



***La Celiachia nel terzo millennio:  
dalla diagnosi alla terapia***



***Nuove opzioni terapeutiche***

***Laura de Magistris  
Gastroenterologia, SUN***



*La Celiachia nel terzo millennio:  
dalla diagnosi alla terapia*



***perchè???***

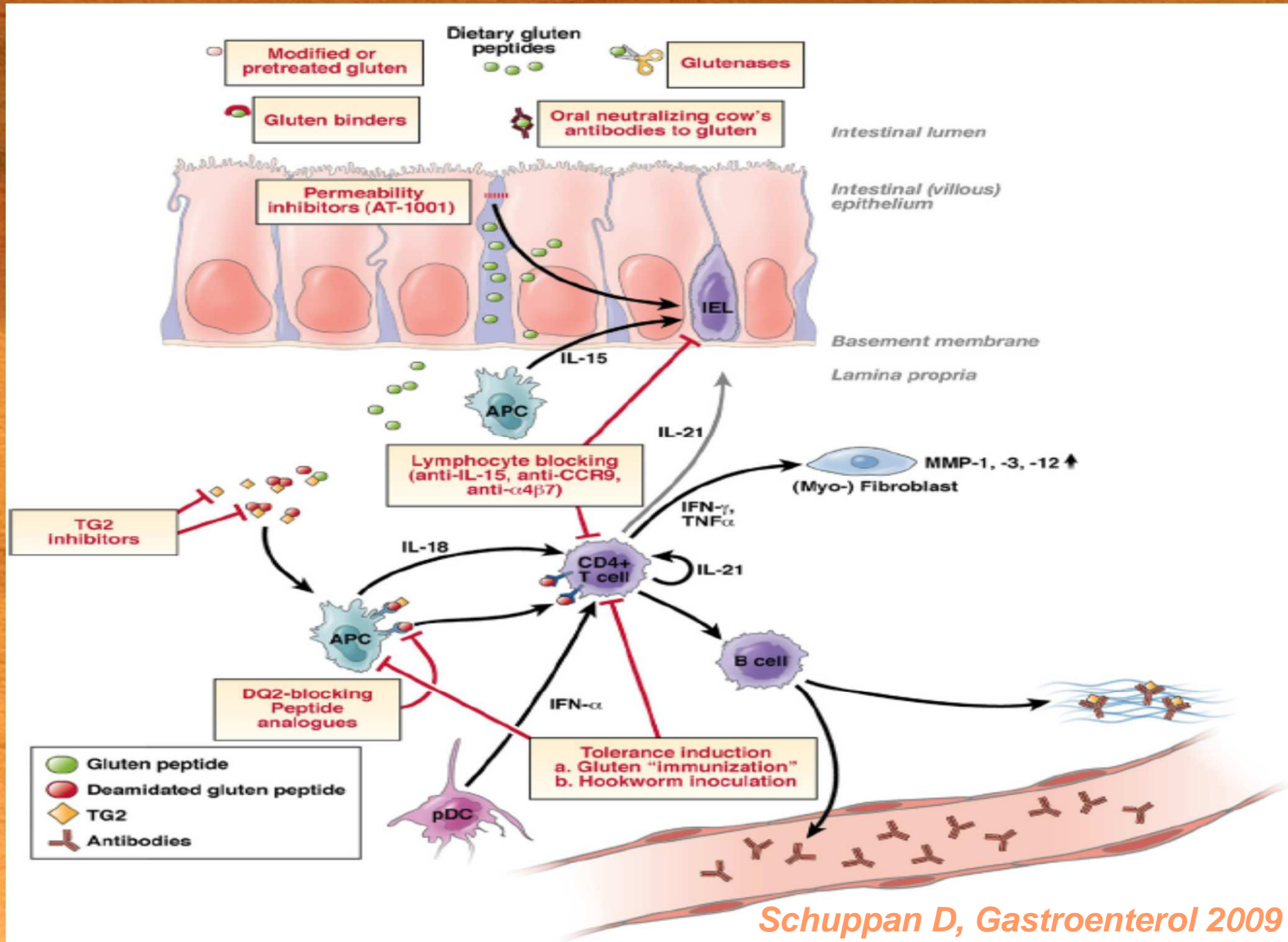
***Nuove opzioni terapeutiche***

# Nuove opzioni terapeutiche

## Perché

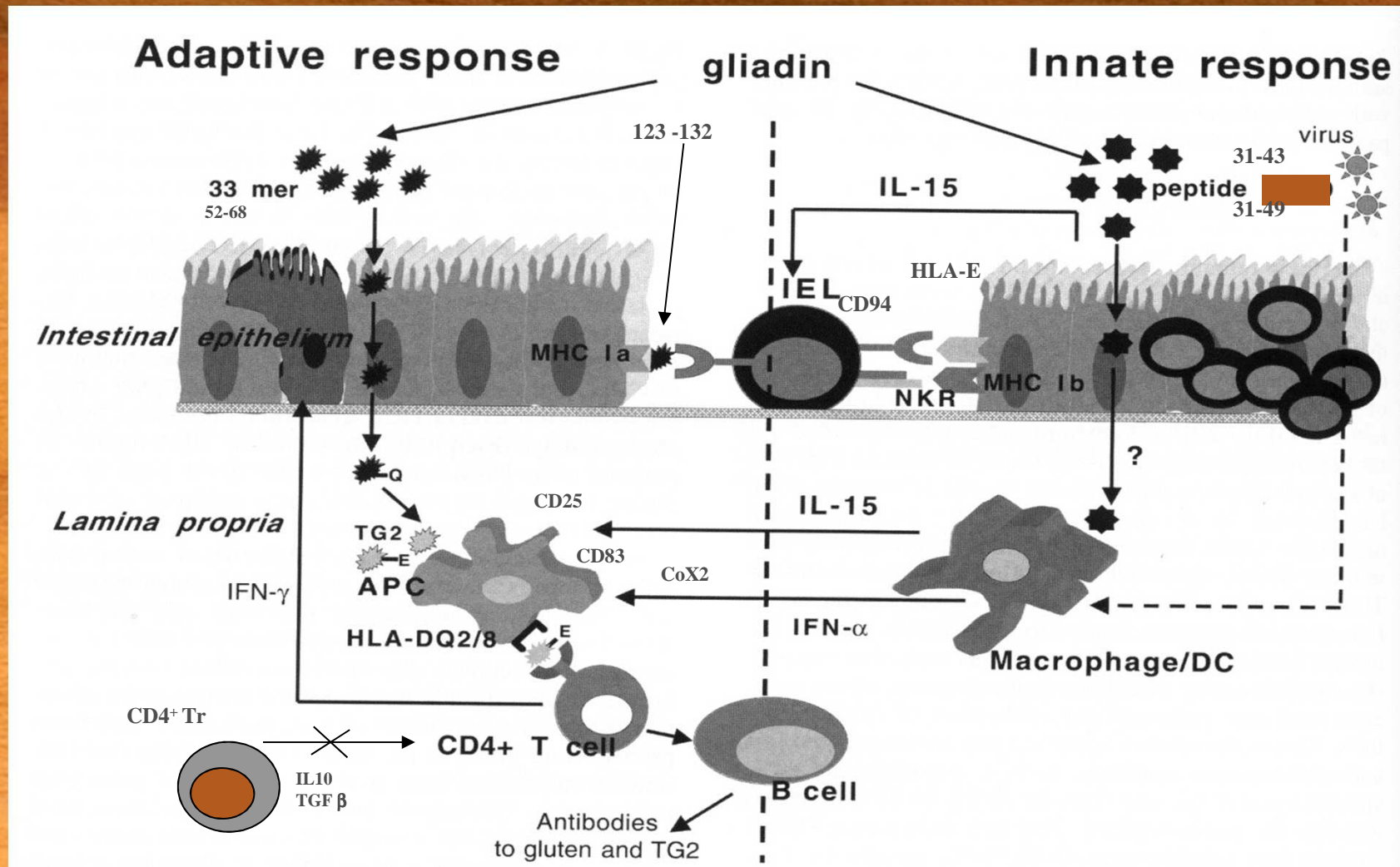
- **Difficile compliance alla GFD (restrizioni sociali, limitata varietà di scelta del cibo, costi elevati)**
- **Difficoltà di adesione (in alcuni luoghi o circostanze)**
- **Pz ad alta sensibilità: tracce di glutine**
- **Protezione intermittente vs permanente**
- **Challenge scientifico**

# PUNTI D'ATTACCO DELLE TERAPIE ALTERNATIVE ALLA DIETA SENZA GLUTINE



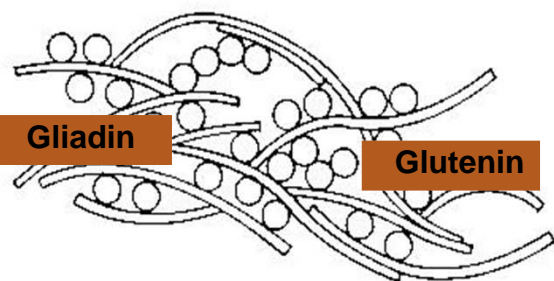
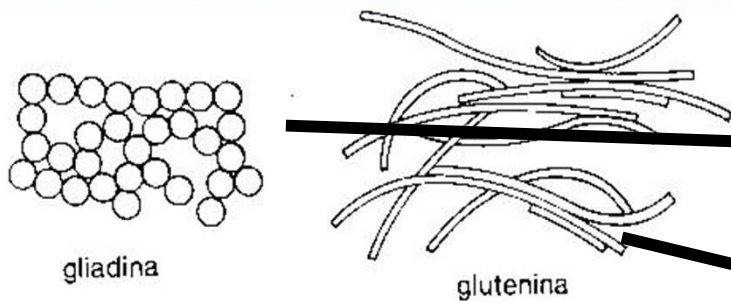
Schuppan D, Gastroenterol 2009

# *I protagonisti: peptidi derivati dalla digestione della gliadina ad opera di enzimi del brush border (GLYCY-PROLYL-DIPEPTIDYL-AMINOPEPTIDASE e PROLYL-CARBOXYPEPTIDASE)*

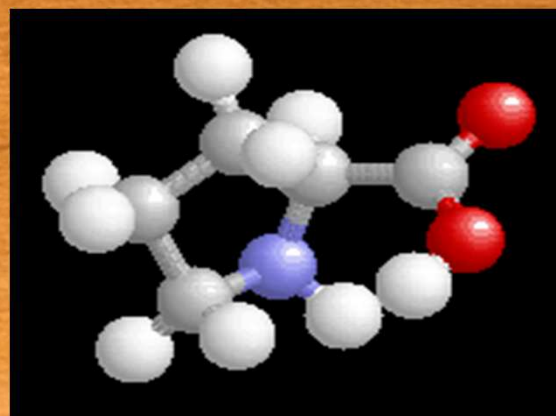
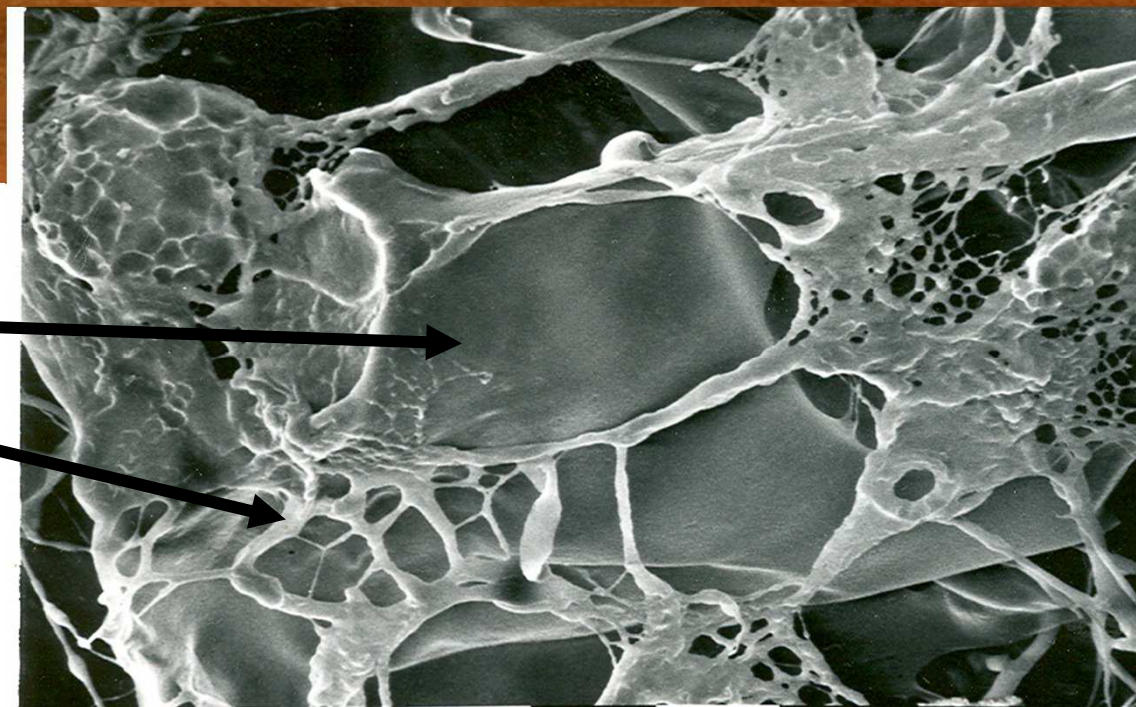


From Cerf-Bensussan, modified

# Che cosa ha di speciale il glutine?



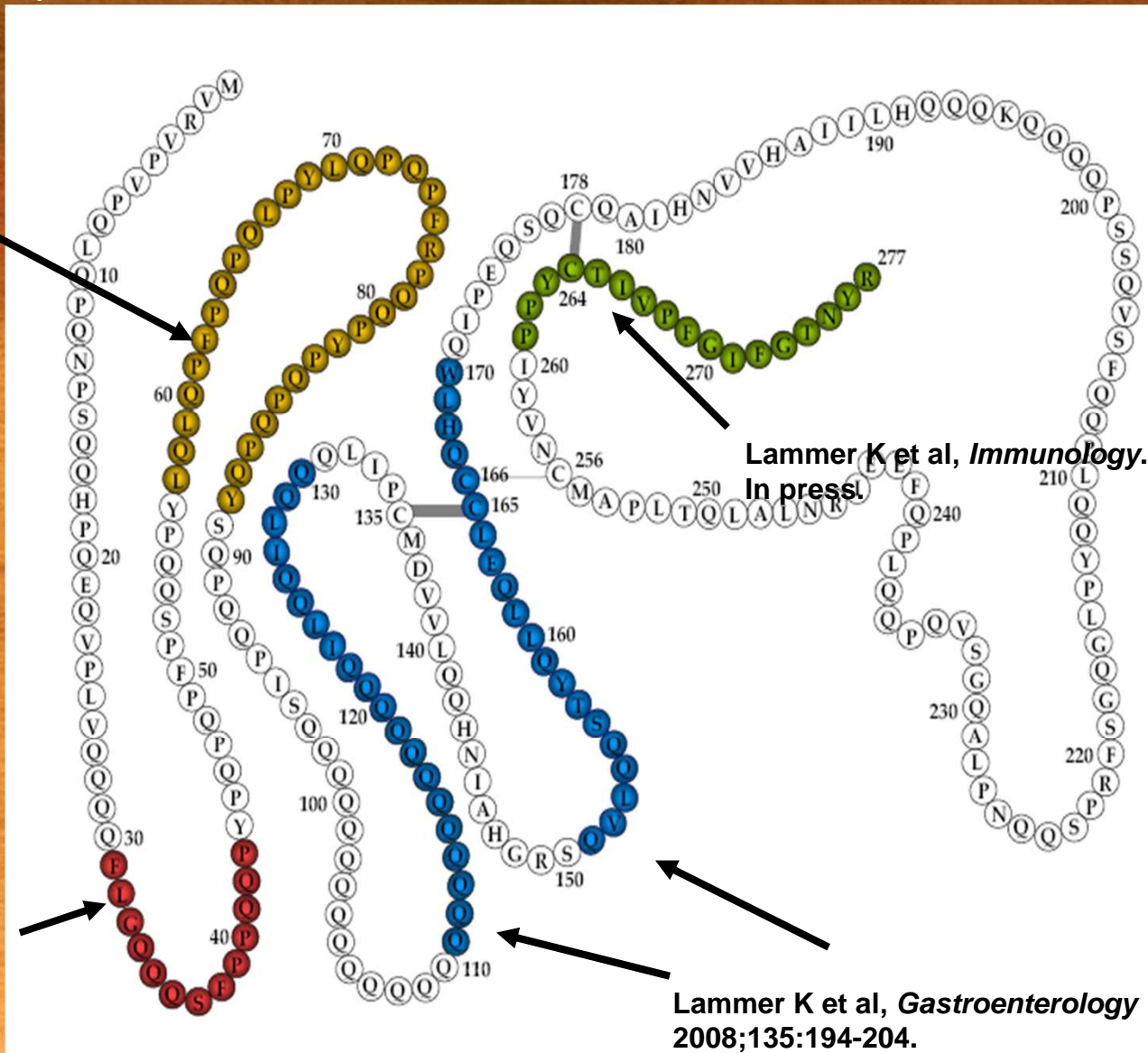
glutine (gliadina + glutenina)



I peptidi derivati dalla digestione del glutine hanno attività citotossica (rosso), immunomodulatoria (verde chiaro), rilasciano zonulina e aumentano la permeabilità (blu), rilasciano IL-8 (CXCR3-dipendente) in pazienti CD (verde scuro).

Shan L et al, *Science*. 2002; 297:2275-9.

Maiuri et al. *Scand J Gastroenterol*. 1996; 31:247-53.



Lammer K et al, *Immunology*.  
In press.

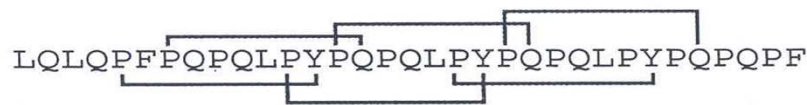
Lammer K et al, *Gastroenterology*  
2008;135:194-204.

# *Livello luminale*

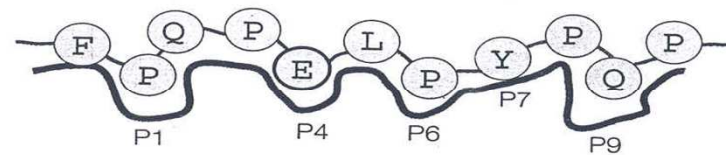
## *33mer ( $\alpha$ 2-gliadin 56-88)*

**Prodotto finale della digestione, resistente all'idrolisi a causa dell'elevato contenuto in proline (13 su 33 residui)**

Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder  
Sollid LM. Nat Rev Immunol 2002;2:647-55



Oligomerized epitopes



Binding to HLA-DQ2

## *Livello luminale*

# STRATEGIE ADOTTATE PER “DETOSSIFICARE” IL FRUMENTO

- **Breeding e selezione di linee di frumento a basso contenuto in gliadine**
- **Modificazioni genetiche per eliminare le sequenze antigeniche**

## PROBLEMATICHE

- ✓ **Elevato numero di geni distribuiti su 42 cromosomi**
- ✓ **Elevata variabilità genetica**
- ✓ **Diffusione di varietà coltivate**

# Evoluzione del Grano

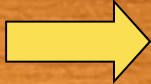


*T. turgidum* AABB  
28 chromosomes  
100,000 genes

+



*Aegilops tauschii* DD  
14 chromosomes  
50,000 genes



*T. aestivum* AABBDD  
42 chromosomes  
150,000 genes



Emile Claus

Livello luminale



Migliorare le proprietà tecnologiche introducendo le sequenze gluteniniche con le migliori caratteristiche reologiche

STRATEGIA

Utilizzare un cereale non allergenico

*Oryza sativa*



## **Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue**

Lu Shan,<sup>1</sup> Øyvind Molberg,<sup>5</sup> Isabelle Parrot,<sup>1</sup> Felix Hausch,<sup>1</sup>  
Ferda Filiz,<sup>1</sup> Gary M. Gray,<sup>2</sup> Ludvig M. Sollid,<sup>5</sup>  
Chaitan Khosla<sup>1,3,4\*</sup>

Il peptide tossico di 33 aa, deaminato dalla transglutaminasi e riconosciuto dall'HLA DQ2, potrebbe essere specificamente scisso da peptidasi batteriche che potrebbero essere utilizzate per pretrattare il cibo

.... la parola a Carmen Gianfrani!!!

## Livello luminale

- **Somministrazione orale di anticorpi IgG anti-glutine originati nel latte bovino (Shuppan, 2009)**

**Le IgG ingerite sono resistenti all'ambiente acido gastrico, e l'attività neutralizzante resiste (almeno il 50%) fino all'ileo terminale (Warny M et al, Gut 1999)**

**Facile ed economico produrli, anche in larga scala**

**Prodotto nutrizionale sicuro, come altri derivati del latte vaccino, non soggetto a restrizioni**

**Trial clinico (fase 1, USA) previsto**

## Livello luminale

- **Binding intraluminale dei peptidi derivati dal glutine BL-7010 (copolimero non assorbibile capace di “sequestrare” la gliadina) della BioLineRx Ltd (CDDW abstracts 2012: A179)**

### **SUPPRESSION OF CHRONIC GLUTEN-INDUCED ENTEROPATHY BY A POLYMERIC BINDER IN HCD4-DQ8 TRANSGENIC MICE**

**H Galipeau, et al. Hamilton, ON; Montreal, QC; Rochester, MN; Zürich, Switzerland; Sherbrooke, QC**

When HCD4-DQ8 mice are sensitized with gluten they develop acute gut dysfunction and mild intraepithelial lymphocytosis. This is prevented by oral treatment with the polymeric gluten binder (P(HEMA-co-SS)).

Following sensitization (gluten plus cholera toxin) mice were gavaged with or without P(HEMA-co-SS; 4 mg), followed by challenge with a mixture of wheat starch, BSA, and gluten (2 mg each) twice a day, three times a week, for three weeks. Parameters: IEL counts, villus/crypt ratios, AGA IgA, weight loss, blood glucose levels.

Treatment with the polymeric gluten-binder (P(HEMA-co-SS)) prevented the development of enteropathy and AGAs in gluten-sensitized mice. This supports the potential therapeutic value of this novel mode of treatment for patients with CD and other gluten-induced disorders

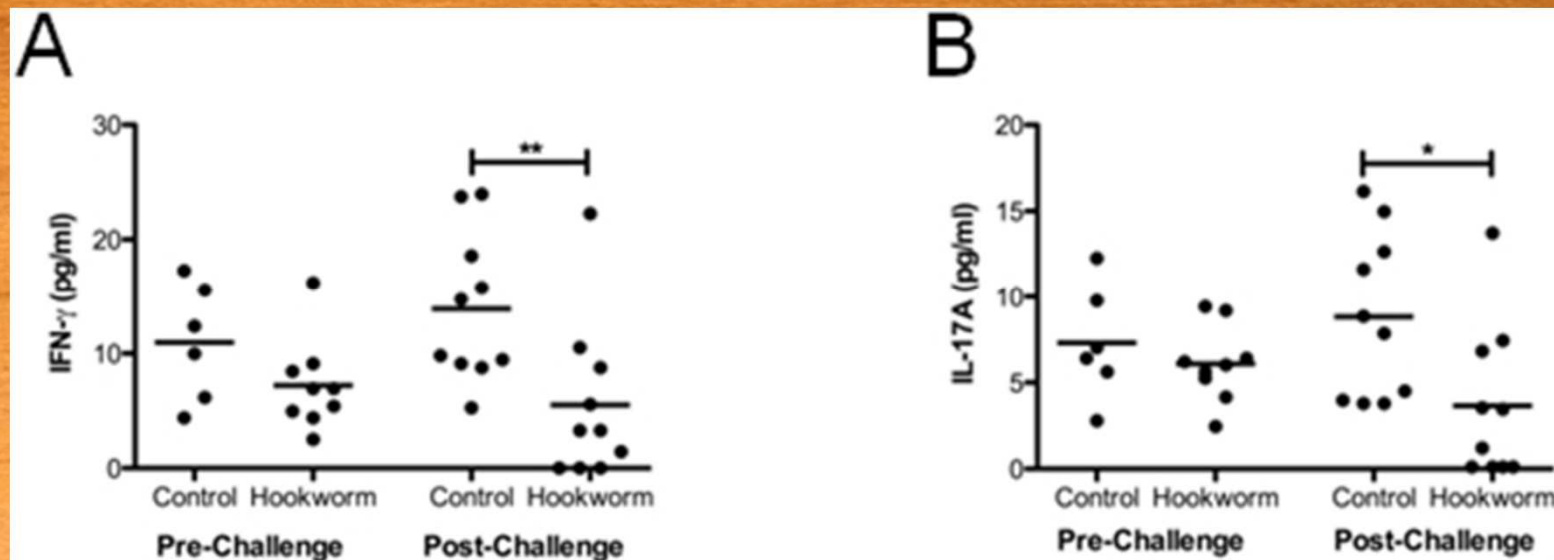
## Livello luminale??



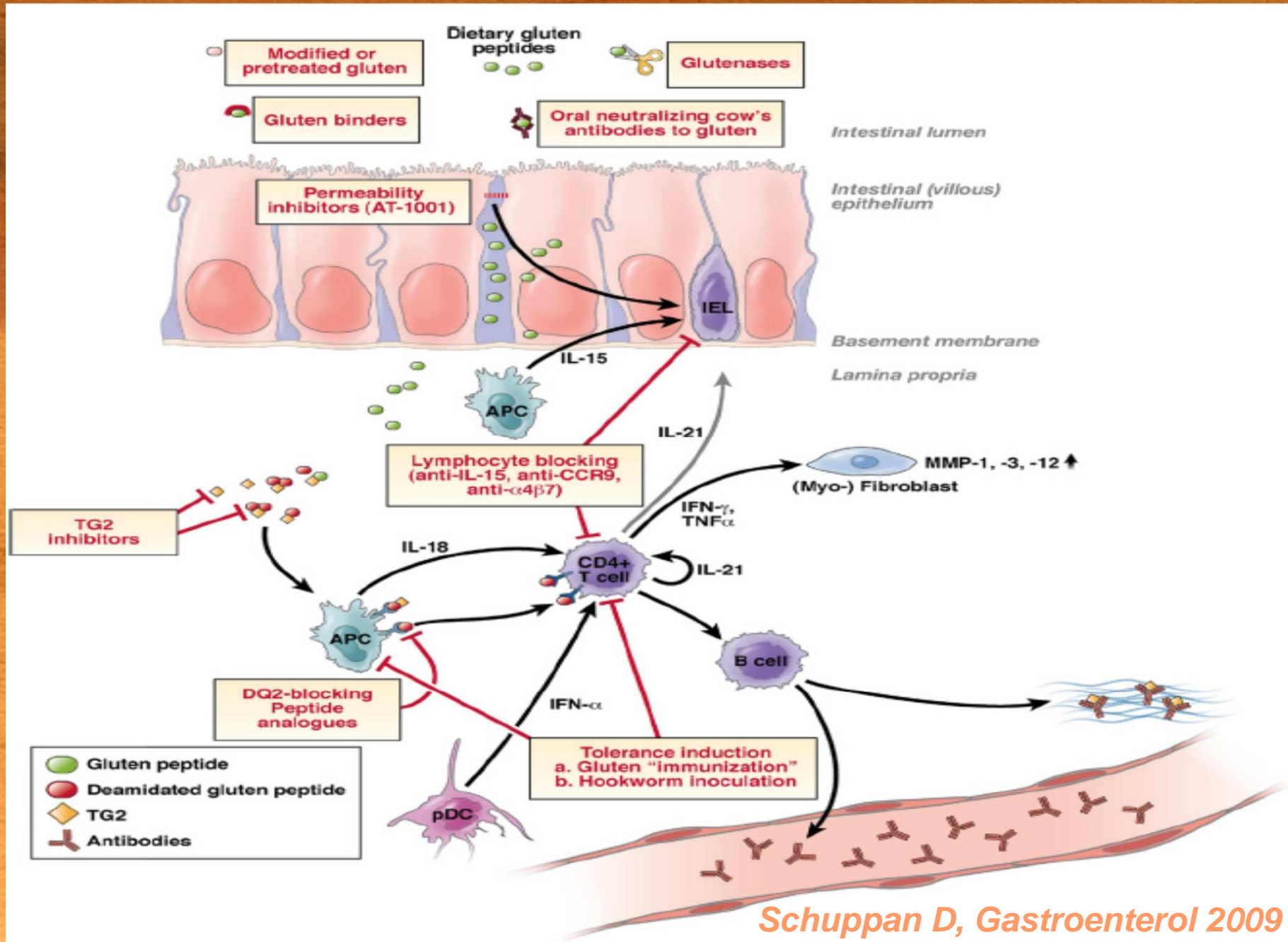
Trattamento mediante infezione con vermi parassiti (nematodi) *Necator americanus*; le larve penetrano per via orale o cutanea nell'uomo e si attaccano alla parete intestinale.

Il contagio di 20 volontari celiaci con il parassita intestinale, in un trial clinico di fase 1 eseguito in Australia, ha dimostrato di poter indurre una maggiore tolleranza a cibi contenenti glutine, dopo challenge, dimostrata dalla soppressione di produzione basale e post-challenge di IFN- $\gamma$  e IL-17 (mediata da produzione di IL-10?) nei soggetti infettati. Nessun miglioramento clinico-sintomatologico ed un trend di ridotta infiammazione della mucosa.

Dopo la sperimentazione di 21 giorni, ai volontari è stata offerto un trattamento per liberarsi dei parassiti, ma tutti hanno scelto di continuare ad ospitarli.



# PUNTI D'ATTACCO DELLE TERAPIE ALTERNATIVE ALLA DIETA SENZA GLUTINE



*Livello epiteliale*

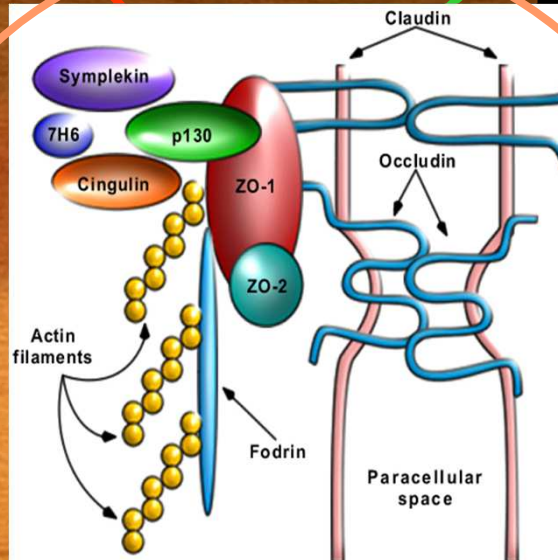
# Novel Paradigm for Autoimmunity

Autoimmune diseases involve a miscommunication between innate and adaptive immunity

Genetics



Environment



Barriera Mucosa

Autoimmunity

- A third key element necessary to develop autoimmunity is the loss of the mucosal barrier function, so allowing the interplay between genes and environment.

## Inibizione della permeabilità intestinale: AT-1001

Journal of Cell Science 113, 4435-4440 (2000)  
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 2000  
JCS1508

### Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions

Wenle Wang<sup>1</sup>, Sergio Uzzau<sup>1</sup>, Simeon E. Goldblum<sup>2</sup> and Alessio Fasano<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Pediatric Gastroenterology and Nutrition and Gastrointestinal Pathophysiology Section, Center for Vaccine Development, <sup>2</sup>Division of Infectious Diseases, Department of Veterans Affairs Medical Center and <sup>3</sup>Department of Physiology, University of Maryland, School of Medicine, Baltimore, Maryland 21201, USA

\*Author for correspondence at address 1 (e-mail: afasano@umaryland.edu)

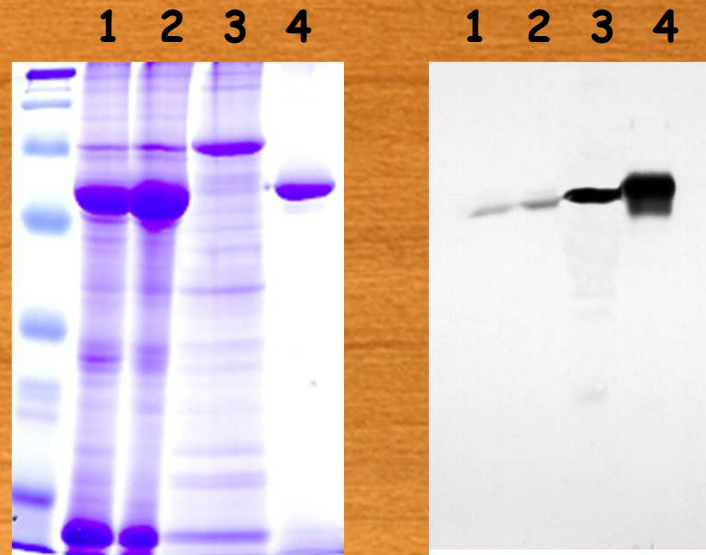
## PURIFICATION PROTOCOL FROM HUMAN INTESTINE

1: Tissue lysate

2: Sephacryl-S300

3: Q-sepharose

4: Immuoaffinity



Coomassie

Western blot

# Zonulin Receptor Distribution in Small Intestine: Villous vs Crypt



Villous



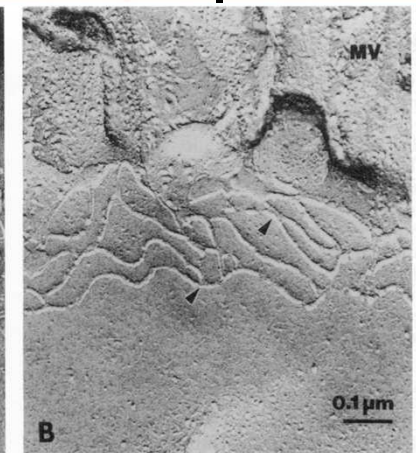
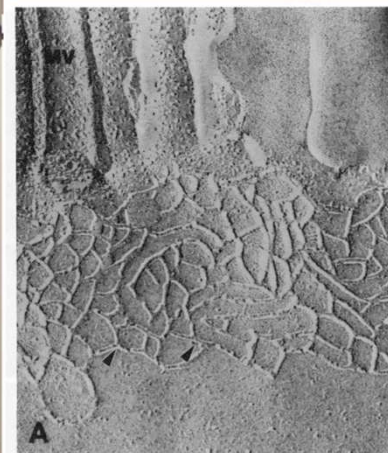
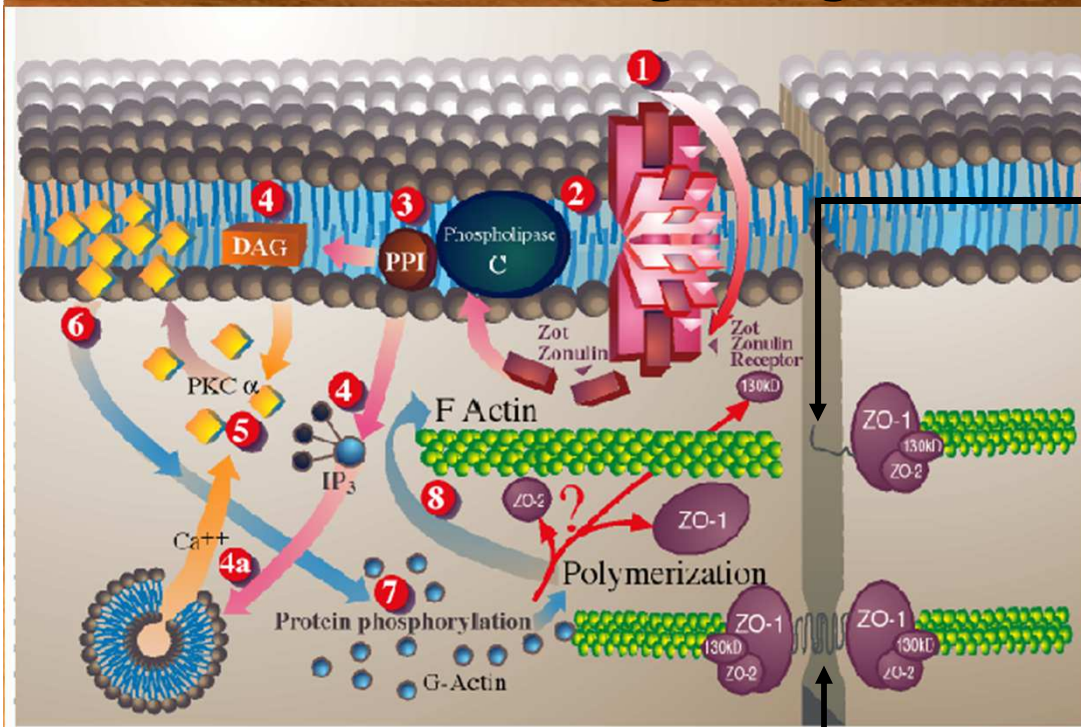
Crypt

# Proposed Zonulin Mechanism of Action

Zonulin signaling

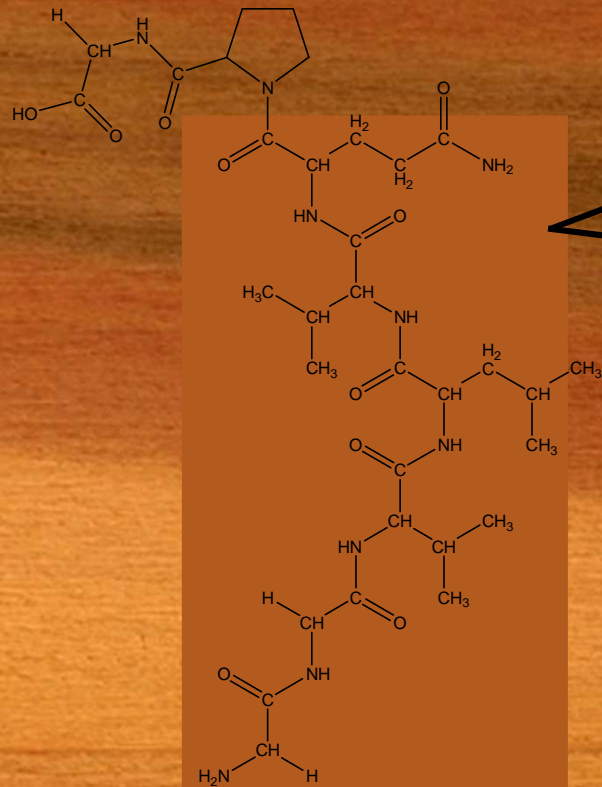
Freeze-Fracture

Following Pathway  
Activation

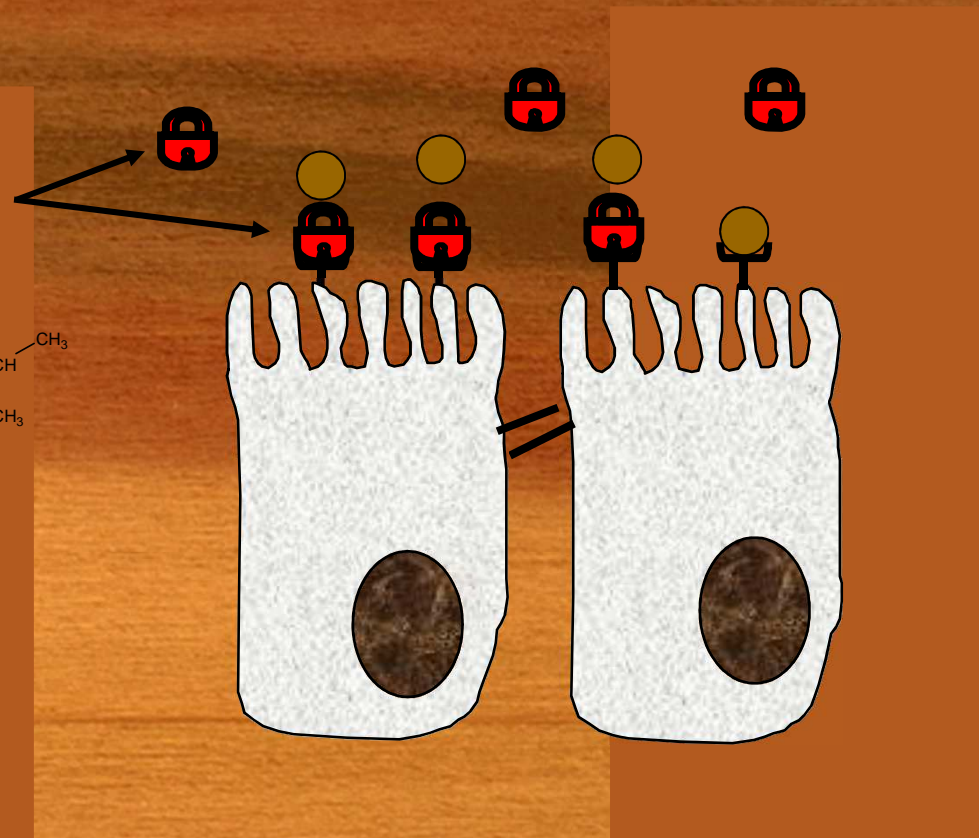


Resting State

# AT-1001, the Zonulin Inhibitor



$C_{32}H_{55}N_9O_{10}$   
 Exact Mass: 725.41  
 Mol. Wt.: 725.83  
 m/e: 725.41 (100.0%), 726.41 (35.6%), 727.41 (9.2%), 726.40 (3.3%)  
 C, 52.95; H, 7.64; N, 17.37; O, 22.04



<b>Structure:</b> GGVLVQPG	<b>Physical State:</b> amorphous white powder
<b>Molecular Weight:</b> 725.83	<b>Melting Point:</b> 200 – 230° C = combustion
<b>API Stability/Storage:</b>	<b>Solubility:</b> > 13.3 mg/ml
<b>API Purity:</b> (spec = > 97%)	<b>Partition Coeff.:</b> logD = (-)4.12 @ pH 7.4
<b>API Polymorphs:</b> truncated fractions	<b>pKa:</b> amine = 7.81 carboxy = 3.5

# **LARAZOTIDE (Alba Therapeutics)**

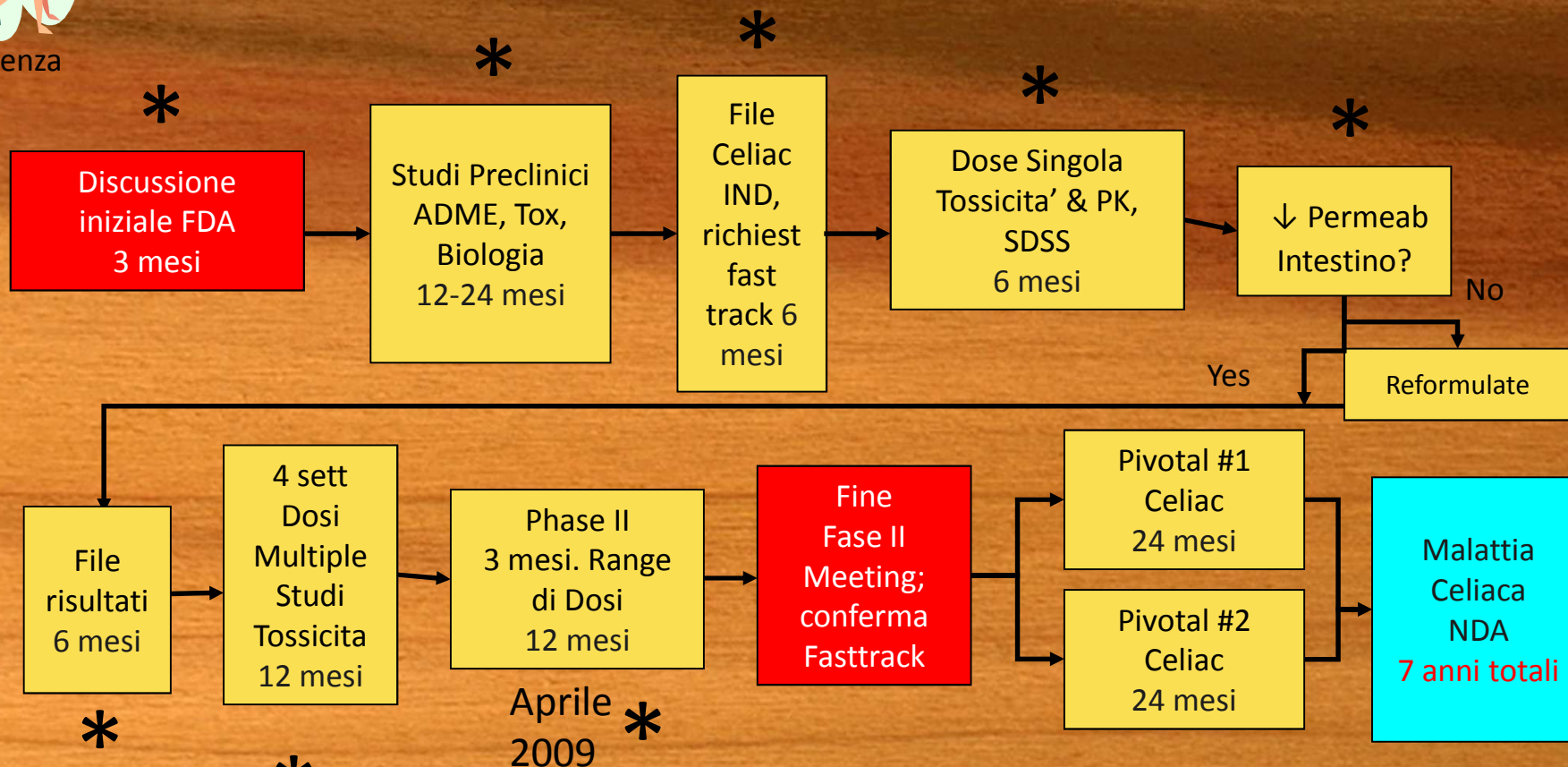
## **regolatore delle tight junctions**

- **Inibisce transitoriamente e reversibilmente l'apertura delle tight junctions**
- **Studio-pilota su 184 celiaci in challenge con 3 g di glutine per 6 settimane: 35-40% dei trattati presenta sintomi e/o aumento TTG rispetto al 70% nei controlli**
- **Prodotto sicuro dopo somministrazione per 8 settimane**
- **Possibile complemento alla dieta senza glutine ?**

# La pillola anti-zonulina: La Roadmap da SCOPERTA/SVILUPPO a PRODUZIONE/SVILUPPO



Partenza



Per saperne di piu':  
[www.albatherapeutics.com](http://www.albatherapeutics.com)



# Clinicaltrials.gov

Rank	Status	Study
1	Completed	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Larazotide Acetate (AT-1001) in Active Celiac Disease: <b>efficacy on remission in CD on GFD</b>
	Condition:	Celiac Disease
	Interventions:	Drug: larazotide acetate (AT-1001); Drug: placebo
2	Completed	Safety Study of AT1001 to Treat Celiac Disease.
	Condition:	Celiac Disease
	Intervention:	Drug: AT-1001
3	Completed	Safety of AT-1001 in Healthy Volunteers
	Condition:	Healthy
	Intervention:	Drug: AT-1001
4	Completed	Phase IIb Study to Study the Efficacy of AT1001 to Treat Celiac Disease
	Condition:	Celiac Disease
	Interventions:	Drug: AT-1001; Drug: placebo
5	Completed	Study of the Efficacy of AT1001 (Larazotide Acetate) to Treat Celiac Disease
	Condition:	Celiac Disease
	Interventions:	Drug: Larazotide acetate (AT1001); Drug: Placebo
6	<b>Recruiting</b>	A Double-blind Placebo-controlled Study to Evaluate Larazotide Acetate for the Treatment of Celiac Disease
	Condition:	Celiac Disease
	Interventions:	Drug: Larazotide Acetate 0.5 mg; Drug: Larazotide Acetate 1 mg; Drug: Larazotide Acetate 2 mg; Drug: placebo
7	Completed	Safety and Tolerability Study of AT1001 in Celiac Disease Subjects
	Condition:	Celiac Disease
	Intervention:	Drug: AT1001

# ***Conclusioni***

**Esplorare terapie diverse e/o associabili alla GFD è utile per migliorare la gestione della malattia celiaca**

**Tutte le possibili terapie alternative sono ancora in fase di ricerca; allo stato attuale sono tutte da considerarsi aggiuntive e non sostitutive della GFD**

**Ad oggi, studi clinici controllati e randomizzati nell'uomo sono stati iniziati (nessuno al termine) solo per le seguenti:**

- 1. Larazotide acetato (transito para-cellulare)**
- 2. Endopepsidasi (ALV003 and AN-PEP)**
- 3. Vaccino (induzione della tolleranza)**
- 4. Infezione da *Necator americanus***
- 5. Antagonista del CCR9 (Traficet-EN)**

Ringraziando per l'attenzione,  
passo la palla a Carmen Gianfrani

