

Choroby způsobené lepkem

P. Frič, M. Zavoral, T. Dvořáková

Interní klinika 1. lékařské fakulty UK a ÚVN – Vojenské fakultní nemocnice Praha, přednosta prof. MUDr. Miroslav Zavoral, Ph.D.

Souhrn: Zavedení výrobků z obilovin do lidské výživy před 10 000 roky vytvořilo podmínky pro vznik chorob způsobených lepkem. Tento bílkovinný komplex je patogenním faktorem alergie na pšenici, celiakie a citlivosti k lepku. Alergie na pšenici a celiakie jsou zprostředkovány systémem adaptivní imunity. Citlivost na lepek je nově definovaná jednotka způsobená aktivací vrozené imunity bez účasti adaptivní imunity. Tito nemocní mají různé střevní a zejména mimostřevní symptomy. Rozdíly mezi citlivostí na lepek a celiakií jsou v permeabilitě střevní slizniční bariéry, histologii střevní biopsie a expresi genů slizniční imunity. Projevy citlivosti na lepek mohou pravděpodobně mít i jiné genetické pozadí potravinové intolerance, odlišné od celiakie a nezávislé na tkáňové transglutamináze a HLA-DQ2, -DQ8 (např. u psychopatií). V současné době nemá citlivost na lepek žádný specifický biomarker. Diagnostika je možná pouze vyloučením jiných příčin symptomů a jejich ústupem při bezlepkové dietě podávané dvojité slepou a placebem kontrolovanou metodou s náhodným pořadím obou etap k vyloučení placebového efektu potravinové intervence.

Klíčová slova: lepek – alergie na pšenici – celiakie – citlivost na lepek – vrozená a adaptivní imunita

Gluten induced diseases

Summary: The introduction of cereals in human nutrition 10 000 years ago caused the occurrence of gluten induced diseases. This protein complex is involved in pathogenesis of wheat allergy, celiac disease, and gluten sensitivity. Wheat allergy and celiac disease are mediated by the system of adaptive immunity. Gluten sensitivity is a recently defined entity induced by innate immune mechanisms. These subjects present various intestinal and particularly extraintestinal symptoms. The differences between celiac disease and gluten intolerance include permeability of the intestinal mucosal barrier, histology of duodenal biopsy, and mucosal gene expression. The symptoms of gluten sensitivity may also have another genetic background of food intolerance independent of the HLA-DQ2, -DQ8 system and tissue transglutaminase (eg. in some psychiatric disorders). At present, there is no specific biomarker of gluten sensitivity. The diagnosis is possible only by exclusion of other causes of symptoms and improvement on a gluten-free diet applied in a double-blind placebo controlled manner with optional sequence of both stages to exclude the placebo effect due to nutritional intervention.

Key words: gluten – wheat allergy – celiac disease – gluten sensitivity – innate and adaptive immunity

Úvod

Lepek (gluten) je bílkovinný komplex obilných zrn. Obiloviny byly zavedeny do lidské výživy jako poslední základní potravinová složka. Jejich pěstování začalo před 8 000–10 000 roky v oblasti tzv. „úrodného půlměsíce“, která zahrnuje část asijského Turecka, Iráku a Íránu. Zavedení obilovin vytvořilo podmínky pro vznik chorob spojených s expozicí lidského organismu lepku. Lepek obsahuje ze všech rostlinných bílkovin nejvyšší koncentraci glutaminu a prolinu. Obsah lepku je nejvyšší v pšenici (glutamin 30–35 %, prolin 15–18 %) a v sestupném pořadí následují žito, ječmen a oves. Dvě hlavní peptidové frakce lepku jsou gliadiny (rozpustné v 70 % etanolu) a gluteniny (nerozpustné v 70 % etanolu). Všechny peptidové vazby s prolinem jsou obtížně štěpitelné digestivními proteá-

zami člověka. Obě frakce lepku obsahují peptidy, jejichž aminokyselinové sekvence identifikuje imunitní systém některých geneticky disponovaných jedinců jako „cizí“ („non-self“) a reaguje na ně imunogenní reakcí (tvorbou protilátek). Genom některých osob se dosud zcela neadaptoval v průběhu všech generací od zavedení obilovin do lidské výživy na přítomnost lepku a z tohoto pohledu lze považovat obiloviny za „evoluční omyl“.

Reakce imunitního systému na peptidy lepku je různá a podle ní se liší vzniklé choroby. Alergie na lepek (pšenici, wheat allergy) a celiakie jsou zprostředkovány systémem adaptivní (specifické) imunity s aktivací T buněk ve střevní sliznici. Poruchy mechanismů vrozené (nespecifické) imunity jsou považovány za příčinu další chorobné jednotky způsobené nesnášenlivostí

lepku a označované jako citlivost na lepek (gluten sensitivity). Toto sdělení je přehledem specifických znaků chorob způsobených lepkem, jakož i změn a nových možností vyplývajících z definice citlivosti na lepek.

Alergie na lepek (pšenici)

Je definována jako nepříznivá imunologická reakce na bílkoviny pšenice. Hlavní úloha v její patogenезi přísluší IgE imunoglobulinům, které reagují s opakovanými sekvencemi glutaminu a prolinu v peptidech vzniklých štěpením lepku. Tato vazba vede k uvolňování chemických mediátorů, např. histaminu z bazofilů a žírných buněk. Příznaky se objevují během minut až hodin po setkání s antigenem. Projevy alergie na lepek se liší podle expozice alergenem a základního imunologického mechanismu. Hlavní formy

Tab. 1. Cytotoxické účinky gliadinu.

- aglutinační aktivita
- snížení obsahu F-aktinu
- inhibice buněčného růstu
- indukce apoptózy
- změny rovnováhy redox-systému (buněčný stres)
- porucha integrity těsných spojení

jsou **potravinová alergie, profesionální astma pekařů a rinitida**.

Nejzávažnější formou potravinové alergie je **anafylaxe vyvolaná fyzickou aktivitou (wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis)**, která je způsobena gliadiny frakce ω -5. Hlavními alergeny jsou 4 heptapeptidy s glutaminem v poloze 1, 5, 6, 7 a s prolinem v poloze 4, které jsou kritické pro vazbu na IgE [1]. Dalšími formami jsou **atopická dermatitida, kopřivka a anafylaktická reakce**, které jsou způsobeny různými frakcemi gliadinů nebo jinými bílkovinami pšenice. Základní diagnostickou metodou alergie na pšenici jsou kožní testy.

Astma pekařů a rinitida jsou dobře známé profesionální infekce na vdechování mouky a obilných prachů. Diagnostika je založena na kožních testech průkazu specifických IgE protilátek. Výskyt se zvyšuje s dobou zaměstnání. U této afekce jsou nejvýznamnějšími alergeny inhibitory α -amylázy. Jako další imunogenní peptidy byly zjištěny aglutinin, peroxidáza a nespecifické transportní proteiny lipidů.

Celiakie

Celiakie je hereditární autoimunitní onemocnění dětí a dospělých ve všech zemích světa způsobené celoživotní nesnášenlivostí lepku. Na rozdíl od řady jiných autoimunitních chorob známe spouštěč (lepek), těsnou genetickou vazbu (HLA antigeny -DQ2 a -DQ8 lokalizované na chromozomu 6p21) a primární autoantigen (autoproti-látky ke tkáňové transglutamináze). Celiakie je multifaktoriální choroba s interakcemi genetických a environ-

mentálních příčin. V její patogenezi se uplatňuje nejen genetická dispozice, ale také kojení a výživa dítěte v prvním roce života, vývoj střevního mikrobiálního systému, gastrointestinální infekce a další vlivy. Změny genomu byly zjištěny v řadě lokalizací, a to i mimo HLA systém. Tyto změny se uplatňují zejména ve fenotypu choroby a jednotlivě mají menší význam než HLA geny.

Genotyp HLA-DQ2 a -DQ8 je v řadě populací (včetně bělošské) mnohem vyšší (v české populaci 20–30 %) než výskyt celiakie (jen asi 5 % z tohoto podílu). Z toho vyplývá, že genetická dispozice sama o sobě k vzniku celiakie nestačí. Rozhodující pro vznik celiakie je zvýšený paracelulární transport makromolekul přes těsná spojení, která spolu s enterocyty vytvářejí slizniční bariéru tenkého střeva. Ta je v lidském organismu největším rozhraním mezi zevním a vnitřním prostředím, rozhraním s plochou odpovídající velikosti tenisového kurtu. Asi 10 % všech látek včetně makromolekul se vstřebává mechanismem paracelulárního transportu bez předchozí digesce. Těsná spojení jsou složitou strukturou více než 50 bílkovin, v níž rozhodující úlohu má peptid **zonulin**, strukturní analog toxinu zonula occludens *Vibrio cholerae*. Zonulin byl chemicky identifikován jako pre-haptoglobin 2 a je součástí systému vrozené imunity. Zonulin má rozhodující úlohu v regulaci permeability těsných spojení, kterou upravuje rychle, selektivně a reprodukovatelným způsobem. Jeho exprese s následným zvýšením permeability způsobují změny střevních mikrobiotů (dysbióza), viry (zejména rotaviry a enteroviry), potravinové antigeny (např. peptidy lepku), toxiny, alkohol, poruchy výživy a další vlivy. Celiakie je multifaktoriální choroba s interakcí různých vlivů genetických a prostředí.

V současnosti se ukazuje, že rostoucí počet chorob je spojen se zvýšením střevní propustnosti způsobené změnami struktury těsných spojení. Patří k nim vedle celiakie další autoimunitní choroby (diabetes 1. typu, revma-

toidní artritida, roztroušená skleróza), jakož i choroby s jinou patogenezi. Těsná spojení umožňují u těchto chorob pasáž antigenů různého původu ze střevního obsahu do vnitřního prostředí. Imunitní systém je tak nucen k produkci imunitní odpovědi, která může mít u geneticky disponovaného jedince jakýkoliv cílový orgán nebo tkáň. Těsná spojení se tak mohou podílet také na vývoji alergie, zánětů (včetně infekčních chorob) a malignity [2,3].

Hlavním antigenním komplexem lepku je gliadin, který je prokazatelně cytotoxický (tab. 1). Gliadinové peptidy mají více než 50 epitopů stimulujících T-lymfocyty. Digestivní proteázy hydrolyzují gliadinové peptidy v omezeném rozsahu. Nejvíce imunogenní je 33-mer gliadinový peptid tvořený aminokyselinami v poloze 57–89, který není štěpitelný žádnou digestivní proteázou člověka a reaguje s makrofágy střevní sliznice. Změny v intraluminální digesti gliadinových peptidů, změny střevní permeability a aktivace vrozené imunity předcházejí aktivaci adaptivní imunity.

Symptomatologie celiakie se mění v závislosti na věku nemocného. Typické střevní příznaky se vyskytují v současnosti převážně jen u malých dětí (do 3 let): průjemy, steatorea, břišní koliky, zástava růstu, střídání nálad, deficit svalové hmoty, prominující břicho. U školních dětí je v popředí opožděný psychosomatický vývoj, chudokrevnost a malnutrice. V pubertě mohou příznaky ustoupit i u neléčené celiakie. V dospělosti se však znovu objeví, nejčastěji mezi 25.–40. rokem, často v závislosti na tzv. spouštěcích mechanismech: infekční choroba, úraz, psychický stres, gravidita, porod, laktace.

Diagnostika celiakie doporučená Evropskou společností pro pediatriickou gastroenterologii, hepatologii a výživu (ESPGHAN) v roce 1990 zahrnuje tato kritéria [4]:

1. anamnéza, klinický obraz, autoproti-látky a histologie střevní biopsie jsou kompatibilní s diagnózou,

2. bezlepková dieta vede k úpravě klinického stavu a vymizení autoprotilátů,
3. proband je starší než 2 roky,
4. diferenciální diagnostika vyloučila onemocnění s podobným klinickým obrazem.

Tato kritéria doznala v posledních letech úpravy: v několika souborech bylo zjištěno, že vysoké hodnoty autoprotilátů ke tkáňové transglutamináze jsou pravidelně spojeny s výskytem atrofické formy autoimunitní enteritidy (Marsh 3). Za bezpečnou hranici se považují hodnoty vyšší než 10násobek horní hranice normy [5,6]. Tento vztah byl potvrzen u dětských celiaků, kdežto u dospělých celiaků nejsou výsledky jednoznačné a doporučuje se biopsie zachovat vzhledem k odlišnému obrazu a průběhu choroby [7,8].

Histologická diagnostika celiakie se výrazně liší v počtu intraepiteliálních lymfocytů (IEL), který je považován za zvýšený – a to v rozsahu od více než 25 až do více než 40 na 100 enterocytů v celém rozsahu histologických změn (Marsh 1–4) [9–11]. Tato nejednotnost se dále kombinuje se zjednodušenou metodou hodnocení IEL omezenou na 20 enterocytů vrcholové části 5 náhodně vybraných klků [12,13]. IEL představují fylogeneticky konzervovaný mechanismus vrozené imunity a slouží jako první bariéra ochrany střevního epitelu před cizorodou bílkovinou. Je ovšem možné, že existuje kvantitativní rozdíl tohoto mechanismu při aktivaci jen vrozené imunity a při kombinované aktivaci vrozené i adaptivní imunity (tj. při citlivosti na lepek a při celiakii).

Vzhledem k rozmanitosti klinických nálezů při celiakii je obtížné vytvořit rigidní diagnostický algoritmus. Cataassi a Fasano [14] proto navrhuje kvantitativní přístup. Ten vyžaduje splnění 4 kritérií z 5 při diagnostice celiakie („four of five diagnosis“):

1. typické symptomy,
2. vysoký titr autoprotilátů ke tkáňové transglutamináze,
3. genotyp HLA-DQ2 nebo -DQ8,

Tab. 2. Laboratorní nálezy při celiakii a neceliacké citlivosti na lepek.

	Celiakie	Citlivost na lepek
permeabilita slizniční bariéry (laktulóza/manitol)	↑	normální
histologie duodenální biopsie	Marsh 1 a >	Marsh 0–1
intraepiteliální lymfocyty	↑↑ αβ, γδ	↑ αβ vs kontroly
klaudin 4 (snižuje propustnost)	↓	normální nebo ↑
IL-6, IL-21 (markery adaptivní imunity)	↑	normální
TLR-2 (marker vrozené imunity)	normální	↑↑
IL-17A (cytokin Th17)	↑↑	normální
FOXP3 (marker Treg buněk)	normální	↓↓

IEL – intraepiteliální lymfocyty, ↑ – zvýšení, ↑↑ – významné zvýšení, ↓ – snížení, ↓↓ – významné snížení

4. autoimunitní enteritida – histologický průkaz z biopsie,
5. odpověď na bezlepkovou dietu.

Tento návrh si zaslouží ověření v dalších souborech nemocných celiakií.

Citlivost na lepek

Někteří jedinci mají obtíže při konzumaci potravy obsahující lepek a zlepší se při bezlepkové dietě, ale nelze u nich identifikovat alergické ani autoimunitní mechanismy způsobené lepkem. Jejich obtíže se mohou podobat v různé míře celiakii nebo alergii na lepek. Tito nemocní mohou mít nejen průjemy, ale často také různé extraintestinální symptomy, jako jsou bolesti břicha, ekzém, anémie, bolesti hlavy, deprese, poruchy chování, chronická únava, pokles tělesné hmotnosti, viscerální hypersenzitivita, bolesti kostí a kloubů. U těchto nemocných nejde o alergii na lepek ani o celiakii a lze předpokládat, že v těchto případech vyvolává lepek obtíže jinými patogenetickými mechanismy. Obtíže těchto nemocných se označují jako **neceliacká citlivost na lepek (NCCL)** nebo zkráceně **citlivost (senzitivita) na lepek**. Nemocní NCCL nemají na rozdíl od 1–3% celiaků selektivní deficit celkového IgA. NCCL není provázána na rozdíl od celiakie ji-

nými autoimunitními chorobami. Patogeneze svědčí pro samostatný charakter této jednotky.

Patogeneze

Antigen-prezentující dendritické buňky ve slizniční propři zprostředkují první kontakt mezi antigeny a imunitním systémem. Výsledkem této interakce je orální tolerance antigenu (fyziologická odpověď) nebo ztráta orální tolerance, která způsobuje imunitní odpověď. Tyto interakce vyžadují vysokou diferenciaci epitelu i buněk imunitního systému, mezi nimiž je křehká rovnováha. I její malá porucha (např. přítomnost nedostatečně natráveného gliadinu) může vést k změnám různých funkcí (včetně transportních).

Při NCCL jsou testy střevní propustnosti s laktulózou (paracelulární transport) a manitolem (transcelulární transport) na rozdíl od celiakie normální. To svědčí pro fyziologický stav střevní slizniční bariéry, což dokládají hodnoty komponent zonulinové signální dráhy: normální exprese klaudinu-1 a zonulinu-1. Expese klaudinu-4, který permeabilitu snižuje, je při NCCL dokonce zvýšena, a naopak marker T regulačních buněk FoxP3 je významně snížen. Markery adaptivní imunity a prozánětlivé cytokiny

Tab. 3. Pozitivita sérologických testů (%) při neceliacké citlivosti na lepek (NCCL, n = 78) a při celiakii (n = 80). Podle [18].

	NCCL	celiakie
AGA-IgG	56	81
AGA-IgA	8	71
ADGPA-IgG	1	89
ATG2A-IgA	0	99
AEA-IgA	0	95

AGA – protilátky ke gliadinu, ADGPA – protilátky k deamidovanému gliadinu, ATG2A – autoprotilátky k tkáňové transglutamináze, AEA – autoprotilátky k endomyziu

IL-6, IL-21 a IFN γ jsou zvýšeny ve srovnání s kontrolami u celiakie, ale nikoliv u NCCL. Expres markeru vrozené imunity TLR-2 je naopak zvýšena při NCCL, ale nikoliv při celiakii.

Histologický obraz střevní sliznice při NCCL je normální (Marsh 0) nebo je přítomen ve srovnání s kontrolami zvýšený počet intraepiteliálních lymfocytů (IEL) α a β (Marsh 1). Toto zvýšení je významně nižší než při celiakii, při níž na rozdíl od NCCL jsou navíc přítomny cytotoxické IEL γ a δ . Rozdíly mezi celiakií a NCCL ve střevní permeabilitě, histologii střevní biopsie a expresi genů slizniční imunity (tab. 2) proto vedly k návrhu na novou nomenklaturu a klasifikaci chorob způsobených lepkiem [15–17].

Volta et al [18] srovnávali sérologické testy při NCCL a celiakii. Anti-gliadinové protilátky (AGA) ve třídě IgG jsou při NCCL pozitivní u více než 1/2 probandů, tj. častěji než u kontrol, ale méně často než při celiakii. AGA-IgA jsou při NCCL pozitivní mnohem méně často než při celiakii. Tento rozdíl může být způsoben univerzálním charakterem IgG, který je jako jediný imunoglobulin schopen realizovat všechny funkce Ig molekuly. Deamidované gliadinové protilátky ve třídě IgG (DGPA-IgG) jsou pozitivní při NCCL zcela výjimečně na rozdíl od celiakie. Autoprotilátky ke tkáňové transglu-

tamináze a endomyziu ve třídě IgA (ATG2-IgA, AEA-IgA) jsou při NCCL negativní (tab. 3). Tyto nálezy dokládají, že celiakie a NCCL jsou dvě odlišné klinické jednotky. Při NCCL dochází na rozdíl od celiakie působením peptidů lepku k významné aktivaci vrozené imunity bez účasti adaptivní imunity a nedochází ke změnám funkcí střevní slizniční bariéry.

Frakce lepku, které se uplatňují jako spouštěč aktivace vrozené imunity při NCCL, nejsou známy tak podrobně jako spouštěči adaptivní imunity při celiakii. Podle pokusů in vitro mohou mít při NCCL významnou úlohu inhibitory amylázy/trypsinu obsažené v pšenici. Ty výrazně aktivují odpovědi vrozené imunity monocytů, makrofágů a dendritických buněk. Jde o homology několika malých bílkovin, které jsou vysoce rezistentní na proteolýzu digestivními proteázami a uplatňují se jako hlavní alergeny při vzniku pekařského astmatu [19].

Diagnostika a výskyt

V praxi je prvním krokem odlišení alergie na lepek od obou zbývajících afekcí, které je většinou možné podle klinických údajů, popř. stanovením celkového IgE a kožními testy specifických IgE. Dalším krokem je stanovení specifických biomarkerů celiakie (stanovení deamidovaných gliadinových peptidů, autoprotilátek ke tkáňové transglutamináze a endomyziu, histologické vyšetření duodenální nebo jejunální biopsie). Při vyloučení těchto afekcí a dalších příčin udávaných symptomů je třeba uvažovat o NCCL. Ta nemá specifické biomarkery. Diagnostika je v současné době možná pouze per exclusionem, tj. vyloučením jiných příčin symptomů a účinkem bezlepkové diety (zlepšením při jejím podávání a návratem symptomů při volné dietě). Bezlepková dieta se podává po dobu několika týdnů až měsíců metodou dvojité slepé, placebem kontrolovaného pokusu v libovolném pořadí k vyloučení placebového efektu dietní intervence.

Carroccio et al [20] vyhodnotili klinickou dokumentaci 276 osob se symptomy dráždivého střeva, u nichž diagnostikovali NCCL uvedeným diagnostickým postupem. Jako kontrolní skupiny použili 100 nemocných celiakií a 50 nemocných syndromem dráždivého střeva (SDS). V celém souboru NCCL byla častější anémie, úbytek tělesné hmotnosti, již dříve zjištěná alergie na pšenici, současný výskyt atopie a potravinová alergie v dětství. Protilátky ke gliadinu ve třídě IgG (AGA-IgG) byly častěji pozitivní než u kontrol a ve sliznici duodena a tračníku zjistili zvýšený výskyt eozinofilů. Autoři rozlišují 2 formy NCCL: formu izolovanou a formu provázenou mnohočetnou potravinovou hypersenzitivitou. Izolovaná NCCL má symptomy podobné celiakii, kdežto u druhé formy symptomy připomínají potravinovou alergii. U nemocných s průjemovou formou SDS, kteří nereagují na běžnou terapii, se doporučuje nejen screening na celiakii, ale také vyloučení NCCL, neboť bezlepková dieta může být u nich účinná, třebaže nemají celiakii [21]. Massari et al [22] zjistili NCCL u 1/3 z 226 alergiků (astma, rhinitis, kontaktní dermatitida), kteří si stěžovali na epigastrické obtíže. BLD vedla k ústupu obtíží při kontrole po 6 měsících.

NCCL lze považovat za jednu z více možností imunologických, morfologických a symptomatických projevů intolerance lepku, které mohou být sdíleny také celiakií a SDS. Jejich definice a diagnostická kritéria se však liší. Je proto pravděpodobné, že lepek může být společným etiologickým faktorem více klinických jednotek s různou účastí imunitního systému.

Brottveit et al [23] testovali vliv psychických faktorů na symptomy nemocných s NCCL a celiakií metodou dvojité slepé, placebem kontrolované studie s krátkodobou expozicí lepkiem. U nemocných NCCL nezjistili sklon k somatizaci, tj. k interpretaci psychického stresu formou somatických symptomů. Charakteristika osobnosti a kvalita života se u obou skupin neli-

šila a byla u většiny probandů na stejné úrovni jako u zdravých osob. NCCL pacienti udávali po expozici lepkem více symptomů než nemocní celiakii.

Koncepce NCCL jako nové klinické jednotky způsobené lepkem obnovila zájem o možnou účast tohoto a popřípadě jiných potravinových antigenů v patogenezi závažných psychopatií. Schizofrenie byla v tomto směru předmětem pozornosti již od 50. let minulého století [24]. Příznivý účinek bezlepkové diety byl popsán v řadě kazistik a malých sérií nemocných [25]. Jiné studie však význam lepků a antigliadinových protilátek při schizofrenii nepotvrdily. Samaroo et al [26] vyšetřovali u schizofreniků se zvýšeným titrem antigliadinových protilátek (AGA) také autoprotiilátky ke tkáňové transglutamináze (TG2), endomyziu a genotyp HLA-DQ2, -DQ8. AGA byly dále charakterizovány podle odpovědi k chromatograficky izolovaným peptidům lepků. Na rozdíl od celiakie nebyl potvrzen vztah mezi pozitivitou AGA a autoprotiilátkami k TG2 ani genotypem HLA-DQ2, -DQ8. Protilátky k deamidovaným gliadinovým peptidům byly rovněž u většiny schizofreniků negativní. Imunitní odpověď na gliadin u schizofrenie má pravděpodobně jinou antigenní specifitu než u celiakie a nezávisí na TG2 ani na genotypu HLA-DQ2, -DQ8. Pozitivní AGA jsou však přítomny podobně jako při NCCL. Severance et al [27] upozorňují v této souvislosti na význam infekce a průniku potravinových antigenů (zejména potenciálně neurotrofních exorfinů mléka a lepků) přes střevní slizniční bariéru, které mohou ovlivnit vývoj nervové tkáně imunitními mechanismy. Autoři sledovali IgG protilátky k *Saccharomyces cerevisiae* (marker zánětu), kravskému mléku, pšeničnému lepku a k několika infekčním agens u schizofrenie různého trvání. ASCA protilátky byly ve srovnání s kontrolami významně zvýšeny a korelovaly s protilátkami k potravinovým antigenům u schizofreniků čerstvě diagnostikovaných, dosud neléčených antipsy-

chotiky i dlouhodobě sledovaných. Protilátky k potravinovým antigenům korelovaly s protilátkami ke střevnímu patogenu *Toxoplasma gondii*. Střevní zánět při schizofrenii je proto třeba považovat za významný nálezy, který může představovat spojovací článek mezi citlivostí na potravinové antigeny a mikrobiální infekcí jako zdrojů imunitní aktivity u psychóz.

Dickerson et al [28] sledovali u nemocných s bipolární chorobou IgA a IgG protilátky ke gliadinu, IgG protilátky k deamidovanému gliadinu a autoprotiilátky k TG2. Zvýšené byly pouze hodnoty IgG protilátek ke gliadinu. V další studii [29] zjistili u nemocných s akutní maní rovněž pouze zvýšené hodnoty IgG protilátek ke gliadinu. Při kontrole za 6 měsíců zvýšené hodnoty IgG-AGA významně korelovaly s rehospitalizací, kdežto u stabilizovaných nemocných se nelišily od kontrolních osob. Tyto nálezy zasluhují detailní analýzu molekulární specifity a protilátkové odpovědi na antigeny lepků při bipolární chorobě. Lze předpokládat, že sledování a kontrola citlivosti na lepek se mohou uplatnit při léčení hospitalizovaných osob s akutní maní.

Diskuze

Syndrom ledovce, který dosud sloužil k výkladu různých klinických forem celiakie, je stejně dobře možno použít k výkladu různých forem patogenity lepků. Patogenita lepků je dynamický proces s různě významnou účastí vrozené (nespecifické) a/nebo adaptivní (specifické) imunity. V současnosti je možno považovat lepek za patogenetický faktor 3 různých afekcí: alergie na lepek (pšenici), celiakie a NCCL. Alergie na lepek a celiakie jsou uznávané klinické jednotky zprostředkované systémem adaptivní imunity. Naproti tomu NCCL, jejíž vznik je podmíněn mechanismy vrozené imunity, je jednotkou relativně novou, třebaže její možnost předpokládala již některá dřívější sdělení. Již před více než 30 roky upozornili Cooper et al [30] na nemocné s průjmy při volné stravě a jejich

zlepšení při bezlepkové dietě, aniž by prokázali celiakii. V dalších letech byla významným přínosem definice různých klinických forem celiakie a poznání, že existují formy celiakie bez atrofie střevní sliznice a že kritéria pro celiakii vyžadují revizi [31,32]. Příznivý účinek bezlepkové diety u podskupiny nemocných se syndromem dráždivého střeva (SDS), genotypem HLA-DQ2 a zvýšeným počtem IEL ve střevní sliznici bez jiných změn vedl ke snaze o vysvětlení účinku lepků u těchto nemocných [33]. Prvním projevem citlivosti na lepek při jinak histologicky normální sliznici tenkého střeva může být u přibližně 10% nemocných zvýšený počet intraepiteliálních lymfocytů. Tento nálezy označovaný některými autory jako duodenální lymfocytóza (DL) nebo lymfocytární duodenitida je poněkud nespecifický, neboť se vyskytuje také při jiných chorobách (autoimunitní choroby, terapie nesteroidními antirevmatiky). Většina těchto nemocných nemá celiakii. Genotyp HLA-DQ2, -DQ8 chybí u 1/2 těchto nemocných, zejména je velký rozdíl v HLA-DQ2 (celiakie 97%, DL 37%). Stejně častý u obou afekcí je pouze průjem a úbytek tělesné hmotnosti (15%). Anémie, únava, kožní změny a celiakie v rodinné anamnéze jsou mnohem častější u celiakie [34]. Přesto se doporučuje vyloučit citlivost na lepek u všech těchto nemocných [35].

Významnou podporu pro koncepci NCCL jako samostatné jednotky poskytují experimentální nálezy u transgenních myší, které exprimují pouze HLA-DQ8 a CD4. Gliadin u nich zvyšuje proliferaci T-lymfocytů a aktivuje vrozenou i adaptivní imunitu, ale nepůsobí strukturální změny střevní sliznice [36,37]. U gliadinem senzibilizované myši se zvyšuje v myenterickém plexu tvorba acetylcholinu, který je hlavním neurotransmiterem a ovlivňuje střevní motilitu, sekreci a permeabilitu. Přesný mechanismus tohoto zvýšení není znám, ale mohou se na něm podílet změny metabolismu nutrientů u senzibilizovaných jedinců [38]. Tyto

Tab. 4. Patogenetické reakce předcházející vznik celiakie.

- buněčný stres způsobený přítomností protilátek k elektroneutrálním gliadinovým peptidům (AGAe⁰)
- zvýšení permeability buněčné membrány v různých orgánech
- uvolnění tkáňové transglutaminázy (izoenzymu TG2) do krevního oběhu
- deamidace AGAe⁰ působením TG2 a vznik elektronegativních deamidovaných gliadinových peptidů (DAGPe-)
- zvýšení vazebné schopnosti DAGPe a tvorba imunokomplexů s TG2
- vznik autoprotiátek k TG2 (primární autoantigen celiakie – ATG2A)

Tab. 5. Účinky střevních bifidobakterií [44].

- syntéza bakteriálních antibiotik
- kompetice s patogeny a toxiny o epiteliální receptory
- regulace imunitních odpovědí
 - zvýšení nespecifické imunity
 - úprava prozánětlivého prostředí prostřednictvím signálních drah regulovaných toll-like receptory
- regulace homeostázy enterocytů prodloužením jejich životnosti a úpravou funkcí střevní slizniční bariéry
- modulace signálních drah enterocytů pro aktin, mitogen aktivovanou proteinkinázu a nukleární faktor κ B

nálezy dovolují předpokládat, že lepek sám nebo prostřednictvím některých střevních mikrobiotů může indukovat u funkčních střevních poruch v různém rozsahu aktivaci vrozené imunity, zvýšit propustnost střevní slizniční bariéry, způsobit neuromuskulární dysfunkci a dysbiózu v nepřítomnosti autoimunity [39].

Pro vznik celiakie je nezbytná účast dalších faktorů vedoucích k poruše střevní slizniční bariéry se zvýšením paracelulárního transportu makromolekul a aktivací adaptivní imunity. Celiakie je na rozdíl od NCCL definována poměrně přesně jako multifaktoriální onemocnění s interakcí faktorů genetických a environmentálních, jako jsou lepek, mateřské mléko, gastrointestinální infekce, střevní mikroby a viry, funkce zonulinové signální dráhy a jiné. Hranici mezi NCCL a celiakií tvoří několik patogenetických reakcí vedoucích ke vzniku autoimunitního onemocnění (tab. 4). Pro odlišení NCCL od celiakie přicházejí v úvahu deamidované gliadinové peptidy jako hraniční symptom předcházející primární autoimunitní reakci a autoprotiátky ke tkáňové transglutamináze a endomy-

ziu jako definitivní primární autoimunitní reakce.

Na patogenezi NCCL se velmi pravděpodobně podílí střevní mikrobiální systém. Některé druhy bifidobakterií [40] jsou schopny snížit prozánětlivé působení gliadinových peptidů jejich štěpením mikrobiálními proteázami během trávení a odstraněním některých toxických sekvencí aminokyselin (v případě gliadinu-α a gliadinu-β jde o sekvence 122-141 a 158-164). Přítomnost bifidobakterií je považována za marker zdravého střeva. Účinky jednotlivých mikrobiálních species mají specifický charakter [41]. Probiotika splňují předpoklady pro uplatnění v terapii NCCL různými mechanismy, včetně úpravy nespecifické imunity enterocytů [42] (tab. 5).

Identifikace a specifikace toxických peptidů, které vyvolávají NCCL, je dalším úkolem. Je třeba zjistit, v jakém rozsahu jde o stejné, podobné nebo strukturně odlišné peptidy ve srovnání s celiakií. V současné době nelze vyloučit žádnou z těchto možností ani jejich kombinaci. U psychopatií jde pravděpodobně o jiné genetické pozadí potravinové intolerance, nezávislé na

tkáňové transglutamináze i HLA-DQ2, -DQ8 genotypu [26,28]. Zároveň je pravděpodobné, že neznáme všechny genetické lokusy potravinové intolerance, a to ani v klasické oblasti hlavního histokompatibilního komplexu pro celiakii (HLA-DQ2, -DQ8), což dokládá nedávné objevení 4 nových nezávislých lokusů [43]. Nelze však vyloučit možnost, že spouštěči nespecifické imunity při NCCL jsou zcela jiné peptidy než při celiakii [19].

NCCL jako nová klinická jednotka stejně jako častější diagnostika celiakie v důsledku screeningu povede k dalšímu zvýšení výdajů populace za potraviny bezlepkové diety. Tento trend je znám z USA, kde dodržování bezlepkové diety se stává populární nejen u celiakie, alergie na lepek a NCCL, ale také u chorob bez dostatečných průkazů účinnosti (psychopatie, autismus, ADHD syndrom, roztroušená skleróza a SDS). Výdaje populace na bezlepkovou dietu jsou v USA vyšší než na dietu s nízkým obsahem glycidů nebo tuků a jejich odhad pro rok 2012 činil 2,6 miliardy US dolarů [17].

Závěr

Patogenita lepku je dynamický proces různé intenzity a s různou reakcí hostitele. Její charakter se mění v průběhu lidských generací. Zavedení obilných produktů do lidské výživy bylo pravděpodobně spojeno u geneticky disponovaných jedinců s výskytem těžkého onemocnění, které bylo často smrtelné ještě před dosažením reprodukčního věku. Tímto způsobem se stala dominantní linie v průběhu generací vzácnou a zůstala jen početná recesivní linie s menší penetrancí genetické vlohy u heterozygotů. Postupný vliv modifikujících genů v rostoucím počtu generací vedl k rostoucí variabilitě fenotypu až do přítomnosti. Odrazem tohoto vývoje byl pravděpodobně také různý typ reakce imunitního systému na přítomnost peptidů lepku a dalších faktorů prostředí. Přetrvávající patogenita lepku je způsobena omezenou a časově dlouhodobou adaptabilitou

lidského genomu (na rozdíl od mikrobiálního genomu), který se nedokázal adaptovat u všech jedinců během 10 000 let na lepek jako plně tolerovanou potravinovou bílkovinu. Současný stav je dále nepříznivě ovlivňován dlouhodobými technologickými požadavky selekce odrůd pšenice s vyššími výnosy, což je spojeno s vyšším obsahem lepku, včetně vyššího množství hlavního toxického gliadinového peptidu (33-mer). Denní obsah lepku v lidské potravě kolísá v širokém rozmezí (10–50 g), což nepříznivě ovlivňuje výskyt jednotlivých forem reakce na lepek. To je skutečnost, která by měla orientovat další základní i aplikovaný výzkum.

Literatura

1. Tatham AS, Shewry PR. Allergens in wheat and related cereals. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 1712–1726.
2. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier-function: The biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev* 2011; 91: 151–175.
3. Fasano A. Zonulin, regulation of tight junctions and autoimmune disorders. *Ann NY Acad Sci* 2012; 1258: 25–33.
4. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz JK et al. Revised criteria for diagnosis of celiac disease. *Arch Dis Childhood* 1990; 60: 909–911.
5. Barrer CC, Milton C, Jevon G et al. Can tissue transglutaminase titers replace small-bowel biopsy to diagnose celiac disease in selected pediatric populations? *Pediatrics* 2005; 115: 1341–1346.
6. Donaldson MR, Firth SD, Wimpee H et al. Correlation of duodenal histology with tissue transglutaminase and endomysial antibody levels in pediatric celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 567–573.
7. Donaldson MR, Book LS, Lieferman KM et al. Strongly positive tissue transglutaminase antibodies are associated with Marsh 3 histopathology in adult and pediatric celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 256–260.
8. Vivas S, De Morales JGR, Riestra S et al. Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody levels are present. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4775–4780.
9. Hayat M, Cairns A, Dixon MF et al. Quantification of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: what is normal? *J Clin Pathol* 2002; 55: 393–395.
10. Dickson BC, Streutker CJ, Chetty R. Celiac disease: an update for pathologists. *J Clin Pathol* 2006; 59: 1008–1016.
11. Scaloni SA, Murray JA. Update on celiac disease – etiology, diagnosis, drug targets, and management advances. *Clin Exp Gastroenterol* 2011; 4: 297–311.
12. Goldstein NS, Underhill J. Morphologic features suggestive of gluten sensitivity in architecturally normal duodenal biopsy specimens. *J Clin Pathol* 2001; 116: 69–71.
13. Jarvinen TT, Collin P, Rasmussen M et al. Villous tip intraepithelial lymphocytes as markers of early stage celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 428–433.
14. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *Am J Med* 2010; 56: 661–665.
15. Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G et al. Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin induced disorders: Gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 152: 75–80.
16. Sapone A, Lammers KM, Casolaro V et al. Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity. *BMC Medicine* 2011; 9: 23.
17. Sapone A, Bai JC, Ciacci C et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Medicine* 2012; 10: 13.
18. Volta U, Tovoli F, Cicola R et al. Serological tests in gluten sensitivity (nonceliac gluten intolerance). *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 680–685.
19. Junker Y, Zeissig S, Kim SJ et al. Wheat amylinase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4. *J Exp Med* 2012; 209: 2395–2408.
20. Carroccio A, Mansueto P, Iacono G et al. Non-celiac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: exploring a new clinical entity. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1898–1906.
21. Sanders DS, Aziz I. Non-celiac wheat sensitivity: separating the wheat from the chaff! *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1908–1912.
22. Massari S, Liso M, De Santis L et al. Occurrence of nonceliac gluten sensitivity in patients with allergic disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155: 389–394.
23. Brottveit M, Vandvik PO, Wojnusz S et al. Absence of somatization in non-celiac gluten sensitivity. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 770–777.
24. Bender L. Childhood schizophrenia. *Psychiatric Quarterly* 1953; 27: 663–681.
25. Dohan, FC, Martin L, Grasberger JC et al. Antibodies to wheat gliadin in blood of psychiatric patients: possible role of emotional factors. *Biol Psychiatry* 1972; 12: 127–137.
26. Samaroo D, Dickerson F, Kasarda DD et al. Novel immune response to gluten in individuals with schizophrenia. *Schizophr Res* 2010; 118: 248–255.
27. Severance EG, Alaedini A, Yang S et al. Gastrointestinal inflammation and associated immune activation in schizophrenia. *Schizophr Res* 2012; 138: 48–53.
28. Dickerson F, Stallings C, Origoni A et al. Markers of gluten sensitivity and celiac disease in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2011; 13: 52–58.
29. Dickerson F, Stallings C, Origoni A et al. Markers of gluten sensitivity in acute mania: a longitudinal study. *Psychiatry Res* 2012; 196: 68–71.
30. Cooper BT, Holme GK, Ferguson R et al. Gluten-sensitive diarrhoea without evidence of celiac disease. *Gastroenterology* 1980; 79: 801–806.
31. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of celiac disease – active, silent, latent, potential. *Gut* 1993; 34: 150–151.
32. Kaukinen K, Mäki M, Partanen J et al. Celiac disease without villous atrophy: revision of criteria called for. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 879–887.
33. Wahnschaffe U, Ulrich R, Riecken E et al. Celiac disease-like abnormalities in a subgroup of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2001; 121: 1329–1338.
34. Vande Voort JL, Murray JA, Lahr BD et al. Lymphocytic duodenitis and the spectrum of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 142–148.
35. Kakar S, Nehra V, Murray JA et al. Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosal architecture. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2027–2033.
36. Black KE, Murray JA, David CS. HLA-DQ2 determines the response to exogenous wheat proteins: a model of gluten sensitivity in transgenic knockout mice. *J Immunol* 2006; 169: 5595–5560.
37. Verdu EF, Huang XX, Natividad J. Gliadin-dependent neuromuscular and epithelial secretory response in the gut. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G217–G225.
38. Verdu EF, Armstrong D, Murray JA. Between celiac disease and irritable bowel syndrome: „No man's land“ of gluten sensitivity. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1587–1594.
39. Sirén M, Barbara G, Flint HJ et al. Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. *Gut* 2013; 62: 159–176.
40. Laparra JM, Sanz Y. Bifidobacteria inhibit the inflammatory response induced by gliadins in intestinal epithelial cells via modifications of toxic peptide generation during digestion. *J Cell Biochem* 2010; 109: 601–607.
41. D'Arienzo R, Maurano F, Lavermicocca P et al. Modulation of the immune response by probiotic strains in a mouse model of gluten sensitivity. *Cytokine* 2009; 48: 254–259.
42. Pannini C, Saeed R, Bamias G et al. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. *PNAS* 2010; 107: 454–459.
43. Ahn R, Ding YC, Murray J et al. Association analysis of the extended MHC region in celiac disease implicates multiple independent susceptibility loci. *PLoS One* 2012; 7: e36926.
44. Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1585–1596.

Prof. MUDr. Přemysl Frič, DrSc.

www.uvn.cz

e-mail: premysl.fric@uvn.cz

Doručeno do redakce: 26. 2. 2013

Přijato po recenzi: 25. 3. 2013