Archive of SID

Molecular Structure Investigation of Gluten and Its Role in Celiac Disease

Review Article

Mohammadsadegh Nadimifar [1], Mohammad Rostami Nejad [2], Mehran Habibi-Rezaei [3], Mohammad Reza Zali [2], Ali Akbar Moosavi-Movahedi [1,*]

[1] Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran
[2] Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Faculty of Biological Science, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

ABSTRACT

Coeliac disease, or celiac sprue, is an autoimmune disorder of the small intestine with a genetic background. As a result of immunological responses to gluten consumption, small bowel villi will have damaged and cause malabsorption of nutrients. The symptoms of this disorder appeared due to presence of Gluten, a stored protein in the endosperm of grains such as wheat, barley and rye in the patient's diet. Gluten made up of two protein components called gliadin and glutinine. An alcohol-soluble component, gliadin, is the main cause of Coeliac disease symptoms. The "N" terminal of gliadin usually has repetitive sequence rich in glutamine, proline, phenylalanine, and tyrosine. Due to the mechanism of Coeliac disease, trans-glutaminease and glutamic acid in the N terminal of Gluten are played very important role. On the other hand, a human leukocyte antigen, HLA-DQ2, as an internal factor, plays a major role in the immunological response. In this study, in addition to introducing the mechanism of celiac disease, the molecular structure of gluten and it interacts with HLA-DQ2 will be reviewed.

Keywords: Celiac Disease, Gluten, Gliadin, Glutamic Acid, Trans-Glutaminease, HLA-DQ2

please cite this paper as:
Nadimifar MS, Rostami Nejad M, Habibi-Rezaei M, Zali MR, Moosavi-Movahedi AA. Molecular Structure Investigation of Gluten and Its Role in Celiac Disease. *Govaresh* 2020;25:171-178.

Corresponding author:
Ali Akbar Moosavi-Movahedi
Institute of Biochemistry and Biophysics (IBB),
University of Tehran, Tehran, Iran
Tel: + 98 21 61113381
Fax: + 98 21 66404680
E-mail: moosavi@ut.ac.ir

Received: 02 May 2020
Edited: 01 Sep. 2020
Accepted: 02 Sep. 2020

www.SID.ir

Archive of SID

گوارش/ دوره ۲۵، شماره ۳/ پاییز ۱۳۹۹/ ۱۷۸-۱۷۱

مقاله مروری

بررسی ساختار مولکولی و نقش گلوتن در بیماری سلیاک

محمدصادق ندیمی فر [۱]، محمد رستمی نژاد [۲]، مهران حبیبی رضایی [۳]، محمدرضا زالی [۲]، علی اکبر موسوی موحدی [۱،*]

[۱] مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۲] پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳] دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

بیماری سلیاک[1] یا اسپروی سلیاک یک اختلال خودایمنی روده باریک و با زمینه ژنتیکی است. در اثر پاسخ های ایمنی شناسی به مصرف گلوتن، پرزهای روده باریک آسیب دیده و جذب مواد غذایی مختل می شود. گلوتن، پروتئین ذخیره ای در اندوسپرم دانه غلاتی مانند گندم، جو و چاودار می باشد که وجود آن در رژیم غذایی باعث بروز علایم در فرد مبتلا می شود. گلوتن از دو جزء پروتئینی به نام گلیادین و گلوتنین تشکیل شده که عامل اصلی تشدید کننده بیماری، جزء محلول در الکل آن، یعنی گلیادین است. بخش انتهایی "N" گلیادین معمولا دارای توالی تکرار شونده غنی از اسید امینه های گلوتامین، پرولین، فنیل-آلانین، و تیروزین می باشد. با توجه به مکانیسم بروز علایم بیماری سلیاک نقش آنزیم ترانس گلوتامیناز و حضور اسید امینه گلوتامیک اسید در توالی انتهایی N پروتئین گلیادین بسیار حائز اهمیت می باشد. از سوی دیگر وجود یکی از آنتی ژن های لکوسیت انسانی، HLA-DQ2، به عنوان یک عامل داخلی، نقش اصلی در پاسخ ایمنولوژیک دارد. در این مطالعه علاوه بر معرفی مکانیسم بروز سلیاک، ساختار مولکولی گلوتن و نحوه اندرکنش آن با HLA-DQ2 بررسی خواهد شد.

کلید واژه: بیماری سلیاک، گلوتن، گلیادین، گلوتامیک اسید، آنزیم ترانس گلوتامیناز، HLA-DQ2

گوارش/ دوره ۲۵، شماره ۳/ پاییز ۱۳۹۹/ ۱۷۸-۱۷۱

1. Coeliac disease

زمینه و هدف:

غلات گیاهانی از خانواده گندمیان تک لپه‌ای هستند که دانه‌های آنها مصرف خوراکی دارد. گونه‌های سرد سیری غلات شامل گندم، جو و چاودار و گونه‌های گرمسیری آن نیز شامل برنج، ذرت، ذرت خوشه‌ای و ارزن می باشد. در خیلی از کشورها، این دسته مواد بخش عمده رژیم غذایی را در بر می‌گیرند. غلات حاوی هیدرات کربن، پروتئین، چربی، مواد معدنی و انواع ویتامین هستند که در خلال مراحل مختلف نگهداری و تهیه ممکن است بخشی از این مواد مغذی از بین برود.(۱)

گندم با نام علمی تریتیکوم[1] از مهم‌ترین غلات است. مواد تشکیل دهنده دانه گندم شامل پروتئین، نشاسته، سلولز، چربی و مابقی متشکل از آب و مواد کانی می باشد. اهمیت پروتئین های موجود در گندم و آرد گندم، علاوه بر ارزش غذایی، در ایجاد خاصیت کشسانی خمیر و کیفیت نان پخت شده از آرد می باشد. پروتئین های ذخیره ای گندم که در آرد نیز وجود دارند شامل آلبومین[2] ها، گلوبولین[3] ها، پرولامین[4] ها و گلوتلین[5] ها می باشند. به مجموعه پرولامین ها و گلوتلین ها، گلوتن[6] گفته می شود. گلوتن یک واژه لاتین با معنای چسب[7] می باشد و دلیل نامگذاری آن بواسطه ایجاد خاصیت چسبندگی در پروتئین ذخیره ای غلاتی مانند گندم، جو و چاودار می باشد. این ترکیب پروتئینی باعث ایجاد خاصیت چسبندگی و انعطاف پذیری در نان و دیگر محصولات غلات می باشد و نقش مهمی در کیفیت خمیر و نان ایفا می کند.(۲،۱) گلوتن شامل صدها جزء پروتئینی است که می تواند هم به شکل مونومر باشد و هم بواسطه پیوندهای دی سولفیدی بین اجزاء به صورت اولیگومر یا پلیمر یافت شود. از نظر محتوای آمینو اسیدی گلوتن ها به عنوان پروتئین هایی غنی از گلوتامین و پرولین شناخته می شوند. این در حالی است که فراوانی آمینواسیدها با گروه جانبی باردار در این ترکیب پروتئینی بسیار کم می باشد. از

1. Triticum

***نویسنده مسئول:** علی اکبر موسوی موحدی
مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران
تلفن: ۶۱۱۱۳۳۸۱-۰۲۱
نمابر: ۶۶۴۰۴۶۸۰-۰۲۱
پست الکترونیک: moosavi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۲/۱۳
تاریخ اصلاح نهایی: ۹۹/۰۶/۱۱
تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۱۲

2. Albumin
3. Globulin
4. Prolamin
5. Glutelin
6. Gluten
7. Glue

www.SID.ir

Archive of SID

نظر فراوانی ترکیبات، فراوانی پرولامین و گلوتلین تقریبا برابر می باشد. پرولامین ها محلول در الکل و گلوتلین محلول در آب می باشند که از همین خاصیت جهت تفکیک اجزا پروتئینی گلوتن استفاده می شود.(۳) پرولامین در انواع غلات با نام های متفاوتی شناخته می شود و پرولامین موجود در دانه گندم گلیادین نام دارد که محلول در الکل است. در کنار اثر مثبت این مجموعه پروتئینی، گلوتن به عنوان عامل ایجاد بیماری سلیاک شناخته شده است.(۴) در این مطالعه به بررسی ساختار مولکولی و مکانیسم مولکولی گلوتن در بیماری سلیاک پرداخته خواهد شد.

تاریخچه بیماری سلیاک

به نظر می رسد که بیماری سلیاک تاریخچه ای بسیار قدیمی دارد که مربوط به قرون اول و دوم پس از میلاد می باشد. احتمالا اولین گزارش از این بیماری توسط ارتاووس[1]، پزشک یونانی در آن دوران می باشد. نام این بیماری از واژه کولیاکوس[2]، معادل یونانی واژه شکم[3] گرفته شده است.(۵) اولین گزارش واضح و مستند از این بیماری توسط ساموئل گیی[4] در سال ۱۸۸۸ ارائه شده است. در اوایل قرن ۲۰ رژیم های غذایی متفاوتی برای پیشگیری از بروز علایم این بیماری پیشنهاد شد که تنها بعضی از آن ها موفق بود. ویم دیک[5] در سال ۱۹۵۰ تز دکترای خود را منتشر کرد و اعلام کرد که حذف گندم، جو و چاودار از رژیم غذایی منجر به از بین رفتن جدی علایم بیماری خواهد شد.(۶) بررسی های بیشتر در این دوره نشان داد که عامل بیماری زایی ترکیبی پروتئینی در غلات با نام گلوتن است.(۷) در سال ۱۹۵۴ وجود تغییرات و ناهنجاری های بافتی در روده کوچک در افراد مبتلا به سلیاک پیشنهاد شد.(۸) مطالعه دوقلوهای تک تخمکی و بروز بیماری در هر دو فرد احتمال نقش عوامل ژنتیکی را در ایجاد این بیماری بیان کرد که با مطالعه بر روی آنتی ژن های لکوسیت انسانی[6] (HLA)، نقش وراثت در ایجاد سلیاک مورد تایید قرار گرفت.(۹) در نهایت حضور و چرخش آنتی بادی ها در این بیماری، احتمال مکانیسم ایمنولوژیکی را برای این بیماری مطرح شد و بدنبال آن تست های غیر تهاجمی غربالگری برای تشخیص این بیماری پیشنهاد شد. پس از معرفی بیماری سلیاک، اولین انجمن سلیاک در سال ۱۹۶۸ در انگلیس تاسیس شد و پس از آن در نقاط مختلف جهان نیز این انجمن ها آغاز به کار کردند.(۶) در ایران نیز انجمنی به منظور حمایت های درمانی، آموزشی، پژوهشی، تغذیه ای و اجتماعی از بیماران مبتلا به سلیاک فعالیت می کند.

علایم و نشانه های بیماری

بیماری سلیاک دارای طیف وسیعی از علایم گوارشی و خارج گوارشی می باشد که از شایع ترین علایم گوارشی می توان به اسهال، نفخ و اسهال چرب[7] اشاره کرد.(۱۰) نتایج مطالعات نشان دهنده ارتباط این بیماری با بسیاری از بیماری های کبدی نیز بوده است.(۱۱) از بین علایم خارج گوارشی این بیماری می توان کاهش وزن، کم خونی فقر آهن، خستگی، کندی رشد کودک، تحلیل و ضعف عضلانی را نام برد. سو جذب آهن و ویتامین B_{12} موجب کم خونی (۱۲)، سو جذب کلسیم و ویتامین D موجب کاهش تراکم استخوان[8]، شکستگی‌های پاتولوژیک استخوان و پرکاری فوق تیروئید[9] ثانویه می‌شود.(۱۳) همچنین این بیماری می تواند افزایش تعداد لنفوسیت های داخل بافت پوششی[10]، هایپرپلازی کریپت[11] (طویل شدن طول غدد روده ای) و از بین رفتن پرزهای روده[12] را سبب شود که این تغییرات توسط پروفسور مایکل مارش[13] طبقه بندی و به مجامع بین المللی ارائه شد.(۱۴)

براساس مطالعات همه گیر شناسی[14] در نقاط مختلف دنیا فراوانی این بیماری از ۰/۵ تا ۲٪ در جمعیت های مختلف گزارش شده است.(۱۵) در جمعیت ایران نیز فراوانی این بیماری در حدود ۱٪ گزارش شده است.(۱۶)

تشخیص بیماری سلیاک

در افراد با تظاهرات بالینی برای تشخیص بیماری سلیاک، ارزیابی با آزمایش های سرم خونی (سرولوژیک) برای اندازه گیری آنتی بادی های اختصاصی از جمله آنتی بادی های آنتی گلیادین (AGA)[15] (IgA و IgG)، آنتی بادی ضد ترانس گلوتامیناز بافتی[16] (anti-tTG IgA) و آنتی بادی ضد اندومیزیال[17] (anti-EMA IgA) انجام می گیرد. امروزه اندازه گیری آنتی بادی های آنتی گلیادین بدلیل حساسیت و ویژگی پایین بطور کامل منسوخ شده است. اگرچه بررسی آنتی بادی اندومیزیال ویژگی بالایی در تشخیص این بیماری دارد اما حساسیت کم و هزینه بالای آن موجب شده است که آزمایش تشخیصی آنتی بادی ترانس گلوتامیناز بافتی بعنوان آزمایش انتخابی اول پیشنهاد شود. همچنین از اندوسکوپی و گرفتن بیوپسی از ابتدای دوازدهه[18] نیز جهت تایید نتیجه بررسی سرم خونی استفاده می شود. اگرچه، نتیجه منفی آزمایش آنتی بادی به تنهایی رد کننده تشخیص بیماری سلیاک نیست، اما نتیجه مثبت tTGA/EMA نیز می تواند وابسته به تغییرات مشخص بافت شناسی باشد.(۱۷) تنها راه درمانی بیماری سلیاک، حذف گلوتن از رژیم غذایی بصورت مادام العمر است. دوره بهبودی علایم با رعایت رژیم غذایی بدون گلوتن در کودکان به‌طور معمول ۳ تا ۶ ماه و در بزرگسالان به ۲ سال هم می‌رسد.(۱۵)

مکانیسم بیماری زایی بیماری سلیاک و ارتباط آن با گلوتن

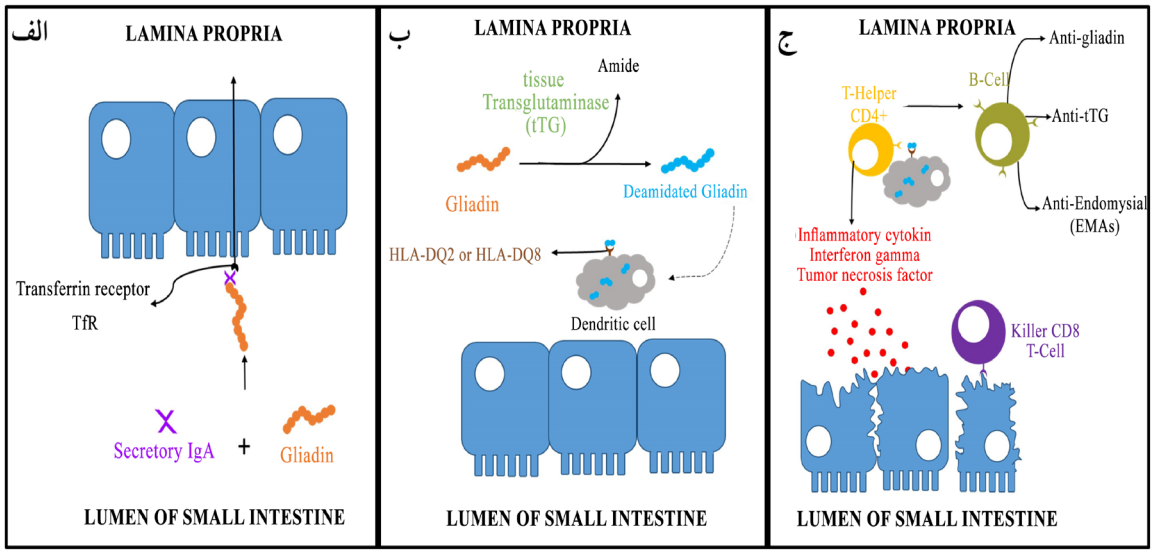
گلوتن، پروتئین ذخیره ای موجود در دانه غلات می باشد که شامل دو جزء گلوتنین و گلیادین می باشد که گلیادین عامل حساسیت زا در بروز بیماری سلیاک محسوب می شود. نحوه عملکرد گلیادین در بروز بیماری را می توان به سه مرحله تقسیم کرد (شکل ۱). مرحله ورود گلیادین به بافت همبند، مرحله تغییر ساختاری گلیادین برای قرار گرفتن در معرض سیستم ایمنی و در نهایت مرحله فراخوانی و عملکرد

1. Aretaeus
2. Koliakos
3. Abdomen
4. Samuel Gee
5. Wim Dicke
6. Human leukocyte antigen
7. Steatorrhea

8. Osteopenia
9. Hyperparathyroidisme
10. Intraepithelial lymphocytes
11. Crypt hyperplasia
12. Villous atrophy
13. Michael N. Marsh
14. Epidemiology
15. Antigliadin antibody
16. Anti-Tissue Transglutaminase
17. Endomysial Antibody
18. Duodenum

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: مکانیسم ایجاد حساسیت به گلوتن در بیماران سیلیاک به تفکیک مراحل.الف) مرحله ورود گلیادین به بافت همبند، ب) مرحله تغییر ساختاری گلیادین برای در معرض سیستم ایمنی قرار گرفتن، ج) مرحله فراخوانی و عملکرد سیستم ایمنی

سیستم ایمنی است. در مرحله اول، گلیادین به دلیل داشتن تعداد زیاد از آمینواسید پرولین در ساختارش، تحت تاثیر اسید معده قرار نمی گیرد و بدون هضم شدن، از معده خارج و وارد روده کوچک می شود. آغاز فرایند بروز بیماری سلیاک وابسته به عبور گلیادین از سلول های سطحی روده و حضور در بافت همبند روده باریک با نام لامینا پروپریا[1] می باشد.(۱۸) این انتقال توسط گیرنده ترانسفرین (TfR)[2] موجود در سطح سلول های پوششی روده انجام می پذیرد (شکل ۱-الف). گلیادین تنها در صورت اتصال به ایمنوگلوبولین A ترشحی[3] موجود در موکوس سطح روده توسط TfR شناسایی و از محیط روده به بافت همبند منتقل می شود. وظیفه IgA ترشحی محافظت از لایه اول سلول های جذب کننده روده[4] در برابر عوامل خارجی می باشد. به طور معمول هر ترکیبی که به IgA ترشحی متصل می شود از بین خواهد رفت، اما به دلیل نامشخصی کمپلکس گلیادین +IgA ترشحی سالم باقی می ماند.(۱۹)

مرحله دوم، ایجاد تغییر در ساختار گلیادین برای آمادگی در جهت قرار گرفتن در معرض سیستم ایمنی می باشد. تغییری که منجر به فعال شدن گلیادین در این لایه می شود، توسط آنزیم ترانس گلوتامیناز بافتی (tTG)[5] اتفاق می افتد. گلیادین تحت تاثیر tTG گروه آمیدی[6] خود را از دست می دهد. طی این واکنش گلوتامین موجود در ساختار گلیادین به گلوتامیک اسید تبدیل می شود.(۲۰) گلیادین های غیرآمیده این قابلیت را دارند که توسط یکی از سلول های سیستم ایمنی بدن با عنوان سلول های دندرتیک[7] شناسایی و جذب شوند.(۱۸) وظیفه این سلول ها فراخوانی سیستم دفاعی بدن می باشد. که این کار را با در معرض قرار دادن عامل خارجی انجام می دهند. گلیادین غیرآمیده توسط آنتی ژنی سطحی از خانواده مجموعه سازگاری بافتی اصلی کلاس دوم[8] (MHC II) که توسط ژن های خانواده آنتی ژن لکوسیت انسانی (HLA) کد می شود به سطح سلول و در معرض سیستم ایمنی قرار می گیرد. در بیماری سلیاک، گلیادین غیرآمیده به طور اختصاصی توسط HLA-DQ2 یا HLA-DQ8 شناسایی می شود (شکل ۱-ب).

مرحله آخر فراخوانده شدن سیستم ایمنی می باشد. در این مرحله کمپلکس HLA-DQ2 or 8 + Deamided gliadin باعث فراخوانی سلول های T-Helper (CD4+) می شود (۲۱) که همراه با ترشح سیتوکین های التهابی مانند اینترفرون گاما (۲۲)، فاکتور نکروز توموری (TNF)[9] (۲۳) از این سلول ها می شود که به طور مستقیم باعث ایجاد التهاب در سلول های اپی تلیالی دیواره روده باریک می شود. وجود این التهاب باعث ساخت و فراخوانی سلول های کشنده Killer CD8 + T-Cell شده که منجر به از بین رفتن سلول ها ملتهب اپی تلیالی خواهد شد. از بین رفتن این سلول ها باعث می شود که در دفعات بعدی که سلول در معرض گلوتن قرار بگیرد. مسیر با سرعت بیشتری برای نشان دادن حساسیت پیش برود.(۲۰) از سوی دیگر، سلول های T-Helper (CD4+) همچنین باعث فراخوانی سلول های B خواهد شد. سلول های B نیز باعث ترشح آنتی بادی علیه گلیادین، tTG و آنتی بادی اندومیزیال (EMAs)، که همان tTG در اندومیزیلیوم می باشد، می شود (شکل ۱-ج). لازم به ذکر است که بررسی میزان EMAs یکی از فاکتورهای مهم در تشخیص بیماری سلیاک می باشد.(۲۵،۲۴)

ژنتیک و توارث بیماری سلیاک

گلیادین، به عنوان یک آنتی ژن خارجی، باعث فعال شدن گیرنده

1. Lamina proporia
2. Transferrin receptor
3. Secretory Immunoglobulin A
4. Enterocyte
5. Tissue Transglutaminase
6. Deamidated gliadin
7. Dendritic cells
8. Major histocompatibility complex
9. Tumor necrosis factor

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: مهمترین ایزوفرم و هاپلوتایپ های HLA-DQ2

سروتیپDQ	ایزوفرم DQ	عنوان ایزوفرم یا هاپلوتایپ	آلل	
			A1	B1
DQ2	α5-β2	2.5	0502	0201
	α2-β2	2.2	0201	0202
	α3-β2	2.3	0302	0202

سطح سلولی HLA-DQ (یکی از پروتئین های کلاس دوم مجموعه سازگاری بافتی اصلی (MHC)[1]) می شود.(۱۵) این گیرنده سطح سلولی دارای ساختار هترودایمر αβ می باشد. هر یک از زیرواحدهای α و β به ترتیب توسط دو لوکوس HLA-DQA1 و HLA-DQB1 در جایگاه کروموزومی ۶p۲۱,۳ بیان می شوند.(۲۶) این گیرنده دارای هشت سروتیپ متفاوت (HLA-DQ2 up to DQ9) می باشد. مطالعات نشان داده است که سروتیپ های HLA-DQ2 و HLA-DQ8 در ۹۵٪ از مبتلایان به سلیاک مشاهده می شود. همچنین نشان داده شده است که سروتیپ[2] HLA-DQ2 از این پروتئین گیرنده سطح سلولی نقش مهمی در ایجاد و توارث بیماری سلیاک دارد.(۲۷) هر یک از زیرواحدهای α و β این گیرنده سطحی توسط یک ترکیب آللی متصل به هم در یک لوکوس (هاپلوتایپ[3]) کد می شوند. مطالعه جمعیتی از ۱۸۹۹ آمریکایی نشان داده است این گیرنده سطح سلولی دارای ۳۶ هاپلوتایپ می باشد که مهمترین آن ها که منجر به ایزوفرم های پروتئینی متفاوت از این گیرنده می شود در جدول ۱ قابل مشاهده می باشد.(۲۸)

اگرچه ارتباط بین DQ و بیماری سلیاک به دلیل ایزوفرم ها متعدد آن پیچیده است ولی ارتباط DQ۲/۵ با این بیماری تایید شده است.(۲۸) در اکثر افراد، این ایزوفرم توسط یکی از دو کروموزوم ۶ که از والدین به ارث رسیده است رمزگذاری می شود. توارث این ژن از هر دو والد باعث بروز شدیدتر عوارض بیماری سلیاک می شود.(۲۹)

فراوانی این ژن ها از نظر جغرافیایی متفاوت است. DQ۲/۵ در افراد شمال و غرب اروپا (با بالاترین فراوانی در ایرلند (۳۰) و هند (۳۱) دارای فرکانس بالا است، اما در قسمت های غربی حاشیه اقیانوس آرام یافت نمی شود. DQ۸ توزیع جهانی گسترده تری نسبت به DQ۲/۵ دارد و به ویژه در آمریکای جنوبی و مرکزی متداول است. حداکثر ۹۰٪ از افراد در برخی از جمعیت های آمریکایی DQ۸ را حمل می کنند و بنابراین ممکن است علایم بیماری سلیاک را نشان دهند.(۳۲) بررسی جمعیت ایرانی نیز نشان داده است که آلل DQ۲/۵ نقش اصلی را در بروز بیماری سلیاک را دارد و این در حالی است که فراوانی آلل DQ۸ در این جمعیت بیشتر از میانگین جهانی است.(۳۴,۳۳)

دلیل شیوع ژنوتیپ[4] های بیماری سلیاک در جمعیت کنونی جهان کاملا درک نشده است. در سال ۱۹۸۱، سیمونز مطرح کرد که با توجه به ویژگی های این بیماری و وراثت پذیری شدید آن، به طور طبیعی انتظار می رود که ژنوتیپ ها انتخاب منفی داشته باشند. بدین معنا که این بیماری در جوامعی با دوره کشاورزی طولانی، نباید وجود داشته باشد.(۳۵) اما امروزه شاهد وجود این بیماری در جوامع مختلف هستیم. در مقابل، شواهدی از انتخاب مثبت در ژنوتیپ های بیماری سلیاک وجود دارد. گمان می رود که برخی از این انتخاب های مثبت به دلیل محافظت در برابر برخی عفونت های باکتریایی، در مبتلایان به سلیاک بوده است.(۳۷,۳۶) این مطالعات نشان داده اند که برخی پپتیدهای سطحی باکتری ها می توانند به عنوان الگوی مشابه گلیادین در مسیر فعال کردن سیستم دفاعی بدن عمل کنند.(۳۸)

1. Major histocompatibility complex
2. Serotype
3. Haplotype
4. Genotype

بررسی مولکولی ساختار گلیادین

گلوتن پروتئین ذخیره ای در اندوسپرم دانه غلات، بخصوص گندم، چاودار، چادوم، جو، و جو دوسر می باشد، به طوری که ۷۵ تا ۸۵٪ از کل پروتئین موجود در نان گندم مربوط به این خانواده پروتئینی است. این ترکیب پروتئینی عامل افزایش دهنده ظرفیت جذب آب، انسجام، ویسکوزیته و کشش خمیر می باشد.(۳۹) وزن مولکولی پروتئین در حالت طبیعی متغیر و از ۳۰۰۰۰ تا ۱۰ میلیون دالتون می باشد.(۴۰) این بازه بزرگ از وزن مولکولی گلوتن به دلیل تمایل اتصال گلوتلین و گلیادین و ایجاد مجموعه های پروتئینی می باشد. گلیادین به عنوان عامل اصلی در بروز بیماری سلیاک در اکثر مواقع به صورت مونومر می باشد.(۳۹)

بر اساس آنالیز کلی یا جزئی توالی آمینواسیدی، ترکیب آمینواسیدی، و وزن مولکولی، گلیادین ها به چهار گروه آلفا/بتا (α/β-)، گاما (γ-)، اومگا ۲،۱- (ω۱,۲-) و اومگا ۵- (ω۵-) تقسیم شده اند (جدول ۲). در هر گروه، بین اعضا تفاوت های ساختاری کوچکی وجود دارد که بواسطه جابجایی، حذف و اضافه شدن آمینواسیدها ایجاد شده است.(۳) اهمیت فراوانی پرولین در ساختار این پروتئین در ایجاد مقاوت برای این پروتئین در برابر هضم توسط اسید معده می باشد. همچنین حضور گلوتامین نیز در فعال شدن این پروتئین در مسیر ایجاد حساسیت حائز اهمیت می باشد. همانگونه که پیش از این ذکر شد، دآمیده شدن گلوتامین توسط آنزیم tTG یکی از مراحل کلیدی در بروز پاسخ ایمنی علیه گلیادین می باشد که مطالعات نشان داده است مهار این آنزیم می تواند مانع از بروز علایم بیماری شود. نشان داده شده است که ترکیب آسکوربیل پالمیتات[5] و کلرید روی[6] می توند تمایل tTG را به گلیادین کاهش دهد و در نتیجه مانع دآمیده شدن گلیادین و آغاز فعالیت سیستم دفاعی بدن شود.(۴۱)

بالاترین میزان گلوتامین، پرولین و فنیل آلانین در اومگا گلیادین ها (حدود ۸۰٪) دیده شده است. وزن مولکولی اومگا ۵- حدود ۵۰۰۰۰ و اومگا ۲،۱- گلیادین حدود ۴۰۰۰۰ دالتون می باشد. از مهمترین مشخصه خانواده اومگا، عدم حضور سیستئین و پیوند دی سولفیدی می باشد و دارای توالی تکرارپذیر PQQPFPQQ یا QQQQFP می باشند. از سوی دیگر گلیادین های α/β و γ از نظر وزنی هم پوشانی داشته، در بازه ۲۸۰۰۰ تا ۳۵۰۰۰ دالتون قرار دارند و از اجزا با وزن مولکولی کم در گلوتن می باشند.(۴۲) محتوای گلوتامین و پرولین در این دو خانواده از گلیادین ها در مقایسه با خانواده اومگا بسیار کمتر می باشد. هر یک از گلیادین های α/β و γ دارای توالی اختصاصی در انتهاهای C و N می باشند. انتهای N معمولا دارای توالی تکرار شونده غنی از گلوتامین، پرولین، فنیل آلانین، و تیروزین می باشد که برای هر خانواده اختصاصی می باشد. تعداد تکرار توالی تکرار شونده در ناحیه N-ter برای α/β گلیادین ۵ بار می باشد و این توالی

5. Ascorbyl Palmitate
6. ZnCl2

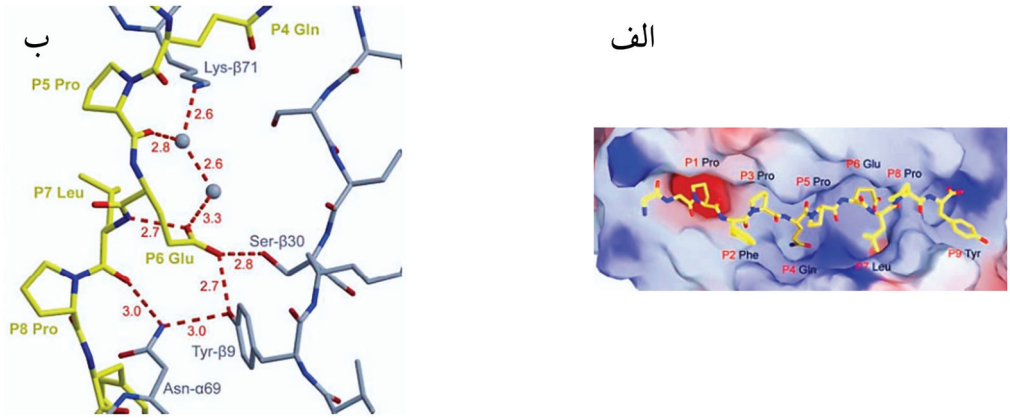
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: مشخصات انواع گلیادین های به دست آمده از آرد گندم (۳)

نوع	وزن مولکولی	فراوانی*	فراوانی آمینواسیدها				
			گلوتامین	پرولین	فنیل آلانین	تیروزین	گلایسین
ω5-Gliadins	۵۵-۴۹	۶-۳	۵۶	۲۰	۹	۱	۱
ω1,2-Gliadins	۴۴-۳۹	۷-۴	۴۴	۲۶	۸	۱	۱
α/β-Gliadins	۳۵-۲۸	۳۳-۲۸	۳۷	۱۶	۴	۳	۲
γ-Gliadins	۳۵-۳۱	۳۱-۲۳	۳۵	۱۷	۵	۱	۳

فراوانی در گلوتن



شکل ۲: اتصال گلیادین به HLA-DQ2. الف) قرار گیری رزیدوهای گلیادین در پاکت های ایجاد شده در DQ2. ب) پیوندهای هیدروژنی بین رزیدوهای گلیادین با DQ2 (۴۵)

بصورت QPQPFPQQPYP می باشد. توالی تکرار شونده γ گلیادین ها QPQQPFP با تعداد دفعات تکرار ۱۶ بار می باشد. ساختار ۳ بعدی در ناحیه N-ter تمام خانواده های گلیادینی غنی از β-turn می باشد.(۳) توالی های تکرارپذیر در انواع گلیادین غنی از گلوتامین می باشد. این گلوتامین ها می توانند تحت تاثیر آنزیم tTG به گلوتامیک اسید تبدیل شوند و فرایند حساسیت زایی گلیادین در ایجاد بیماری سلیاک را آغاز کند. نتایج تحقیقات در ارتباط با سمیت انواع گلیادین ها نشان داده است که تمامی انواع این پروتئین قابلیت ایجاد بیماری را دارند.(۴۳)

بررسی ملکولی اتصال گلیادین با HLA-DQ2

مطالعات نشان دهنده تاثیر مستقیم گلیادین بر بروز بیماری سلیاک بوده اند و نقش توالی آمینواسیدی نیز در این فرایند نیز نشان داده شده است.(۴۴) همانگونه که در مکانیسم بروز بیماری سلیاک نشان داده شد، یکی از عوامل مهم در بروز بیماری اندرکنش گلیادین دآمیده با HLA-DQ2 یا HLA-DQ8 به عنوان عضوی از خانواده HLA می باشد.(۲۰) HLA-DQ2 ساختاری کلاسیک از MHC-II می باشد. دومین N-ter از DQ2 که بصورت هترودیمر است تشکیل یک شیار می دهد. این شیار[1] متشکل از ۲ ساختار آلفا هلیکس است که بر ۸ ساختار بتا قرار می گیرد. از سوی دیگر در مطالعات ساختاری اندرکنش گلیادین با HLA-DQ2 از یک توالی گلیادینی مشتمل بر ۱۱ آمینواسید (LQPFPQPELPY) استفاده شده است. نشان داده شد که دو آمینواسید لوسین و پرولین ابتدایی قادر به اندرکنش با HLA-DQ2 نبوده و حذف شدند. این بررسی نشان داد که آمینواسیدهای ۲ تا ۹ مشخصا قادر به اینتراکشن با HLA-DQ2 خواهد بود (PFPQPELPY). آمینواسیدهای گلوتامین ([Q] Gln)، گلوتامیک اسید ([E] Gln)، و لوسین ([L] Leu) در محل های P4، P6، و P7 توالی جدید ۹ آمینواسیدی، در بخش پاکتی DQ۲ قرار می گیرد (شکل ۲-الف).(۴۵)

گلوتامیک اسید در ناحیه P6 گلیادین، تحت تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز از دآمیده شدن گلوتامین حاصل شده است. بررسی in vitro نشان داده است که گلیادین دآمیده شده دارای ۲۵ برابر تمایل بیشتر به اتصال به DQ2 در مقایسه با گلیادین معمول را دارد. همانگونه که در شکل ۲-ب نشان داده شده است، P6 Glu (E) با برقراری ۳ پیوند هیدروژنی مستقیم و غیرمستقیم با DQ2، مهمترین نقش را در اندرکنش این دو پروتئین ایفا می کند. یک پیوند هیدروژنی بین P6 Glu (E) و P7 Leu (L) وجود دارد که نقش عمده آن ایجاد و حفظ ساختار فضایی مناسب برای گلیادین است که به طبع آن بتواند با DQ2 اندرکنش دهد. از سوی دیگر P6 Glu (E) به طور مستقیم با دو رزیدو Ser-β30 و Tyr-β9 پیوند هیدروژنی دارند و این رزیدو از گلیادین به واسطه ۲ مولکول آبی با Lys-β71 ارتباط برقرار خواهند کرد.(۴۵) نتایج این مطالعات همچنین نشان داده است که اضافه شدن یک گروه شیمیایی مانند هیدروکسیل

1. Groove

www.SID.ir

Archive of SID

به پرولین های این توالی می تواند از تمایل اتصال گلیادین و DQ2 بکاهد و به طبع آن پاسخ ایمنی شناسی نشان دهنده بیماری سیلیاک بروز پیدا نکند.(۴۵) لازم به ذکر است که اگرچه ایزوفرم های متفاوت از HLA-DQ2 تفاوت های ساختاری بسیار اندکی با یکدیگر دارند، اما گیرنده های سطح سلول های T به درستی قادر به تشخیص کمپلکس ایزوفرم بیماری زا با گلیادین هستند.(۴۶) به عنوان مثال اگرچه DQ2.5 و DQ2.2 از نظر ساختاری بسیار شبیه هستند ولی این تمایز به خوبی توسط گیرنده های سطح سلول های T قابل تشخیص می باشد.(۴۷)

نتیجه گیری

بیماری سلیاک یک بیماری روده ای ناشی از حساسیت به گلوتن، بیماری مزمن و التهابی است که علاوه بر دستگاه گوارش، سایر اعضا بدن را نیز به نحوی درگیر می سازد، بطوری که با علایم و نشانه های بالینی متعدد و مختلفی خود را نشان می دهد. اگرچه تحقیقات متعددی در این زمینه معرفی کننده گلیادین به عنوان عامل ایجاد کننده این بیماری بوده است اما تا کنون راهکار درمانی موفقی روی این پروتئین ارائه نشده است و فقط رژیم غذایی پیشگیری کننده برای کنترل بیماری ارائه شده است.

با توجه به این که نشان داده شده است گلیادین غیرآمیده تمایل بیشتری برای پیشبرد روند بروز علایم بیماری سلیاک را دارا می باشد، بنابراین جستجو برای یافتن یک مهارکننده اختصاصی مناسب برای آنزیم tTG به عنوان داروی بازدارنده به همراه یک سیستم دارو رسانی[1] می تواند یکی از راهکارهای پیشنهادی برای کاهش بروز علایم بیماری سلیاک باشد. از سوی دیگر با توجه به اهمیت اندرکنش بین گلیادین غیرآمیده با آنتی ژن های خانواده HLA، و نقش دو امینو اسید گلوتامین و پرولین می توان پیشنهاد کرد که بلوکه کردن گلوتامیک اسید موجود در گلیادین غیرآمیده به کمک ترکیبات سنتزی نیز می تواند یک گزینه برای طراحی داروی مناسب باشد. همچنین با توجه به این که اضافه شدن یک گروه شیمیایی مانند هیدروکسی به پرولین می تواند باعث کاهش تمایل اندرکنش بین گلیادین دآمیده و آنتی ژن HLA باشد پیشنهاد می شود که تیمار آرد گندم حاوی گلوتن با آنزیمی مانند پرولیل هیدروکسیلاز[2] نیز می تواند گزینه مناسبی برای بررسی یک رژیم غذایی مناسب برای مبتلایان به سلیاک باشد. موارد پیشنهادی فوق می تواند موضوع پایان نامه های دانشجویان تحصیلات تکمیلی و موضوعات تحقیقاتی برای پژوهشگران به ویژه محققان دوره پسا دکترا در زمینه های بیوشیمی، بیوفیزیک، بیوانفورماتیک، غذای فراسودمند و زیست پزشکی باشد.

سپاسگزاری

از حمایت های دانشگاه تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور، بنیاد ملی نخبگان، کرسی یونسکو در تحقیقات بین رشته ای در دیابت تشکر می شود.

1. Drug delivery

2. Prolyl hydroxylase

REFERENCES:

1. Guerrieri N. Cereal proteins. In: Yada RY, editor. Proteins in food processing. 2nd ed: *Woodhead Publishing* 2017. p. 176-96.
2. Wrigley C, Békés F, Bushuk W. Gliadin and glutenin: the unique balance of wheat quality. *Am Assoc Cereal Chem* 2006; pp.x + 446 pp.
3. Biesiekierski JR. What is gluten? *J Gastroenl Hepatol* 2017;32:78-81.
4. Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* 2002;297:2275-9.
5. Rodrigo L, Peña AS. Celiac Disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity: *Omnia Science* 2014;45-60.
6. Losowsky MS. A history of coeliac disease. *Dig Dis* 2008;26:112-20.
7. Dicke WK, Weijers H, Kamer JvD. Coeliac Disease The Presence in Wheat of a Factor Having a Deleterious Effect in Cases of Coeliac Disease. *Acta Paediatrica* 1953;42:34-42.
8. Paulley JW. Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhoea. *Br Med J* 1954;2:1318-21.
9. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002;50:624-8.
10. Ehsani-Ardakani MJ, Villanacci V, Volta U, Manenti S, Caio G, Giovenali P, et al. Gastrointestinal and non-gastrointestinal presentation in patients with celiac disease. *Arch Iran Med* 2013;16:78-82.
11. Zali MR, Rostami Nejad M, Rostami K, Alavian SM. Liver complications in celiac disease. *Hepat Mon* 2011;11:333-41.
12. Dahele A, Ghosh S. Vitamin B 12 deficiency in untreated celiac disease. *Am J Gastroenterol Suppl* 2001;96:745-50.
13. Krums LM, Bykova SV, Sabelnikova EA, Aminova TV, Poleva NI, Gudkov RB, et al. Reproductive disorders, osteoporosis and secondary hyperparathyroidism with celiac disease. *Terapevt Arkh* 2018;90:89-93.
14. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992;102:330-54
15. Green PH, Jabri B. Coeliac disease. *Lancet* 2003; 362:383-91.
16. Rostami-Nejad MR, Rostami K, Emami MH, Zali MR, Malekzadeh R. Epidemiology of celiac disease in Iran: a review. *Middle East J Dig Dis* 2011;3:5-12.
17. Pasinszki T, Krebsz M. Advances in celiac disease testing. *Adv Clin Chem* 2019;91:1-29.
18. Lindfors K, Ciacci C, Kurppa K, Lundin KE, Makharia GK,

www.SID.ir

Archive of SID

Mearin ML, et al. Coeliac disease. *Nat Rev Dis Primers* 2019;5:1-18.

19. Matysiak-Budnik T, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Lebreton C, Ménard S, Candalh C, et al. Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease. *J Exp Med* 2008;205:143-54.
20. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol* 2002;2:647-55.
21. Han A, Newell EW, Glanville J, Fernandez-Becker N, Khosla C, Chien YH, et al. Dietary gluten triggers concomitant activation of CD4+ and CD8+ αβ T cells and γδ T cells in celiac disease. *Proc Natl Acad Sci* 2013;110:13073-8.
22. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM, et al. Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1998;115:551-63.
23. Przemioslo R, Kontakou M, Nobili V, Ciclitira P. Raised pro-inflammatory cytokines interleukin 6 and tumour necrosis factor alpha in coeliac disease mucosa detected by immunohistochemistry. *Gut* 1994;35:1398-403.
24. Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L, Gabrielli F, Di Cello T, Anania MC, et al. Immunologic evidence of no harmful effect of oats in celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:137-40.
25. Michaëlsson G, Åhs S, Hammarström I, Lundin IP, Hagforsen E. Gluten-free diet in psoriasis patients with antibodies to gliadin results in decreased expression of tissue transglutaminase and fewer Ki67+ cells in the dermis. *Acta Derm Venereol* 2003;83:425-9.
26. Stanković B, Radlović N, Leković Z, Ristić D, Radlović V, Nikčević G, et al. HLA genotyping in pediatric celiac disease patients. *Bosnian J Basic Med* 2014;14:171-6.
27. Martina S, Fabiola F, Federica G, Chiara B, Gioacchino L, Francesco DM, et al. Genetic susceptibilty and celiac disease: what role do HLA haplotypes play?. *Acta Biomed* 2018;89:17-21.
28. Klitz W, Maiers M, Spellman S, Baxter-Lowe L, Schmeckpeper B, Williams T, et al. New HLA haplotype frequency reference standards: High-resolution and large sample typing of HLA DR-DQ haplotypes in a sample of European Americans. *Tissue Antigens* 2003;62:296-307.
29. van Heel DA, Hunt K, Greco L, Wijmenga C. Genetics in coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19:323-39.
30. Michalski J, McCombs C, Arai T, Elston R, Cao T, McCarthy C, et al. HLA-DR, DQ genotypes of celiac disease patients and healthy subjects from the West of Ireland. *Tissue Antigens* 1996;47:127-33.
31. Kaur G, Sarkar N, Bhatnagar S, Kumar S, Rapthap CC, Bhan MK, et al. Pediatric celiac disease in India is associated with multiple DR3-DQ2 haplotypes. *Hum Immunol* 2002;63:677-82.
32. Layrisse Z, Guedez Y, Domínguez E, Paz N, Montagnani S, Matos M, et al. Extended HLA haplotypes in a carib amerindian population: the Yucpa of the Perija Range. *Hum Immunol* 2001;62:992-1000.
33. Rostami-Nejad M, Romanos J, Rostami K, Ganji A, Ehsani-Ardakani MJ, Bakhshipour A-R, et al. Allele and haplotype frequencies for HLA-DQ in Iranian celiac disease patients. *World J Gastroenterol* 2014;20:6302-8.
34. Khosravi A, Mansouri M, Rostami-Nejad M, Shahbazkhani B, Ekhlasi G, Kalantari E. The likelihood ratio and frequency of DQ2/DQ8 haplotypes in Iranian patients with celiac disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2016;9:18-24.
35. Simoons FJ. Celiac disease as a geographic problem. In: Walcher DN, Kretchmer N, editors. Food, nutrition and evolution: food as an environmental factor in the genesis of human variability: Masson Pub. *USA*; 1981. p. 179-99.
36. Zhernakova A, Elbers CC, Ferwerda B, Romanos J, Trynka G, Dubois PC, et al. Evolutionary and functional analysis of celiac risk loci reveals SH2B3 as a protective factor against bacterial infection. *Am J Hum Genet* 2010;86:970-7.
37. Catassi C. Where is celiac disease coming from and why? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40:279-82.
38. Petersen J, Ciacchi L, Tran MT, Loh KL, Kooy-Winkelaar Y, Croft NP, et al. T cell receptor cross-reactivity between gliadin and bacterial peptides in celiac disease. *Nat Struct Mol Biol* 2020;27:49-61.
39. Johansson E, Malik AH, Hussain A, Rasheed F, Newson WR, Plivelic T, et al. Wheat gluten polymer structures: the impact of genotype, environment, and processing on their functionality in various application. *Cereal Chem* 2013;90:367-76.
40. Ortolan F, Steel CJ. Protein characteristics that affect the quality of vital wheat gluten to be used in baking: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2017;16:369-81.
41. Engstrom N, Saenz-Méndez P, Scheers J, Scheers N. Towards Celiac-safe foods: Decreasing the affinity of transglutaminase 2 for gliadin by addition of ascorbyl palmitate and ZnCl 2 as detoxifiers. *Sci Rep* 2017;7:1-8.
42. Wieser H, Koehler P. The biochemical basis of celiac disease. *Cereal Chem* 2008;85:1-13
43. Balakireva AV, Zamyatnin AA. Properties of Gluten Intolerance: Gluten Structure, Evolution, Pathogenicity and Detoxification Capabilities. *Nutrients* 2016;8:644.
44. Cornell HJ, Stelmasiak T. The Significance of Key Amino Acid Sequences in the Digestibility and Toxicity of Gliadin Peptides in Celiac. *Int J Celiac Dis* 2016;4:113-20.
45. Kim CY, Quarsten H, Bergseng E, Khosla C, Sollid LM. Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101:4175-9.
46. Dahal-Koirala S, Ciacchi L, Petersen J, Risnes LF, Neumann RS, Christophersen A, et al. Discriminative T-cell receptor recognition of highly homologous HLA-DQ2–bound gluten epitopes. *J Biol Chem* 2019;294:941-52.
47. Ting YT, Dahal-Koirala S, Kim HS, Qiao SW, Neumann RS, Lundin KE, et al. A molecular basis for the T cell response in HLA-DQ2. 2 mediated celiac disease. *Proc Natl Acad Sci* 2020;117:3063-73.

www.SID.ir