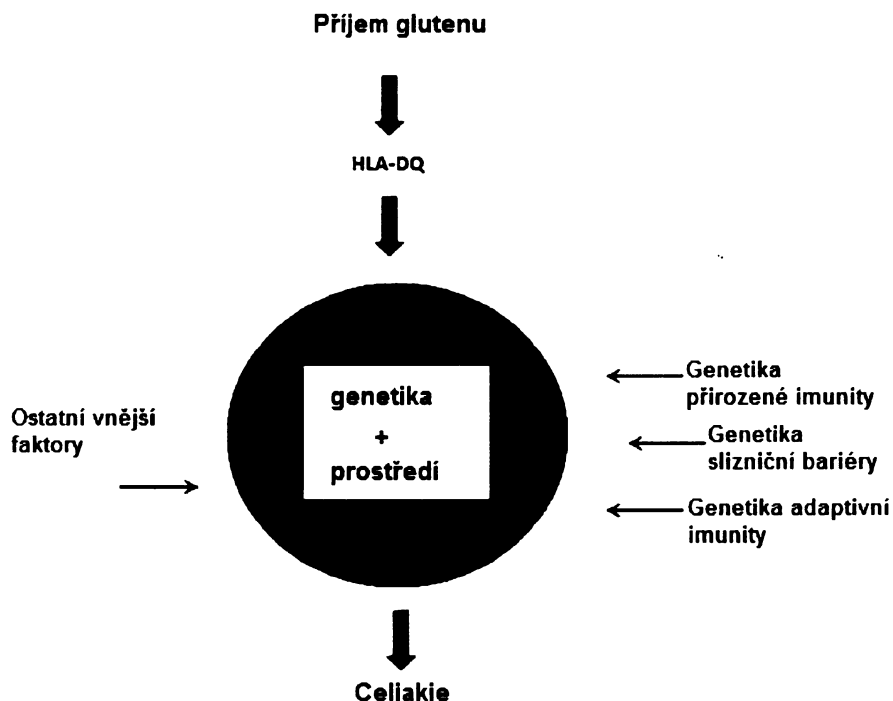
Volně prodávaný diagnostický test otevřel novou možnost domácího testování. Během pár minut lze z malé kapky krve ze špičky prstu určit přítomnost tTG protilátek. Princip je takový, že endogenní tTG je uvolněna hemolýzou z červených krvinek a formuje komplexy s tTG specifickou IgA protilátkou. Tento komplex je pak detekován navázáním tTG k povrchu, který je předem obsazen proteinem specificky vázajícím tTG. Vázané komplexy antigen-protilátka jsou pak zviditelněny barevnou reakcí anti - lidským IgA .

Pozitivní výsledek tohoto testu stejně jako jiné další výsledky sérologického testování by neměly sloužit k vlastnímu nasazení bezlepkové diety bez konečného potvrzení onemocnění intestinální biopsií.

4.3. Genetické predispozice a vnější faktory

MHC (major histocompatibility complex) glykoproteiny II. třídy rozhodují o vnímavosti nositele k onemocnění. Téměř všichni diagnostikovaní pacienti jsou nositelé MHC gp II. třídy s haplotypem DQ2 a DQ8, který se vyskytuje u 30 až 40 % populace (HLA-DQ2 je častější než HLA-DQ8). Z toho plyne, že samotné MHC gp II. třídy mají pouze částečnou účast na vzniku celiakie. Existují další genetické faktory, které mají vliv na to, zda vůbec a kdy se spustí tato abnormální odpověď na gluten (Obr. č. 1). Většinou se nástup symptomů časově pohybuje mezi dětstvím a pozdní dospělostí.

Environmentální faktory, které mohou vzbudit podmíněnou vnímavost k nemoci, zahrnují gastrointestinální operace, těhotenství, aktivaci přirozené imunity mikrobiální kolonizací proximální části tenkého střeva a také gastrointestinální infekce. Kojení má protektivní vliv spolu s uvedením glutenu do stravy nejdříve až po 4. měsíci věku dítěte (Norris, Barriga et al. 2005).



Obrázek č. 1. Vliv genové oblasti komplexu HLA – DQ molekul je pro vznik celiakie nutný, nikoliv však dostačující. Vývoj onemocnění určuje kombinace rizikových genetických faktorů

ovlivňujících adaptivní, přirozenou imunitu a slizniční bariéru. Z vnějších faktorů má na vývoj celiakie největší vliv příjem glutenu (Heap and van Heel 2009). (upraveno)

Role komenzální mikroflóry má důležitou úlohu ve vývoji funkční slizniční imunity. Její komponenty mají silné imunoaktivační vlastnosti (např. lipopolysacharidy, peptidoglykany, superantigeny, bakteriální DNA, proteiny tepelného šoku) (Tlaskalova-Hogenova, Stepankova et al. 2004). Správná funkce mikroflóry a její složení má zásadní vliv na zdravotní stav jedince. Odlišnosti a změny ve složení mikroflóry v důsledku prodělané nemoci, užívání antibiotik a těhotenství mohou podpořit vznik patogenní interakce s glutenem (Sanz, Sanchez et al. 2007).

Střevní sliznice je tvořena jednou vrstvou epitelových buněk oddělujících efektorové buňky adaptivní a přirozené imunity od ohromného množství antigenů (Saurer and Mueller 2009). To staví imunitní systém do velmi náročné pozice, kdy na jedné straně musí tolerovat neškodné antigeny (komezální mikroflóru, antigeny z potravy) a současně rozlišovat a bránit se proti invazivním patogenům (Tlaskalova-Hogenova, Stepankova et al. 2004).

První bakteriální kolonizace začíná průchodem porodními cestami ze sterilního děložního prostředí a brzy dosáhne čísla přesahujícího počet buněk lidského těla (Schaedler, Dubos et al. 1965). Kolonizace slizničních povrchů má velice důležitý stimulační vliv na adaptivní a vrozenou imunitu a využívání živin. Například probiotika ve střevě zastávají funkci komenzální nepatogenní flóry. Druhy jako *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum* mají schopnost podporovat nescifickou fagocytózu u cirkulujících granulocytů, regulovat imunitní systém hostitele a zvyšovat jeho toleranci (Scarpellini, Cazzato et al. 2008).

Mateřské mléko má schopnost oddálit riziko vzniku celiakie u dětí tím, že obsahuje spoustu protektivních antimikrobiálních složek, protilátek, růstových faktorů a cytokinů. Pozitivní vliv kojení a epidermálního růstového faktoru (EGF) obsaženého v mateřském mléce na vývoj střevní sliznice byl studován na novorozenech krysách. Do stravy jim byl přidáván IFN- γ a gliadin za účelem navození glutenové enteropatie. Atrofie klků byla, jako bývá při celiakii prokázána pouze u mladých krys krmených umělým mlékem bez EGF, ale ne u skupiny krys s přidaným EGF (Stepankova, Kofronova et al. 2003). Růstové faktory nalezené v lidském mateřském mléce podporují určité druhy komenzálních bakterií ve

střevech kojených dětí. Na utváření mikroflóry, která kolonizuje střevo, má vliv to, zda dítě bylo kojeno, nebo krmeno z láhve, způsob porodu, hygienické podmínky a antimikrobiální faktory. Počátečním zdrojem bakterií pro střevo novorozence je tedy mateřská mikroflóra. Plné kojení například podporuje flóru bohatou na *Bifidobacteria* u donošených dětí.

4.4. Adaptivní a přirozená imunita

Ve sliznici tenkého střeva v lamina propria jsou $CD4^+$ T - buňky stimulovány peptidy gliadinu jen tehdy, pokud jsou prezentovány MHC molekulami HLA DQ2 nebo DQ8 MHC molekulami na povrchu antigen prezentujících buněk. Tím dochází ke spuštění aktivace a proliferace patogenních gluten-specifických T - buněk (Sollid 2002). Aktivované $CD4^+$ T - buňky zprostředkovávají humorální odpověď pomocí signálů gluten specifickým a Ttg specifickým B - buňkám pro produkci protilátek a podporují buněčně zprostředkovanou T_H1 odpověď sekrecí prozánětlivých cytokinů s vysokými hodnotami $INF-\gamma$ a $TNF-\alpha$ (Nilsen, Lundin et al. 1995). V důsledku toho dochází k narušení integrity těsných spojů (Catassi and Fasano 2008).

IL-12 podporuje Th_1 specifickou diferenciaci lymfocytů, avšak u pacientů s celiakií je ve sliznici přítomen jen v nízkých hodnotách. Roli Th_1 diferenciaci zastávají IL-15 s $IFN-\alpha$ (Monteleone, Pender et al. 2001). IL-15 aktivuje intraepitelové lymfocyty k produkci $IFN-\gamma$, a tím zvyšuje jejich toxicitu a přispívá k poškození epitelu (Meresse, Chen et al. 2004). Dendritické buňky izolované ze střevní sliznice pacientů s celiakií postrádají IL12p40, ale zvýšeně exprimují IL-18 a $IFN-\alpha$ (Di Sabatino, Pickard et al. 2007). Navíc $IFN-\alpha$ reguluje produkci prozánětlivých cytokinů $IFN-\gamma$ a $TNF-\alpha$ prostřednictvím aktivovaných T - lymfocytů ve střevě a je příčinou hyperproliferace buněk v střevních kryptách (Monteleone, Pender et al. 2001).

Samotné peptidy p31 - 43 α - gliadinu jsou ale také schopny působit jako stresové signály pro enterocyty, u nichž indukují expresi neklasických molekul MHC I. třídy (MIC) a IL-15. IL-15 napomáhá proliferaci a infiltraci $CD8^+$ intraepiteliálních lymfocytů (IEL) do epitelu a

aktivuje u nich expresi NK receptoru NKG2D (natural - killer - cell marker) a CD 94 (Hue, Mention et al. 2004).

IEL s NKG2D interagují s enterocyty nesoucími neklasické MHC molekuly (MIC-A), které zabíjejí cestou indukci apoptózy. Z toho plyne, že nízká exprese těchto povrchových molekul epitelové buňky chrání. MIC-A a HLA-E mohou být indukovány také infekcí (Jabri, de Serre et al. 2000).

Apoptóza enterocytů se současným narušením struktur těsných spojů vede ke zvýšené permeabilitě epitelu, a tím snadnějšímu průchodu dalších glutenových peptidů. To má za následek destrukci epitelu, atrofii klků a zhoršování onemocnění (Catassi and Fasano 2008).

Bylo zjištěno, že peptidické fragmenty gliadinu mají schopnost v přítomnosti INF- γ stimulovat myší peritoneální makrofágy k produkci cytokinů a oxidu dusnatého (NO) a jsou tedy odpovědné za patogenní aktivaci přirozené imunity u celiakie (Tuckova, Novotna et al. 2002). Totéž se potvrdilo ve studii s lidskou monocytární linií THP - 1, kdy tyto buňky také produkovaly prozánětlivé cytokiny (IL - 8 a TNF - α) v přítomnosti gliadinových fragmentů a INF- γ (Jelinkova, Tuckova et al. 2004). Pro lepší pochopení role přirozené imunity v celiakii byla vypracována další studie se skupinou pacientů. Cílem bylo porovnat lidské monocyty izolované z periferní krve v odpovědi na gliadin. Do pokusu byli zařazeni jednak zdraví jedinci, pacienti s aktivní celiakií a také pacienti na bezlepkové dietě. Výsledkem bylo zjištění ze gliadinové fragmenty mají schopnost aktivovat monocyty pacientů k vyšší produkci prozánětlivých cytokinů a chemokinů, pokud jsou fragmenty vystavovány HLA - DQ2 komplexem. Gliadin také aktivuje fenotypovou a funkční maturaci dendritických buněk, a tím dochází k aktivaci adaptivní imunity (Cinova, Palova-Jelinkova et al. 2007).

Gliadin tedy přispívá k stimulaci a aktivaci monocytů a dendritických buněk. Ty následně prezentují gliadinové peptidy specifickým T - lymfocytům a zvyšují aktivaci přirozené imunity, která touto cestou podporuje rozvoj celiakie (Cinova, Palova-Jelinkova et al. 2007).

5. Asociace s jinými chronickými chorobami

Výskyt autoimunitních chorob u pacientů s celiakií je ve srovnání s běžnou populací vyšší (Viljamaa, Kaukinen et al. 2005).

Autoimunitní onemocnění se projevuje, buď jako specifická imunitní odpověď proti určitému buněčnému typu, nebo se reaktivita dotýká širšího spektra různých buněk a tkání. Není vždy zřejmé, co stojí na počátku přehnané imunitní reaktivity, je však jasné, že důležitou úlohu hrají faktory vnější i vnitřní.

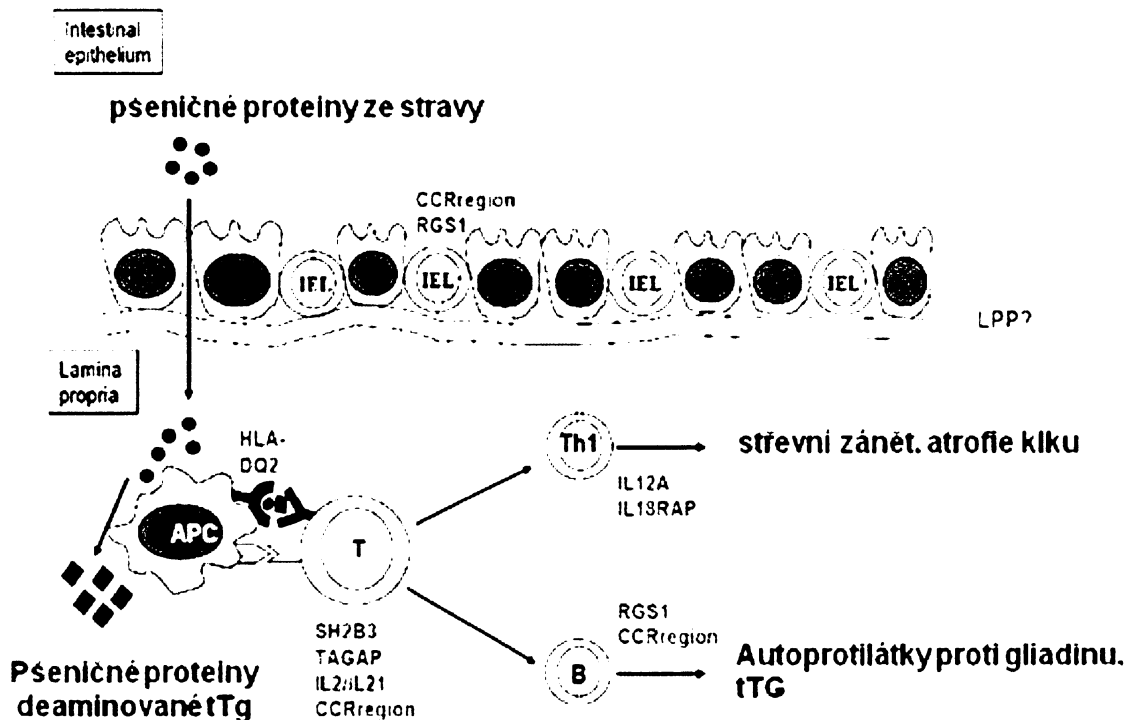
Existuje množství genů a jejich genových variant zahrnutých v imunitních funkcích, které buď chrání, nebo predisponují daného jedince k rozvinutí onemocnění jako je celiakie, roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, systémový lupus erythematosus, diabetes I. typu. (Lettre and Rioux 2008)

Celiakie, jako komplexní multigenní dědičné onemocnění, by proto měla být podrobena identifikaci genetických variant v genomu, které předurčují dispoziční k této nemoci. Značným pokrokem bylo popsání chromozomálních oblastí obsahujících podezřelá místa. Hlavní gen se silným vlivem na vznik onemocnění - HLA-DQ2 a HLA-DQ8, jehož genetické i funkční vlastnosti již byly plně popsány, je jen částí v celé dědičnosti celiakie. Některé další predispoziční geny se slabším vlivem byly identifikovány z CD28/CTLA4/ICOS genového seskupení v 300 kb dlouhém úseku chromozomu 2q33 (regulační geny T – lymfocytů). Polymorfizmy primárně způsobující toto onemocnění se objevují i u dalších komplexních chorob (např. jako je Crohnova choroba, astma) (Heap and van Heel 2009). Objevení genů odpovědných za vznik celiakie bude zásadním řešením pro zlepšení diagnostiky, lepšího zacílení terapie a hlavně pro celkové porozumění autoimunitním onemocněním. Tuto slibnou strategii studia genomových variant rozvíjí „Genome Wide Association Studies“ – GWAS.

5.1. „Genome Wide Association Studies“ – GWAS

Silnou stránkou strategie GWAS je identifikace genetických variant napříč celým lidským genomem a to nezávislým způsobem a možnost zpracovávat početné kohorty pacientů. U autoimunitních onemocnění je velice důležité zahrnutí genů působících v adaptivní i přirozené imunitě a nalezení a potvrzení kauzálních variant.

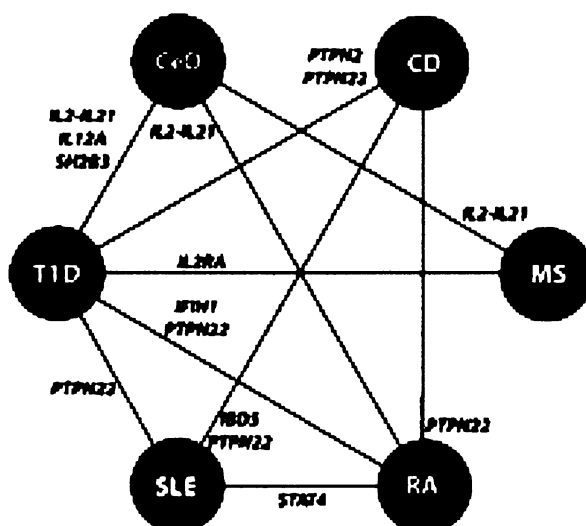
Z osmi genových oblastí nedávno určených pro vnímavost k celiakii, které leží mimo HLA oblast, jich sedm má jasnou úlohu v imunitních funkcích. Identifikované dráhy zahrnují chemokiny, cytokiny a B-, T- buněčnou aktivaci, a tím řídí kritické kroky nutné pro plný vývoj celiakie (obr. č. 2).



Obrázek č. 2. Model imunitní odpovědi na gluten u celiakie a místa působení genů vnímavosti pro celiakii (Dubois and van Heel 2008). (upraveno)

To je také částečné vysvětlení, proč u všech jedinců s HLA-DQ2 (nebo HLA-DQ8) se nevyvine celiakie. Určitý vliv mají ještě vnější faktory (Hunt, Zhernakova et al. 2008).

Zajímavým zjištěním je skupina genů ležících ve stejné oblasti a určujících riziko vzniku autoimunitních chorob a jejich vzájemných asociací (obr. 3).



Obr. č. 3. Zobrazení překryvu genových míst s rizikem vzniku onemocnění jako je celiakie (CeD), Crohnova choroba (CD), roztroušená skleróza (MS), revmatoidní artritida (RA), systémový lupus erythematosus (SLE) a diabetes I. typu (T1D). V obrázku nejsou zahrnuty varianty v MHC oblastech, i když jsou asociovány s těmito chorobami (Lettre and Rioux 2008).

5.2. Známé geny související s celiakií

Nové pokroky v imunologickém a genetickém výzkumu celiakie poskytují celkový pohled na toto chronické zánětlivé onemocnění střev. Oba přístupy potvrzují důležitost T - buněčné odpovědi spolu s dalšími souvisejícími složkami slizničního imunitního systému včetně přirozené imunity a kontroly lymfocytární migrace do sliznice v patogenezi onemocnění (Dubois and van Heel 2008)(Obr. č. 2).

Oblast IL2 - IL21

Cytokiny interleukin - 2 a interleukin - 21 mají rozmanité a rozdílné role v imunitních odpovědích. IL-2 má velmi dobře definovanou autokrinní funkci. Stimuluje aktivaci a proliferaci T - buněk, ale také může podporovat proliferaci NK buněk a B - buněčnou tvorbu imunoglobulinů. Má unikátní roli v indukci buněčné smrti - procesu, který eliminuje autoreaktivní T - buňky, a v podpoře CD4⁺ CD25⁺ regulačních T - buněk (T - reg).

IL-21 bývá zvýšen ve sliznici tenkého střeva u neléčených pacientů. Je sekretován hlavně CD4⁺ T - buňkami a má prozánětlivý účinek současně se zvýšením proliferace B -, T - a NK buněk. Anti - IL12 protilátky podané v ex - vivo modelu střevní biopsie snížily množství T - buněk a expresi IFN- γ . Je tedy je zřejmé, že IL-21 má zásadní postavení v udržování T_H1 aktivity u celiakie (Fina, Sarra et al. 2008).

Oblast RGS1

Oblast RGS1 je obzvláště zajímavá u celiakie, jelikož jejím produktem je protein selektivně přítomný v intraepiteliálních lymfocytech, kde RGS1 reguluje G - proteinovou signalizační aktivitu a migrační schopnosti IEL.

Oblast 3p21

Varianty v CCR oblastech chemokinového receptoru ovlivňují důležitost v migraci efektorových imunitních buněk k místům zánětu.

IL12A a IL18RAP

IL-12 má vliv na diferenciaci T_H1 buněk sekretujících INF- γ . Ačkoliv celiakie je charakterizovaná silnou T_H1 odpovědí, IL-12p40 není překvapivě produkován ve sliznicích pacientů ani po podání stimulační dávky glutenu.

Pro T_H1 fenotyp CD41⁺ T - buněk u celiakie je důležitý IFN- α a IL-18. Transkripty IL - 18 jsou silně expresovány v tenkém střevě. Gen IL18RAP identifikovaný organizací GWAS kóduje β řetězec receptoru IL - 18.

SH2B3 oblast

Gen SH2B3 je aktivován v buňkách imunitního systému, zvýšeně ve sliznici celiaků. Jeho funkce je regulace receptorů T - buněk, růstového faktoru a cytokinových receptorů zprostředkovaných signalizací.

TAGAP

Tento gen je transkribován v aktivovaných T - buňkách, kde reguluje cytoskelet.

Identifikace kauzálních variant v nově objevených genových oblastech a jejich funkční objasnění je hlavní prioritou budoucího výzkumu. Detailnější pochopení drah a jejich možnosti ovlivnění v sobě skrývá terapeutické řešení. Ačkoliv bezpečná a efektivní léčba již existuje, dlouhotrvající imunomodulace některých těchto drah by mohla pomoci v prevenci incidence celiakie a dalších podobně souvisejících nemocí jako je diabetes I. typu (Dubois and van Heel 2008).

5.3. Asociace některých zánětlivých a autoimunitních chorob s celiakií

Prevalence autoimunitních onemocnění u pacientů s celiakií narůstá s dobou, kdy nedodržovali bezlepkovou dietu (Ventura, Magazzu et al. 1999). Je prokázána asociace výskytu celiakie s autoimunitní formou diabetu. Incidence je mezi pacienty s celiakií 5 – 10 %, kdežto v normální populaci je výskyt autoimunitní formy diabetu jen 0,5 – 1,5 % (Kucera, Novakova et al. 2003). Prospěšnost bezlepkové diety na vývoj diabetu byla testována u NOD myšší, kde tato dieta dokázala účinně snížit nebo zpozdit rozvoj diabetu (Funda, Kaas et al. 1999).

Dále je u pacientů s celiakií častý výskyt asociace s autoimunitní tyreoiditidou. Na základě nových vědeckých poznatků existuje domněnka, že protilátky proti sérové transglutamináze mají vliv na vznik dysfunkce tyroidní žlázy (Duntas 2009).

Nejzajímavější je asociace celiakie s neurologickými a psychiatrickými chorobami.

5.4. Neurologické a psychiatrické komplikace u celiakie

Ludvigsson et al. (2007) se zaměřil na skupinu 14 000 pacientů s celiakií a vypracoval retrospektivní studii neurologických potíží za použití Švédského národního registru. Zjistil některé asociace s periferní neuropatií, Parkinsonovou chorobou, Huntingtovou chorobou, myastenii gravis, spinální svalovou atrofií a roztroušenou sklerózou, ale u ataxie tato asociace ani dědičně ani ojediněle neplatila. Retrospektivní studie nebývají vždy bez nepřesností, ale jsou dobrým začátkem k získání dat běžné populace.

Základní komplikace, která je projevem aktivní celiakie, je špatné vstřebání živin. Následná dlouhodobější malaabsorbce by mohla mít vysvětlení pro větší sklon těchto pacientů k některým neurologickým komplikacím. Je známá deficiencie vitamínu B 12 vedoucí k myelopatii, nebo chybějící dostatečné množství vitamínu E u cerebelární ataxie a myopatie.

Z mnoha provedených studií u pacientů s ataxií vyplývá, že se toto neurologické onemocnění vyskytuje častěji u pacientů s pozitivními hladinami protilátek IgG AGA (protilátka proti gliadinu) než u kontrolních skupin (Hadjivassiliou, Sanders et al. 2008). Některé studie tomu však odporují tím, že nenašly žádný vztah mezi celiakií, AGA a ataxií, ale tato sledování probíhala pouze ve velmi malých skupinách jen s desítkami sledovaných pacientů.

Rozhodující může být také to, že studie prováděné na pacientech ve specializovaných neurologických zařízeních vykazují mnohem více případů celiakie než je tomu u pacientů přicházejících do ordinací neurologů. Neexistuje zatím dostatečně velké množství dat popisujících prevalenci u velké skupiny běžné populace.

Problémem se stává i to, že se různé definice celiakie u jednotlivých studií a glutenová senzibilita. Stanovení AGA má nízkou senzitivitu a specifitu v porovnání s biopsií, i když je velice užitečná pro snadné zhodnocení bezlepkové diety.

Kromě ataxie je s celiakií sdružena také periferní neuropatie. Někdy se střevní příznaky objeví až několik let po prvních projevech neuropatie. Na druhé straně jsou

pacienti, kteří mají projevy celiakie již před tím, než je u nich diagnostikována s neuropatií (Grossman 2008).

Jasný vztah mezi celiakií a epilepsií není také ještě vysvětlen. Opět je prevalence epilepsie vyšší u celiaků než v běžném vzorku populace. Někteří autoři předpokládají, že gluten je neurotoxický, zatímco jiní přikládají význam k deficiencím folátu a pyridoxinu, které mohou snižovat záchvatový práh. Pokud by byl ale gluten neurotoxický, bezlepková dieta by snižovala riziko epilepsie či snížila počet záchvatů (Pengiran Tengah, Holmes et al. 2004).

Glutenová senzitivita neboli zvýšené hodnoty AGA samy o sobě mohou potvrdit onemocnění nemocí, nebo mohou být považovány jako rizikový faktor pro vznik neurologických komplikací. 10 – 20 % zdravých jedinců může mít v séru přítomné AGA bez jakéhokoliv klinického významu.

Je pravděpodobné, že neurologické komplikace se vyskytují jako autoimunitní fenomén způsobený celiakií. Vedle celiakie také další autoimunitní onemocnění, jako je systémový lupus erythematosus, revmatoidní artritida a Sjogrenův syndrom, jsou spojovány s neurologickými obtížemi. Ačkoliv samotná celiakie je primárně T - buněčně zprostředkovaná, mohou se objevovat autoprotlátky, které zkříženě reagují s cerebelárními antigeny (Grossman 2008).

K extraintestinálním klinickým manifestacím celiakie se zařazují také psychiatrické nemoci. V literatuře jsou depresivní stavy u některých pacientů s celiakií popisovány již od 80. let minulého století. Dnes se předpokládá, že asociace s celiakií je i u autismu, úzkostných psychóz, schizofrenie a mentální anorexie (Addolorato, Leggio et al. 2008).

5.5. Intolerance glutenu a kožní onemocnění

Dermatitis herpetiformis (nebo jinak nazýváno Dühringova dermatitida) je kožním projevem celiakie a může postihnout až 25 % pacientů (Collin and Reunala 2003). I když všichni pacienti nemusí mít všechny klinické symptomy, je incidence lymfomu u těchto

pacientů s dermatitis herpetiformis vyšší stejně jako u pacientů se střevními projevy. Proto je doporučována bezlepková dieta.

V posledních letech byl zkoumán vztah mezi celiakií a onemocněním kůže, protože glutenová intolerance zvyšuje paletu dermatologických problémů, které se zlepšují po bezlepkové dietě.

Dermatitis herpetiformis je jediné kožní onemocnění s prokázanou asociací s celiakií. Další onemocnění jako je alopecia areata, dermatomyositis, cutaneous vasculitis, urticaria, atopická dermatitida, prurigo nodularis, psoriáza zaznamenávají zlepšení při bezlepkové dietě (Humbert, Pelletier et al. 2006).

5. Závěr

Celiakie je autoimunitní a dědičné onemocnění s 1 % prevalencí v populaci. Toto onemocnění je unikátní tím, že jako u jediného je znám jeho primární vnější spouštěč – gluten. Narůstající počet nově diagnostikovaných pacientů v posledních letech stoupá díky novým možnostem sérologického screeningu a také právě rozpoznáním atypických příznaků u většiny dospělých. Celiakie bývá často asociována s mnoha dalšími chronickými a autoimunitními chorobami. Časná diagnostika a léčba celiakie má protektivní potenciál v oddálení či prevenci vzniku dalších asociovaných onemocnění

Cílem mnoha vědeckých studií je rozluštění vnitřních a vnějších faktorů přispívajících ke vzniku onemocnění. Již známé genetické faktory u tohoto onemocnění vysvětlují jeho vznik pouze částečně (nově objevené genetické varianty mimo HLA oblast vysvětlují vznik celiakie v 3-4% plus cca 35 % určují varianty v HLA oblasti).

Úplné pochopení genetického pozadí a provázanosti s dalšími onemocněními spolu s podstatou patogenetických mechanismů by bylo pro budoucí léčbu velice prospěšné.

6. Seznam citované literatury

- Addolorato, G., L. Leggio, et al. (2008). "Affective and psychiatric disorders in celiac disease." Dig Dis **26**(2): 140-8.
- Bettendorf, M., H. G. Doerr, et al. (2006). "Prevalence of autoantibodies associated with thyroid and celiac disease in Ullrich-Turner syndrome in relation to adult height after growth hormone treatment." J Pediatr Endocrinol Metab **19**(2): 149-54.
- Cataldo, F., V. Marino, et al. (1997). "Celiac disease and selective immunoglobulin A deficiency." J Pediatr **131**(2): 306-8.
- Catassi, C. and A. Fasano (2008). "Celiac disease." Curr Opin Gastroenterol **24**(6): 687-91.
- Cinova, J., L. Palova-Jelinkova, et al. (2007). "Gliadin peptides activate blood monocytes from patients with celiac disease." J Clin Immunol **27**(2): 201-9.
- Collin, P. and T. Reunala (2003). "Recognition and management of the cutaneous manifestations of celiac disease: a guide for dermatologists." Am J Clin Dermatol **4**(1): 13-20.
- D'Amico, M. A., J. Holmes, et al. (2005). "Presentation of pediatric celiac disease in the United States: prominent effect of breastfeeding." Clin Pediatr (Phila) **44**(3): 249-58.
- Di Sabatino, A., K. M. Pickard, et al. (2007). "Evidence for the role of interferon-alfa production by dendritic cells in the Th1 response in celiac disease." Gastroenterology **133**(4): 1175-87.
- Dubois, P. C. and D. A. van Heel (2008). "Translational mini-review series on the immunogenetics of gut disease: immunogenetics of coeliac disease." Clin Exp Immunol **153**(2): 162-73.
- Duntas, L. H. (2009). "Does celiac disease trigger autoimmune thyroiditis?" Nat Rev Endocrinol **5**(4): 190-1.
- Fasano, A., I. Berti, et al. (2003). "Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study." Arch Intern Med **163**(3): 286-92.
- Fina, D., M. Sarra, et al. (2008). "Interleukin 21 contributes to the mucosal T helper cell type 1 response in coeliac disease." Gut **57**(7): 887-92.

- Funda, D. P., A. Kaas, et al. (1999). "Gluten-free diet prevents diabetes in NOD mice." Diabetes Metab Res Rev **15**(5): 323-7.
- Goh, C. and K. Banerjee (2007). "Prevalence of coeliac disease in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus in a clinic based population." Postgrad Med J **83**(976): 132-6.
- Green, P. H. and B. Jabri (2003). "Coeliac disease." Lancet **362**(9381): 383-91.
- Grossman, G. (2008). "Neurological complications of coeliac disease: what is the evidence?" Pract Neurol **8**(2): 77-89.
- Hadjivassiliou, M., D. S. Sanders, et al. (2008). "Gluten ataxia." Cerebellum **7**(3): 494-8.
- Hausch, F., L. Shan, et al. (2002). "Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **283**(4): G996-G1003.
- Heap, G. A. and D. A. van Heel (2009). "Genetics and pathogenesis of coeliac disease." Semin Immunol.
- Hue, S., J. J. Mention, et al. (2004). "A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease." Immunity **21**(3): 367-77.
- Humbert, P., F. Pelletier, et al. (2006). "Gluten intolerance and skin diseases." Eur J Dermatol **16**(1): 4-11.
- Hunt, K. A., A. Zhernakova, et al. (2008). "Newly identified genetic risk variants for celiac disease related to the immune response." Nat Genet **40**(4): 395-402.
- Husby, S., N. Foged, et al. (1987). "Passage of dietary antigens into the blood of children with coeliac disease. Quantification and size distribution of absorbed antigens." Gut **28**(9): 1062-72.
- Jabri, B., N. P. de Serre, et al. (2000). "Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E-specific natural killer receptor CD94 in celiac disease." Gastroenterology **118**(5): 867-79.
- Jelinkova, L., L. Tuckova, et al. (2004). "Gliadin stimulates human monocytes to production of IL-8 and TNF-alpha through a mechanism involving NF-kappaB." FEBS Lett **571**(1-3): 81-5.
- Kucera, P., D. Novakova, et al. (2003). "Gliadin, endomysial and thyroid antibodies in patients with latent autoimmune diabetes of adults (LADA)." Clin Exp Immunol **133**(1): 139-43.

- Lettre, G. and J. D. Rioux (2008). "Autoimmune diseases: insights from genome-wide association studies." Hum Mol Genet **17**(R2): R116-21.
- Ludvigsson, J. F., T. Olsson, et al. (2007). "A population-based study of coeliac disease, neurodegenerative and neuroinflammatory diseases." Aliment Pharmacol Ther **25**(11): 1317-27.
- Meresse, B., Z. Chen, et al. (2004). "Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease." Immunity **21**(3): 357-66.
- Monteleone, G., S. L. Pender, et al. (2001). "Role of interferon alpha in promoting T helper cell type 1 responses in the small intestine in coeliac disease." Gut **48**(3): 425-9.
- Monteleone, G., S. L. Pender, et al. (2001). "Interferon-alpha drives T cell-mediated immunopathology in the intestine." Eur J Immunol **31**(8): 2247-55.
- Norris, J. M., K. Barriga, et al. (2005). "Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease." JAMA **293**(19): 2343-51.
- Pengiran Tengah, D. S., G. K. Holmes, et al. (2004). "The prevalence of epilepsy in patients with celiac disease." Epilepsia **45**(10): 1291-3.
- Rashid, M., J. D. Butzner, et al. (2009). "Home blood testing for celiac disease: recommendations for management." Can Fam Physician **55**(2): 151-3.
- Sanz, Y., E. Sanchez, et al. (2007). "Differences in faecal bacterial communities in coeliac and healthy children as detected by PCR and denaturing gradient gel electrophoresis." FEMS Immunol Med Microbiol **51**(3): 562-8.
- Saurer, L. and C. Mueller (2009). "T cell-mediated immunoregulation in the gastrointestinal tract." Allergy **64**(4): 505-19.
- Scarpellini, E., A. Cazzato, et al. (2008). "Probiotics: which and when?" Dig Dis **26**(2): 175-82.
- Shamaly, H., C. Hartman, et al. (2007). "Tissue transglutaminase antibodies are a useful serological marker for the diagnosis of celiac disease in patients with Down syndrome." J Pediatr Gastroenterol Nutr **44**(5): 583-6.
- Shan, L., O. Molberg, et al. (2002). "Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue." Science **297**(5590): 2275-9.
- Schaedler, R. W., R. Dubos, et al. (1965). "The Development of the Bacterial Flora in the Gastrointestinal Tract of Mice." J Exp Med **122**: 59-66.

- Schneeberger, E. E. and R. D. Lynch (2004). "The tight junction: a multifunctional complex." Am J Physiol Cell Physiol **286**(6): C1213-28.
- Sollid, L. M. (2002). "Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder." Nat Rev Immunol **2**(9): 647-55.
- Stepanková, R., O. Kofronova, et al. (2003). "Experimentally induced gluten enteropathy and protective effect of epidermal growth factor in artificially fed neonatal rats." J Pediatr Gastroenterol Nutr **36**(1): 96-104.
- Tlaskalova-Hogenova, H., R. Stepankova, et al. (2004). "Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases." Immunol Lett **93**(2-3): 97-108.
- Tlaskalova-Hogenova, H., et al. (2007). "Gluten and chronic diseases: inflammatory activity of gluten." Old Herborn University Seminar Monograph
- Tlaskalova-Hogenova, H., et al. (1999). "Malignancy in coeliac disease and dermatitis herpetiformis." Cancer and Autoimmunity 409-414
- Tuckova, L., J. Novotna, et al. (2002). "Activation of macrophages by gliadin fragments: isolation and characterization of active peptide." J Leukoc Biol **71**(4): 625-31.
- Vancikova, Z., V. Chlumecky, et al. (2002). "The serologic screening for celiac disease in the general population (blood donors) and in some high-risk groups of adults (patients with autoimmune diseases, osteoporosis and infertility) in the Czech republic." Folia Microbiol (Praha) **47**(6): 753-8.
- Ventura, A., G. Magazzu, et al. (1999). "Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease." Gastroenterology **117**(2): 297-303.
- Viljamaa, M., K. Kaukinen, et al. (2005). "Coeliac disease, autoimmune diseases and gluten exposure." Scand J Gastroenterol **40**(4): 437-43.
- Wieser, H. (2007). "Chemistry of gluten proteins." Food Microbiol **24**(2): 115-9.