

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Eliška Belanová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Celiakie z pohledu epigenetiky  
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2024/2025

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Eliška Belanová**  
Osobní číslo: **C22441**  
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**  
Téma práce: **Celiakie z pohledu epigenetiky**  
Téma práce anglicky: **Celiac Disease from an Epigenetic Perspective**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Popis problematiky
  - a. Celiakie
  - b. Epigenetické mechanismy
2. Epigenetické mechanismy ovlivňující celiakii

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Vojtěch Vejvoda, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.**  
děkan

L.S.

**prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Celiakie z pohledu epigenetiky jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 16.6.2025

Eliška Belanová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat všem, kteří mi pomohli v realizaci bakalářské práce. Největší poděkování patří panu Mgr. Vojtěchu Vejvodovi, Ph.D. za trpělivost, čas, ochotu, skvělý přístup a také za cenné rady, které jsem při psaní práce využila. Poděkování patří také mé rodině a přátelům, kteří mi byli oporou po celou dobu mého studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce má za cíl čtenáře seznámit s problematikou celiakie z epigenetického hlediska. Úvodní část práce se věnuje samotné celiakii, její diagnostice a environmentálními faktory, které také mohou za rozvoj onemocnění. Následně se práce zaměřuje na epigenetické mechanismy, jako je methylace DNA, histonové modifikace a působení nekódujících RNA, a jejich vliv na regulaci genové exprese u jedinců s genetickou predispozicí. Závěr této práce je věnován případné terapii z epigenetického a imunologického hlediska.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Celiakie, epigenetika, methylace DNA, histonové modifikace, nekódující RNA, terapie

## **TITLE**

Celiac Disease from an Epigenetic Perspective

## **ANNOTATION**

This bachelor's thesis aims to introduce the reader to the issue of celiac disease from an epigenetic perspective. The introductory part focuses on the disease itself, its diagnosis, and environmental factors that may also contribute to its development. The following section explores epigenetic mechanisms such as DNA methylation, histone modifications, and the role of non-coding RNAs, and their impact on gene expression regulation in individuals with genetic predisposition. The final part of the thesis discusses potential therapeutic approaches from both epigenetic and immunological perspectives.

## **KEYWORDS**

Celiac disease, epigenetics, methylation of DNA, histone modifications, non-coding RNA, therapy

# OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	10
SEZNAM ZKRATEK .....	11
ÚVOD.....	13
1. CELIAKIE.....	14
1.1 Charakteristika .....	14
1.2 Lepek .....	14
1.3 Druhy celiakie.....	14
1.3.1 Symptomatická celiakie.....	15
1.3.2 Asymptomatická celiakie.....	15
1.3.3 Potenciální celiakie.....	15
1.4 Druhy celiakie podle fenotypických projevů.....	16
1.4.1 Klasická celiakie .....	16
1.4.2 Neklasická celiakie.....	16
1.4.3 Subklinická celiakie .....	17
1.5 Patogeneze .....	17
1.5.1 Úloha genetiky ve vývoji onemocnění .....	17
1.5.1.1 Genetické vyšetření .....	18
1.5.2 Environmentální faktory.....	18
1.5.2.1 Strava .....	19
1.5.2.2 Infekce .....	19
1.5.2.3 Mikrobiom .....	19
1.6 Diagnostika .....	19
1.7 Imunitní mechanismus u celiakie.....	20
2. EPIGENETIKA .....	22
2.1 Historie epigenetiky .....	22
2.2 Epigenetické modifikace .....	23
2.3 Methylace DNA .....	24

2.3.1	Proces methylace DNA.....	25
2.3.2	CpG dinukleotidy .....	26
2.3.3	Non-CpG dinukleotidy .....	26
2.3.4	Vliv methylace DNA na celiakii .....	26
2.4	Histonové modifikace.....	27
2.4.1	Přehled histonů.....	27
2.4.2	Přehled histonových modifikací.....	30
2.4.3	Histonové modifikace spojené s celiakií .....	31
2.5	Nekódující RNA.....	32
2.5.1	Dlouhé nekódující RNA (lncRNA).....	32
2.5.2	MikroRNA (miRNA) .....	33
2.5.2.1	MikroRNA v diagnostice celiakie.....	34
3.	TERAPIE.....	36
3.1	Epigenetická terapie .....	36
3.2	Jiné terapie .....	37
3.2.1	Latiglutenáza .....	37
3.2.2	Polymer BL-7010 .....	37
	ZÁVĚR .....	39
	POUŽITÁ LITERATURA .....	40

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Schéma chorob vyvolaných lepkem .....	14
Obrázek 2: Endoskopické fotografie dvanáctníku .....	20
Obrázek 3: Schématické znázornění transportu peptidů lepku .....	21
Obrázek 4: Mechanismus methylace a demethylace .....	25
Obrázek 5: Varianty lidských histonů .....	27
Obrázek 6: Struktura částic jádra nukleozomu .....	28
Obrázek 7: Biogeneze a funkce miRNA.....	33

## SEZNAM ZKRATEK

5caC	5-karboxylecytosin (5-carboxylsytosine)
5fC	5-formylecytosin (5-formylcytosine)
5hmC	5-hydroxymethylcytosin (5-hydroxymethylcytosine)
5mC	5-methylcytosin (5-methylecytosine)
BL-7010	syntetický polymer (synthetic polymer)
CD4+	typ pomocných T-lymfocytů (type of helping T-lymphocytes)
CD8+	typ cytotoxických T-lymfocytů (type of cytotoxic T-lymphocytes)
CircRNA	kruhová RNA (circular RNA)
CpG	5'-cytosin-fosfát-guanin-3' (5'-cytosine-phosphate-guanine-3')
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleotid acid)
DNMT	DNA-methyltransferáza (DNA-methyltransferase)
DNMT3a	DNA methyltransferázu 3a ( DNA-methyltransferase 3a)
DNMT3b	DNA methyltransferázu 3b ( DNA-methyltransferase 3b)
GADD45A	protein reagující na poškození DNA (damage-inducible protein)
GWAS	celogenomová asociační studie (genome-wide association study)
H1	histon H1 (histone H1)
H2A	histon H2A (histone H2A)
H2A.X	varianta histonu H2A.X (histone variant H2A.X)
H2A.Z	varianta histonu H2A.Z (histone variant H2A.Z)
H2B	histon H2B (histone H2B)
H3	histon H3 (histone H3)
H3.1	histon H3.1 (histone variant H3.1)
H3.2	histon H3.2 (histone variant H3.2)
H3K27ac	acetylace lysinu 27 na histonu H3 (acetylation of lysine 27 on histone H3)
H4	histon H4 (histone H4)
HAT	histonacetyltransferáza (histoneacetyltransferase)
HDAC	inhibitor histon deacetyláza (inhibitor histone deacetylase)
HLA-DQ2	alela HLA-DQ2 (HLA-DQ2 allele)
HLA-DQ8	alela HLA-DQ8 (HLA-DQ8 allele)
HLA-DQ9	alela HLA-DQ9 (HLA-DQ9 allele)
IL-2	interleukin-2
IL-21	interleukin-21
IL-8	interleukin-8
IL1RA	gen pro antagonistu receptoru interleukinu 1 (gene encoding interleukin-1 antagonist)
INF-β	interferon-beta
IFN-γ	interferon-gama
ITGA4/UBE2E3	genová oblast ITGA4/UBE2E3 (genomic locus ITGA4/UBE2E3)
Let-7a-5p	mikroRNA Let-7a-5p
Let-7d-3p	mikroRNA Let-7d-3p
Let-7e-5p	mikro RNA Let-7e-5p

Lnc13	dlouhá nekódující RNA 13 (long non-coding RNA)
LncRNA	dlouhá nekódující RNA (long non-coding RNA)
MiRNA	microRNA
MiR-1246	mikroRNA-1246
MiR-144-3p	mikroRNA-144-3p
MiR-150-3p	mikroRNA-150-3p
MiR-150-5p	mikroRNA-150-5p
MiR-21-3p	mikroRNA-21-3p
MiR-342-3p	mikroRNA-342-3p
MiR-3605-3p	mikroRNA-3605-3p
MiR-37a-5p	mikroRNA-37a-5p
MiR-375-3p	mikroRNA-375-3p
MiR-486-3p	mikroRNA-486-3p
MiR-500a-3p	mikroRNA-500a-3p
MiRISC	mikroRNA indukovaný umlčovací komplex (microRNA induces silencing complex)
MLH1	gen MLH1 (gene MHL1)
MYD88	adaptorový protein (adapter protein)
NcRNA	nekódující RNA (non-coding RNA)
NCT01990885	identifikátor klinické studie (identification of clinic study)
PRC2	polycomb represivní komplex 2 (polycomb repressive complex 2)
Pre-miRNA	prekurzorová messengerová ribonukleová kyselina (precursor messenger ribonucleic acid)
Pri-miRNA	primární messengerová ribonukleová kyselina (primary messenger ribonucleic acid)
RNA	ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
RRBS	bisulfitové sekvenování (reduced representation bisulfite sequencing)
SAM	S-adenosylmethionin
SH2B3/ATXN2	genová oblast SH2B3/ATXN2 (SH2B3/ATXN2 locus)
SIRT6	sirtuin-6
SNP	jednonukleotidový polymorfismus (single nucleotid polymorphism)
SWI/SNF	komplex SWI/SNF (complex SWI/SNF)
TEDDY	kohortová studie (cohort study)
TET	enzymy Ten-Eleven translokace (ten-eleven translocation enzymes)
TG2	transglutamináza 2 (transglutaminase 2)
TGF- $\beta$	transformační růstový faktor beta (transforming growth factor beta)
TLR7/TLR8	genová oblast TLR7/TLR8 (genomic locus TLR7/TLR8)
TRAF2	faktor asociovaný s receptorem pro nádorový nekrotizující faktor (tumor necrosis receptor-associated factor)
STAT1	transkripční faktor (signal transducer and activator of transcription)
WGBS	bisulfitové sekvenování celého genomu (whole genome bisulfite sequencing)

## ÚVOD

Celiakie je chronické autoimunitní onemocnění vyvolané konzumací lepku, který se nachází v pšenici, žitu a ječmeni. U geneticky predisponovaných jedinců způsobuje konzumace lepku patologickou imunitní odpověď vedoucí k zánětlivému poškození sliznice tenkého střeva. V důsledku toho dochází k malabsorpci živin, což může vést k široké škále klinických projevů – od gastrointestinálních obtíží až po neurologické a kožní symptomy.

Ačkoli genetická predispozice hraje klíčovou roli ve vývoji celiakie, samotná přítomnost rizikových alel HLA-DQ2 a HLA-DQ8 není dostačující k jejímu rozvoji. V posledních letech se proto dostává do popředí výzkumu epigenetika – věda zkoumající dědičně ovlivněné změny genové exprese, které nejsou spojeny se změnami v sekvenci DNA. Epigenetické mechanismy, jako je methylace DNA, modifikace histonů a působení nekódujících RNA, mohou hrát zásadní roli v regulaci imunitní odpovědi a ovlivňovat riziko vzniku celiakie.

Cílem této práce je shrnout současné poznatky o epigenetických mechanismech podílejících se na rozvoji celiakie, analyzovat jejich vliv na imunitní odpověď a posoudit možnosti epigenetických intervencí jako potenciálního terapeutického přístupu. Pochopení těchto mechanismů může přispět k hlubšímu porozumění patogeneze celiakie a otevřít nové cesty pro diagnostiku a léčbu tohoto onemocnění.

# 1. CELIAKIE

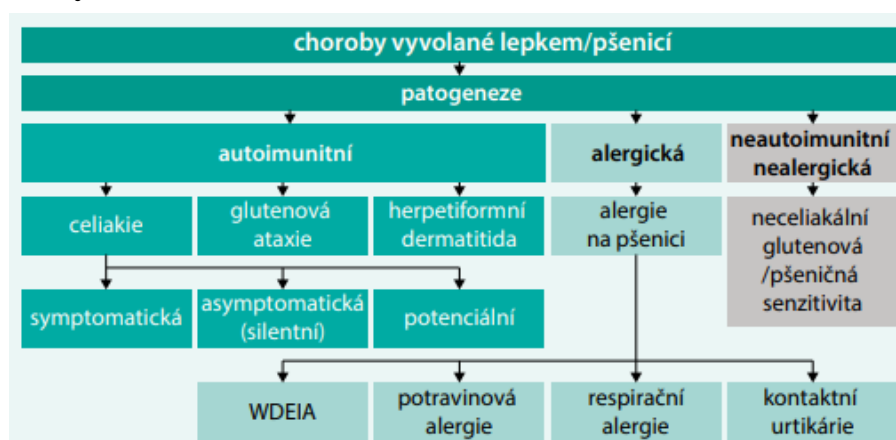
## 1.1 Charakteristika

Celiakie je autoimunitní onemocnění, které je na celém světě velmi rozšířené. Po požití lepku vyvolává u jedinců autoimunitní reakci, kdy dochází k poškození tenkého střeva. Jedná se o celoživotní onemocnění, které doprovází řada symptomů jako jsou bolest břicha, nadýmání, fyzická bolest nebo únava. Vyznačuje se přetrvávající nesnášenlivostí lepku, v němž problematickou složkou v pšenici je gliadin, a dalších proteinů podobných lepku, které se nacházejí v žitu (secalin), ječmeni (hordein) nebo ovsu (aveniny), a vyznačuje se systémovými a gastrointestinálními projevy. Pro potlačení symptomů jedinec dodržuje bezlepkovou dietu, která vynechává potraviny obsahující lepek a je tak účinnou léčbou proti poškození tenkého střeva. (Dochat et. al., 2024., Cazac, G.D. et. al., 2024, Catassi et. al., 2022)

## 1.2 Lepek

Lepek neboli gluten je skupina složitých glykoproteinů, jehož dvě hlavní proteinové složky jsou prolaminy a gluteniny. U pšenice je hlavním prolamínovým proteinem je gliadin, který je hlavním faktorem způsobující problémy u celiakie a je rozpustný v ethanolu. Na rozdíl od jednodušších, monomerních forem gliadinů jsou gluteniny tvořeny složitějšími strukturami, které jsou propojeny disulfidovými můstky. Lepek je pružný díky elastické síti gluteninu, kterou gliadin „změkčuje“ a umožňuje jí natahovat se a vracet zpět, což dává těstu jeho charakteristickou pružnost a soudržnost. (Min et al., 2019, Jorgensen et al., 2024)

## 1.3 Druhy celiakie



Obrázek 1: Schéma chorob vyvolaných lepkem (Hoffmanová et al., 2019).

Celiakie se rozděluje podle toho, zda se u jedince projevují značné příznaky anebo je bez příznaků. Více podrobností viz názorný obrázek výše (Obrázek 1) a následující odstavce.

### **1.3.1 Symptomatická celiakie**

Jedná se o celiakii, u které se příznaky projevují. Může se jednat o gastrointestinální symptomy jako bolest břicha, průjem či nadýmání a dochází k malabsorpci. U dospělých jsou však častější projevy, které nejsou přímo spojené s trávicím traktem, ale vyplývají z postižení různých orgánů. Mezi tyto příznaky patří například sideropenická anémie, osteoporóza, neplodnost, dermatitis herpetiformis, neuropsychiatrické problémy a různá autoimunitní onemocnění, jako je diabetes mellitus 1. typu, autoimunitní tyreoiditida, další autoimunitní endokrinopatie, autoimunitní hepatitida, primární biliární a sklerózující cholangitida, autoimunitní myokarditida, Sjögrenův syndrom, systémový lupus erythematodes, onemocnění pojivových tkání a IgA nefropatie. (Hoffmanová et. al., 2019)

### **1.3.2 Asymptomatická celiakie**

Celiakie se může vyskytovat i ve své asymptomatické formě, kdy pacient splňuje diagnostická kritéria, jako jsou přítomné autoprotilátky a pozitivní biopsie, ale neprojevují se u něj žádné klinické příznaky. K odhalení této formy obvykle dochází pouze prostřednictvím cíleného screeningu u blízkých příbuzných pacientů s celiakií nebo u osob trpících jinými autoimunitními onemocněními. (Hoffmanová et. al., 2019)

### **1.3.3 Potenciální celiakie**

Nejobtížnější situace při diagnostice nastává, když jsou výsledky sérologických testů a histologického vyšetření v rozporu. V takových případech se může jednat o potenciální celiakii. U potenciální celiakie je sliznice tenkého střeva histologicky normální, případně vykazuje pouze intraepiteliální lymfocytózu, přičemž celiakální autoprotilátky jsou pozitivní. Genetické testy potvrzují přítomnost HLA DQ2/8 genů. Přístup k těmto pacientům musí být individuální – pokud mají příznaky, doporučuje se bezlepková dieta, zatímco asymptomatictí jedinci by měli být pravidelně sledováni a testováni na autoprotilátky, protože se jejich stav může v čase změnit, buď rozvojem příznaků, nebo poklesem protilátek až k jejich normalizaci. Je také důležité zohlednit možnost falešně negativního histologického nálezu, pokud byla

provedena nedostatečná biopsie nebo odběr tkáně z místa bez typických změn. V takových případech je vhodné biopsii zopakovat nebo využít pokročilé endoskopické metody k přesnější identifikaci postižené sliznice. (Hoffmanová et. al., 2019)

## **1.4 Druhy celiakie podle fenotypických projevů**

Druhy celiakie se dají také rozdělit podle fenotypických projevů. Ty se nejčastěji objevují v gastrointestinálním traktu, který je zároveň hlavním místem, kde dochází k autoimunitní reakci spojené s tímto onemocněním. Nicméně, dnes je již prokázáno, že celiakie je systémové onemocnění, kdy se můžou projevovat i extraintestinální příznaky. Celiakie může být v době diagnózy klasifikována do tří forem na základě jejích fenotypických projevů: klasická, neklasická a subklinická. (Catassi et. al., 2022, Laurikka et.al., 2022)

### **1.4.1 Klasická celiakie**

Klasická forma celiakie, která se vyskytuje převážně u dětí mladších pěti let, se vyznačuje fenotypickými projevy, jako je chronický průjem, nechut' k jídlu, hubnutí, nafouklé břicho, svalová atrofie a změny nálady. V ojedinělých případech může opožděná diagnóza vést k závažné celiakální krizi, což je život ohrožující stav charakterizovaný vodnatým průjmem, výrazným nadmutím břicha, dehydratací, poruchou elektrolytové rovnováhy, nízkou hladinou albuminu v krvi, nízkým krevním tlakem a letargií. Mezi další možné komplikace patří akutní nebo opakující se střevní intususcepce. (Catassi et. al., 2022)

### **1.4.2 Neklasická celiakie**

Neklasická forma celiakie je nejčastější variantou tohoto onemocnění a projevuje se nespecifickými trávicími obtížemi, jako jsou opakující se bolesti břicha, nadýmání, průjem nebo naopak zácpa. Kromě toho mohou být přítomny extraintestinální příznaky, například chronický nedostatek železa nebo dlouhodobá únava. Onemocnění se může projevit i systémovými komplikacemi nebo dalšími přidruženými obtížemi, mezi něž patří nutriční deficity (nedostatek železa, vitamínu B1), bolesti kloubů (artralgie) nebo zánětlivé onemocnění kloubů (artritida). Dalšími možnými projevy jsou vypadávání vlasů (alopecie), opakující se záněty v ústech (stomatitida) a chronická kopřivka. (Catassi et. al., 2022)

### 1.4.3 Subklinická celiakie

Subklinická (neboli klinicky nemá) celiakie bývá odhalena prostřednictvím screeningových programů v běžné populaci nebo při cíleném vyhledávání v rizikových skupinách, například mezi příbuznými osob s diagnostikovanou celiakií. U dospělých se oproti dětským pacientům častěji vyskytují extraintestinální projevy a v době diagnózy bývá vyšší míra přidružených onemocnění. Zároveň existuje u dospělých vyšší riziko vzniku dlouhodobých komplikací. Spojitost celiakie s některými zhoubnými nádory byla zaznamenána téměř výhradně u dospělé populace. (Catassi et. al., 2022)

## 1.5 Patogeneze

Patogeneze je komplexní proces, který zahrnuje interakci mezi genetickými predispozicemi a environmentálními faktory. K rozvoji celiakie dochází u jedinců, kteří mají genetickou predispozici, nejčastěji ve formě přítomnosti HLA genotypů DQ2 nebo DQ8. Tyto genetické faktory však samy o sobě nestačí – většina nositelů těchto alel nikdy onemocnění nerozvine. Ke spuštění imunitní reakce proti lepku je zapotřebí také působení environmentálních faktorů. Mezi ně patří především samotná expozice lepku ve stravě, ale svou roli mohou hrát i různé infekce (například virové) nebo změny ve složení střevního mikrobiomu. Všechny faktory přispívající k této nemoci následně zmíním. (Tye-Din et al., 2018)

### 1.5.1 Úloha genetiky ve vývoji onemocnění

Celiakie se objevuje u jedinců s genetickou predispozicí, zejména u nositelů haplotypů HLA-DQ2 nebo HLA-DQ8. Tyto haplotypy se vyskytují přibližně u 30 - 40 % lidí trpících celiakií, což naznačuje, že ačkoli jsou nezbytné pro vznik onemocnění, samy o sobě nestačí k jeho rozvoji. Cílem výzkumníků tedy bylo identifikovat další geny, které by mohly predisponovat této nemoci. Identifikace dalších genů predisponujících k onemocnění byla dosažena pomocí studií asociace celého genomu (GWAS – Genome-Wide Association Studies) prováděných na různých geografických populacích. Tyto studie odhalily 39 genetických lokusů spojených s rozvojem celiakie a zároveň potvrdily význam oblasti lidského leukocytárního antigenu (HLA). Další analýzy ukázaly, že některé lokusy zahrnovaly více než jeden gen spojený s celiakií, což vedlo k nárůstu počtu zapojených jednonukleotidových polymorfismů (SNP-single nucleotide polymorphism) na 57. I když byly tyto studie poměrně rozsáhlé, identifikované lokusy nedokázaly plně objasnit genetickou predispozici k celiakii, protože

kombinace HLA a těchto dalších genů pokrývala přibližně 54 % dědičnosti. Mnoho z těchto SNP zahrnovalo geny spojené s imunitní funkcí buď ve střevě, nebo v brzlíku, což poskytuje další důkaz pro teorii, že změny v imunitní odpovědi hrají klíčovou roli v predispozici a patogenezi celiakie.

Různé kombinace těchto SNP mohou souviset s odlišnými projevy onemocnění. Například lokus TLR7/TLR8 byl spojen s nástupem celiakie před 7. rokem života, zatímco lokusy SH2B3/ATXN2, ITGA4/UBE2E3 a IL-2/IL-21 byly spojeny s pozdějším rozvojem nemoci a závažnějším poškozením sliznice tenkého střeva. Kromě toho byl lokus SH2B3/ATXN2 spojen s výskytem diabetu 1. typu. Některé z těchto identifikovaných SNP se zároveň jeví jako genetické predispozice i pro další autoimunitní onemocnění, například diabetes 1. typu a Crohnovu chorobu, což naznačuje možné společné genetické základy pro rozvoj autoimunitních chorob. (Gnodi et al., 2022)

### **1.5.1.1 Genetické vyšetření**

Pacienti s celiakií mají na povrchu imunokompetentních buněk převážně HLA molekuly typu DQ2 (přibližně 95 %) nebo DQ8 (asi 5 %). Kromě těchto HLA-DQ2/8 genů se na rozvoji onemocnění podílí i další geny nacházející se mimo HLA komplex. Přestože téměř všichni pacienti s celiakií nesou genotyp HLA-DQ2/8, jeho přítomnost sama o sobě znamená pouze zvýšené genetické riziko. Tento genotyp se totiž vyskytuje u 35-40 % zdravých jedinců, avšak pouze 2-3 % těchto jedinců skutečně onemocní celiakií. Některé studie naznačují, že také genotyp HLA-DQ9 by mohl představovat rizikový faktor. Naopak nepřítomnost HLA-DQ2/8 téměř s jistotou vylučuje celiakii, s negativní prediktivní hodnotou přesahující 99 %. Genetické testování proto není hlavním diagnostickým nástrojem, jelikož jeho pozitivní prediktivní hodnota je nízká. V praxi se využívá spíše k vyloučení celiakie nebo ve specifických případech. (Hoffmanová et al. 2019)

### **1.5.2 Environmentální faktory**

Celiakie je autoimunitní onemocnění, jehož vznik a průběh ovlivňuje nejen genetická predispozice, ale také různé environmentální faktory. Některé z nich jsou níže popsány. (Tye-Din et al., 2018)

### **1.5.2.1 Strava**

Konzumace většího množství lepku v raném dětství, zejména během prvních pěti let života, může u dětí s genetickou predispozicí zvyšovat riziko rozvoje celiakie i související autoimunitní reakce. Vyšší příjem této bílkoviny je spojován s větší pravděpodobností vzniku onemocnění a narušením funkce tenkého střeva v důsledku imunitní odpovědi organismu. (Andrén Aronsson C et al., 2019)

Dlouhodobý výzkumný projekt TEDDY se zabýval možnou souvislostí mezi hladinami vitamínu D v jídelníčku a rizikem vzniku celiakální autoimunity u dětí, které mají genetickou predispozici k celiakii. Bylo zjištěno, že jak příliš nízké, tak i příliš vysoké hladiny vitamínu D mohou být spojeny s vyšším rizikem rozvoje této autoimunitní nemoci.

(Stahl, M. et al. 2024)

### **1.5.2.2 Infekce**

Několik studií naznačuje, že děti, u nichž se později vyvine celiakie, jsou častěji vystaveny infekcím v raném věku. Jedním z omezení těchto studií je, že jsou založeny na dotaznících vyplněných rodiči, přičemž typ a místo infekce nejsou podrobně specifikovány. Existuje souvislost mezi sezónními faktory a rizikem vzniku celiakie, přičemž se předpokládá, že virové infekce v kritickém období vývoje imunitního systému mohou hrát roli. Tento vztah je podpořen zjištěními z longitudinálních studií, které ukazují na zvýšené riziko autoimunity celiakie po častých rotavirových infekcích. (Tye-Din et al., 2018)

### **1.5.2.3 Mikrobiom**

Mikrobiom také hraje klíčovou roli při vzniku celiakie. Byly zjištěny změny ve složení střevní mikroflóry u pacientů s celiakií – některé bakteriální druhy jsou u těchto jedinců častější, zatímco jiné se vyskytují méně. Tato nerovnováha může vést k narušení tolerance vůči lepku, což spouští autoimunitní reakce. Zdůrazňuje se tedy na složitost interakcí mezi mikrobiomem a imunitním systémem. (Tye-Din et al., 2018)

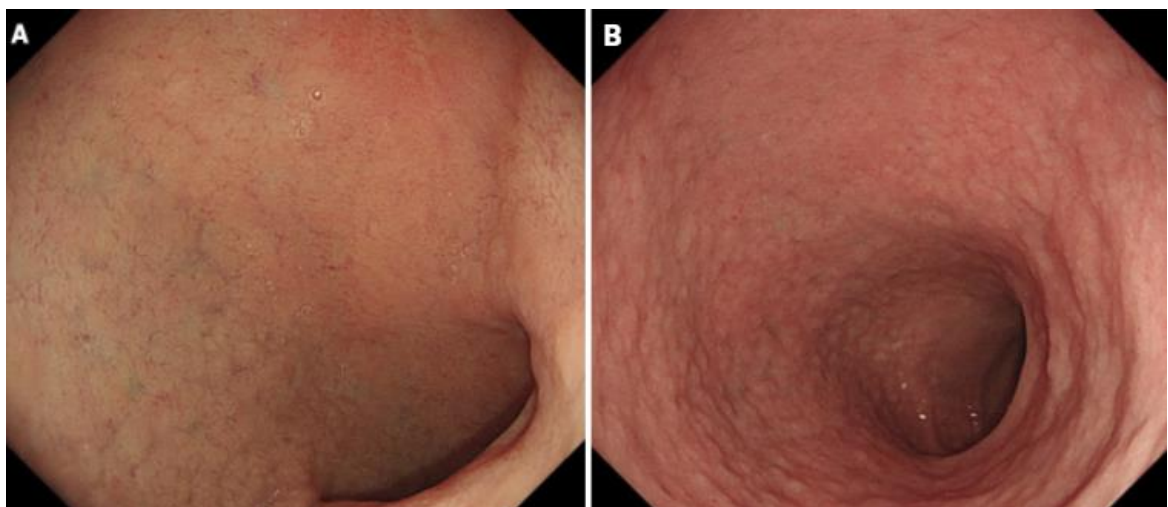
## **1.6 Diagnostika**

V současnosti je nejpřesnější metodou pro screening pacientů na celiakii stanovení specifických protilátek. Ostatní vyšetření, jako biochemické, hematologické či zobrazovací

metody, mohou sice odhalit patologické nálezy, ale jejich specifita je nízká, protože podobné výsledky se mohou objevit i u jiných malabsorpčních stavů. Pro správné sérologické vyšetření je nutné, aby pacient konzumoval dostatečné množství lepku (minimálně 15 gramů denně) a aby bylo provedeno stanovení hladin imunoglobulinů.

Diagnostika protilátek se provádí se séra pacienta a obvykle se zahajuje stanovením celkového IgA a protilátek proti humánní tkáňové transglutamináze typu 2 (anti-TG2) a proti endomyziu (EMA). Pozitivní nález těchto protilátek může předcházet vzniku histologických změn na sliznici tenkého střeva. Vyšetření se provádí ze sérové vzorku, protože v jiných biologických materiálech není metoda ověřena.

Během období před vyšetřením musí pacient setrvat na dostatečném příjmu lepku, protože jeho omezení by mohlo vést k falešně negativním výsledkům. Z tohoto důvodu je zahájení bezlepkové diety před stanovením definitivní diagnózy nevhodné. Při opakované pozitivitě protilátek anti-TG2 lze pomocí endoskopie a následné biopsie potvrdit celiakii, biopsii indikuje gastroenterolog. (Frühauf et al., 2016, Wang et al., 2024)



Obrázek 2: A-endoskopická fotografie dvanáctníku bez celiakie, nejsou viděny žádné vroubky na stěně střevní sliznice, B-endoskopická fotografie dvanáctníku pacienta s celiakií, hrubý vzhled střevní sliznice (Wang et al., 2024, upraveno).

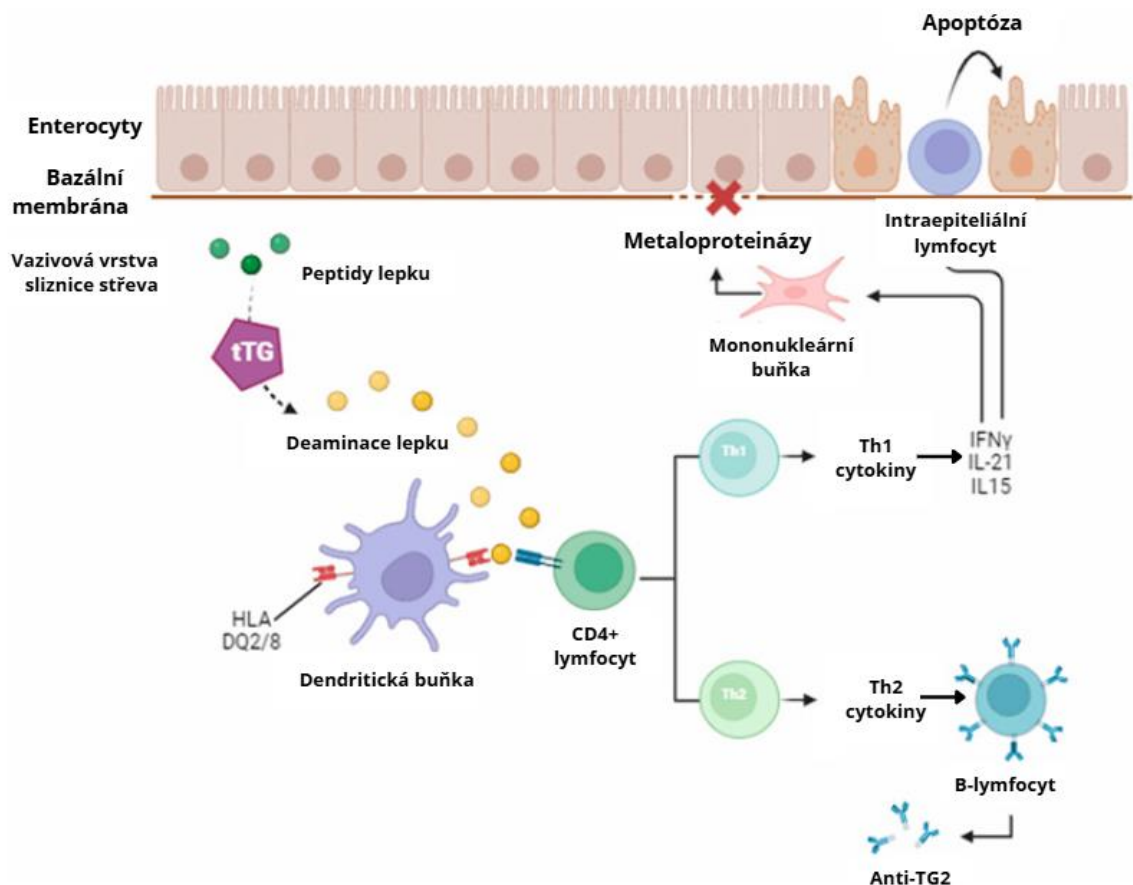
## 1.7 Imunitní mechanismus u celiakie

Jakmile peptidy lepku proniknou do lamina propria (vazivová vrstva sliznice střeva), dochází k jejich deaminaci pomocí tkáňové transglutaminázy (TG2). Deaminované glutenové peptidy obsahují vysoké množství negativně nabitých zbytků glutamátu, což zvyšuje jejich

afinitu k molekulám HLA-DQ2 nebo DQ8 a usnadňuje jejich prezentaci dendritickými buňkami CD4+ T lymfocytům. Dendritické buňky tak prezentují deaminované peptidy gliadinu CD4+ T buňkám.

Aktivované CD4+ T buňky reagující na lepek produkují vysoké množství prozánětlivých cytokinů, včetně interferonu  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukinu 21 (IL-21) a interleukinu 15 (IL-15), čímž dochází k aktivaci pomocných T-lymfocytů a jejich odpovědi. Tento proces podporuje zánětlivé děje – mimo jiné sekreci metaloproteináz mononukleárními buňkami v lamina propria, které rozkládají extracelulární matrix a bazální membránu, zvyšují cytotoxicitu CD8+ intraepiteliálních lymfocytů a podporují apoptózu enterocytů ve sliznici střeva.

Kromě toho aktivované CD4+ T buňky prostřednictvím Th2 cytokinů stimulují aktivaci a klonální expanzi B-lymfocytů, což vede k produkci protilátek proti tkáňové transglutamináze (anti-TG2 protilátky).



Obrázek 3: Schematické znázornění transportu peptidů lepku skrz střevní epitel u pacientů s celiakií. (Rigo et al., 2024, upraveno).

## 2. EPIGENETIKA

Epigenetika je vědní obor, který studuje změny v expresi genů, které nejsou způsobeny změnami v sekvenci DNA, ale chemickými modifikacemi DNA a jejich asociovaných proteinů. Epigenetické mechanismy mohou výrazně ovlivnit expresi genů, diferenciaci buněk, vývoj tkání a náchylnost k nemocem. Pochopení epigenetických změn je zásadní pro objasnění mechanismů, které leží za stále více uznávanou rolí environmentálních a životních faktorů ve zdraví a nemoci a mezi generačním přenosem fenotypů. Nedávné studie naznačují, že epigenetika může být klíčová u různých nemocí. Epigenetické modifikace jsou potenciálně reverzibilní a mohly by poskytovat nové terapeutické možnosti pro léčbu těchto onemocnění pomocí epigenetických modulátorů. Navíc epigenetika poskytuje vhled do patogeneze nemocí a biomarkerů pro diagnostiku nemocí a stratifikaci rizika. Epigenetické intervence však mají potenciál nechtěných důsledků a mohou potenciálně vést ke zvýšenému riziku nečekaných výsledků, jako jsou nežádoucí účinky léků, vývojové abnormality a rakovina. Proto jsou nezbytné důkladné studie, které minimalizují rizika spojená s epigenetickými terapiemi a vyvinou bezpečné a efektivní intervence pro zlepšení lidského zdraví. (Farsetti Antonella et al., 2023)

### 2.1 Historie epigenetiky

Prvotní definicí epigenetiky byl pojem „epigeneze“, který pochází ze starořeckého jazyka. Tento termín poprvé zavedl britský biolog Conrad H. Waddington v roce 1942. Později byl přeměněn na epigenetiku – disciplínu, která revolučně mění naše chápání regulace genů, dědičnosti a moderní biologie i medicíny. (Farsetti Antonella et al., 2023)

Waddington definoval epigenetiku jako studium mechanismů, které propojují genotyp s fenotypem, a snažil se porozumět tomu, jak se oplodněné vajíčko dokáže vyvinout v plně dospělý organismus prostřednictvím buněčné diferenciace. Představil koncept epigenetické krajiny, která znázorňuje složitou síť interakcí mezi geny, molekulárními procesy, buňkami a prostředím, jež společně formují fenotyp organismu. (Meza-Menchaca et al., 2024)

Rozvoj epigenetiky byl podmíněn zásadními objevy v oblasti struktury a funkce genomu, které se odehrály v průběhu několika desetiletí. Jeden z nejvýznamnějších přelomů přinesli James Watson a Francis Crick, když v roce 1953 popsali dvoušroubovicovou strukturu DNA za což v roce 1962 získali Nobelovu cenu, odhalili princip dědičnosti na molekulární úrovni a položili základy moderní genetiky. Dvoušroubovice DNA se skládá ze dvou vzájemně

komplementárních vláken nukleotidů, spojených vodíkovými vazbami mezi bázemi – adenin se váže s thyminem a guanin s cytosinem. Tento objev zásadně změnil biologické vědy a přispěl k hlubšímu pochopení genetických mechanismů.

Ve stejné době přispěla k rozšíření znalostí o genomu americká genetička Barbara McClintock. Při studiu barevných vzorů na zrnech kukuřice objevila transpozony, tedy „skákající geny“, které se mohou přesouvat v rámci genomu a tím ovlivňovat genovou expresi. Tento objev přinesl první důkaz o plasticitě genomu a naznačil existenci složitých regulačních mechanismů, které přesahují tehdejší představy o přímé cestě genetické informace (DNA → RNA → proteiny). Za svůj přínos v oblasti genetiky získala McClintock v roce 1983 Nobelovu cenu, a její práce se stala klíčovým podkladem pro pochopení role transpozonů v epigenetické regulaci.

Dalším důležitým krokem k rozvoji epigenetiky bylo odhalení chemických modifikací DNA. Již v roce 1948 americký biochemik Rollin Hotchkiss objevil, že DNA může obsahovat 5-methylcytosin (5mC). Tento objev ukázal, že DNA není statická molekula, ale může podléhat chemickým změnám, které ovlivňují její funkci, aniž by se změnila její sekvence. Hotchkissovy poznatky podnítily další výzkum sekundárních modifikací DNA a jejich významu pro regulaci genové exprese, což bylo v souladu s hypotézami Conrada Waddingtona. (Farsetti Antonella et al., 2023)

Moderní epigenetika se zaměřuje na dědičné změny genové exprese, které neovlivňují sekvenci DNA, ale jsou výsledkem komplexní interakce genetiky a prostředí. Tento přístup otevírá nové možnosti pro pochopení dědičnosti získaných vlastností, což narušuje klasické představy založené na Mendelových zákonech dědičnosti. (Meza-Menchaca et al., 2024)

## 2.2 Epigenetické modifikace

Mezi epigenetické modifikace patří zmíněná methylace DNA, modifikace histonů, interferenční mechanismy zprostředkované nekódujícími RNA a role mirkoRNA. Jednotlivé epigenetické modifikace podrobně popíšu v následujících odstavcích. (Meza-Menchaca et al., 2024)

## 2.3 Methylace DNA

Methylace představuje zásadní epigenetickou úpravu, která hraje klíčovou roli v regulaci genové aktivity a proteinových funkcí, aniž by docházelo ke změnám v samotné sekvenci DNA, přispívá k různým biologickým procesům, včetně genové transkripce, embryonálního vývoje a buněčných funkcí. Methylace DNA může způsobit to, že se daný gen nepřepíše do RNA a následně nevznikne odpovídající protein. Methylace totiž ovlivňuje přístupnost DNA pro transkripční faktory a enzymy, a pokud dojde například k hypermethylaci promotorové oblasti genu, tento gen zůstane umlčený, ačkoliv je jeho sekvence geneticky správná. Tímto mechanismem může být narušena regulace buněčného dělení a dojít ke vzniku onemocnění. Chybná methylace může být důsledkem působení vnějších faktorů jako jsou stres, stárnutí nebo poruchy enzymů odpovědných za methylaci.

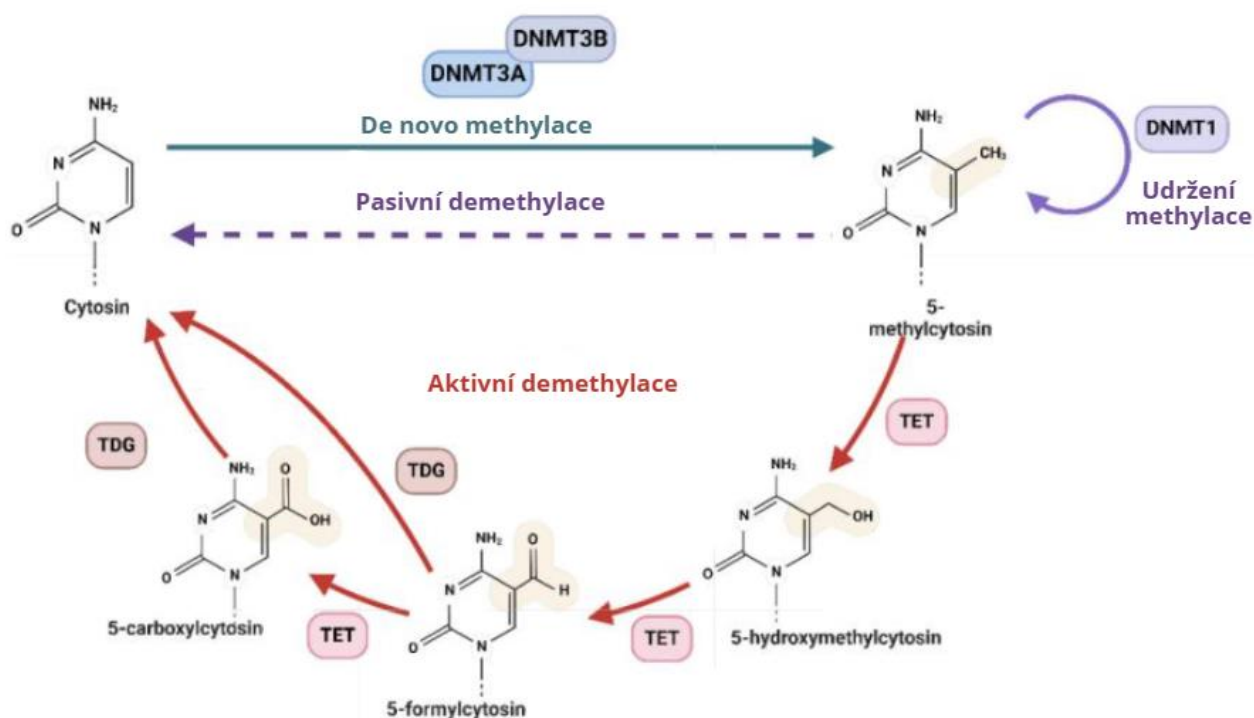
(Li et al., 2024, Joseph et al., 2018)

Pro analýzu DNA methylace existuje několik metod, které se liší rozlišením, přesností i náročností. Mezi nejpřesnější metody patří technika založená na bisulfitovém sekvenování, jejíž princip spočívá v chemickém ošetření DNA bisulfitem sodným, který přeměňuje nemethylované cytosiny na uracil, zatímco methylované cytosiny zůstávají nezměněné. Po následné PCR amplifikaci se uracily mění na thyminy, což umožňuje porovnat sekvenci s referenční DNA a určit, které cytosiny byly methylované. Dvě hlavní metody, které bisulfitové sekvenování využívají je WGBS (Whole Genome Bisulfite Sequencing), kde se sekvenuje celý genom, avšak tato metoda kvůli velkému množství dat je finančně i technicky náročná. Alternativou je RRBS (Reduced Representation Bisulfite Sequencing), která cíleně analyzuje CpG dinukleotidy a umožňuje detailní profilování methylace s nižšími náklady. (Singer, 2019, Liu et al., 2023)

Proces methylace DNA probíhá za účasti enzymů zvaných DNA methyltransferázy (DNMT), které zajišťují přenos methylové skupiny na cytosinový základ, a to jak v CpG dinukleotidech, tak i v místech mimo CpG sekvence.

(Li et al., 2024)

### 2.3.1 Proces methylace DNA



Obrázek 4: Mechanismus methylace DNA způsoben pomocí enzymů methyltransferáz (DNMT) a demethylace DNA způsobena pomocí enzymů demethyláz (TET) a thymin-DNA glykosylázou (TDG) (Li et al., 2024, upraveno).

Methylová skupina (-CH<sub>3</sub>) je na pátou pozici cytosinu přenášena z molekuly S-adenosin-L-methioninu (SAM) pomocí enzymů zvaných methyltransferázy, zejména DNMT3a a DNMT3b. Výsledkem tohoto procesu je vznik 5-methylcytosinu (5mC). Methylace hraje důležitou roli v regulaci genové exprese tím, že může měnit způsob, jakým jsou geny aktivovány nebo umlčovány. Opačný proces, tedy odstranění methylové skupiny z DNA, se nazývá demethylace a může probíhat dvěma základními mechanismy – aktivním a pasivním.

Aktivní demethylace je zprostředkována enzymy z rodiny TET (ten-eleven translocation). Tyto enzymy dokážou methylovou skupinu na cytosinu postupně oxidovat – nejprve se 5-methylcytosin (5mC) změní na 5-hydroxymethylcytosin (5hmC), poté na 5-formylcytosin (5fC) a nakonec na 5-karboxylcytosin (5caC). V tomto procesu enzymy jako thymin-DNA glykosyláza (TDG) rozpoznají a vyjmou 5caC, čímž vznikne volné místo, které je následně doplněno běžným cytosinem.

Pasivní demethylace pak probíhá prostřednictvím enzymů DNA demethyláz, které dokážou specificky rozpoznat metylované cytosiny a enzymaticky odstranit jejich methylové skupiny v několika krocích. (Li et al., 2024)

### **2.3.2 CpG dinukleotidy**

V 80. letech minulého století objevil britský molekulární biolog Adrian Bird specifické oblasti v genomu bohaté na dinukleotidy cytosin-fosfát-guanin, známé jako CpG ostrůvky. Tyto úseky se obvykle nacházejí v místech, kde začíná přepis genů, tedy v promotorových oblastech a mají zásadní význam pro regulaci genové aktivity. Adrian Bird prokázal, že pokud dojde k methylaci těchto CpG ostrůvků, může to vést k potlačení genové exprese, což hraje klíčovou roli při vývoji organismu i při specializaci buněk.

Tento přelomový poznatek zásadně prohloubil porozumění toho, jak methylace DNA ovlivňuje řízení genů. Vědci následně identifikovali celou řadu biologických procesů, v nichž methylace sehrává podstatnou roli. Jedním z hlavních mechanismů je umlčení genů – při methylaci CpG oblastí v promotorech se zabrání vazbě transkripčních faktorů a enzymu RNA polymerázy, což vede k zablokování přepisu příslušného genu. (Farsetti Antonella et al., 2023)

### **2.3.3 Non-CpG dinukleotidy**

Non-CpG dinukleotidy zahrnují všechny dvojice nukleotidů, kde se po cytosinu nevyskytuje guanin. Zatímco CpG methylace je dobře známá a detailně prozkoumaná, výzkumy ukazují, že methylace se může objevovat i na jiných místech, zejména na CpH dinukleotidech (kde H značí adenin, thymin nebo cytosin), a to v určitých typech buněk nebo v konkrétních vývojových fázích. Tato forma methylace se ve větší míře vyskytuje například u pluripotentních kmenových buněk, neuronů a některých nádorových buněk, což poukazuje na její možnou roli při určování buněčné identity a v patogenezi nemocí. (Li et al., 2024)

### **2.3.4 Vliv methylace DNA na celiakii**

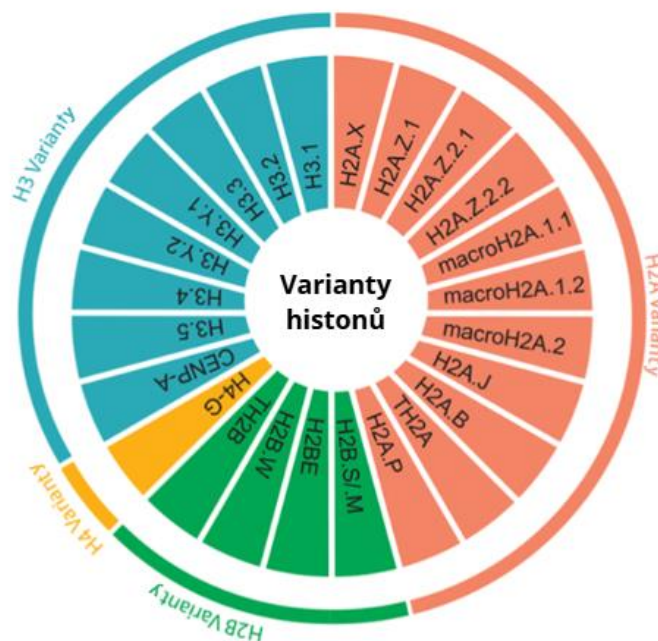
Většina promotorových oblastí genů je za normálních podmínek metylována, což umožňuje přesnou kontrolu transkripce v různých typech buněk a tkání. Podobně jako jiné epigenetické úpravy nemění methylace přímo samotnou sekvenci DNA, ale typický methylační profil lze obvykle zdědit. (Gnodi et al., 2022)

Hypomethylace nebo hypermethylace specifických oblastí genomu byla spojena s predispozicí k onemocněním a rakovině. Z tohoto důvodu se první studie methylace DNA u celiakie zaměřily na predispozici k rozvoji adenokarcinomů tenkého střeva. Konkrétně bylo zjištěno, že vysoká úroveň methylace CpG míst a nestabilita mikrosatelitů koreluje se ztrátou exprese MLH1 u tří různých karcinomů tenkého střeva u pacientů s celiakií, zatímco tento rys nebyl přítomen u pacientů bez celiakie. (Gnodi et al., 2022)

## 2.4 Histonové modifikace

Dalším způsobem, jak je v jádře regulována genová exprese, jsou histonové modifikace. Tyto proteiny tvoří základní součást chromatinu a dokážou ovlivnit jeho prostorové uspořádání, čímž se mění dostupnost DNA pro transkripční procesy. K nejčastějším typům těchto chemických modifikací patří acetylace, fosforylace, ubikvitinace a methylace. (Gnodi et al., 2022)

### 2.4.1 Přehled histonů

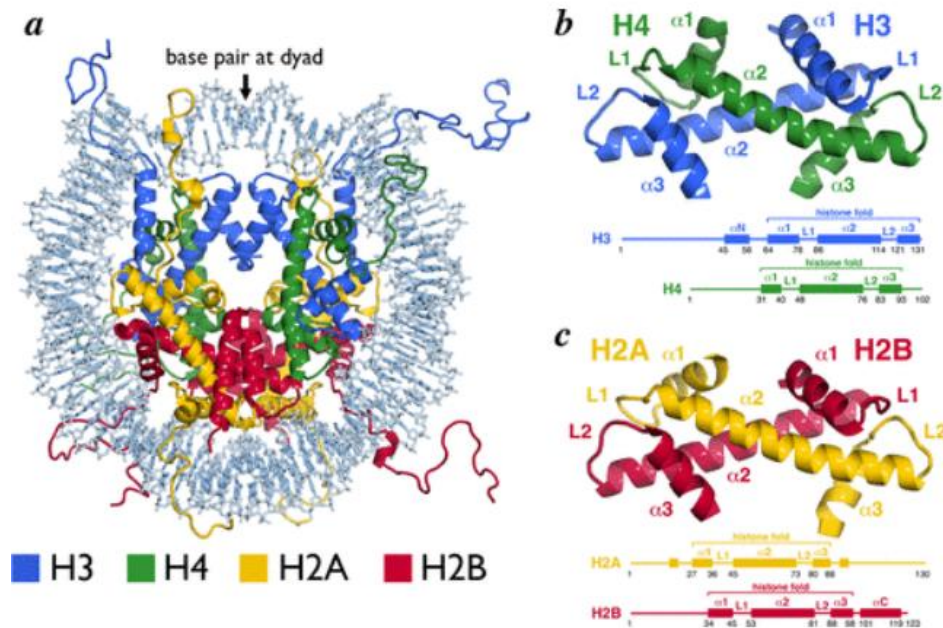


Obrázek 5: Varianty lidských histonů (Oberdoerffer et al., 2023, upraveno).

Genetická informace uložená v jaderné DNA eukaryot musí být zhuštěna, aby se vešla do objemu jádra a zároveň byla přístupná procesům podle šablony DNA včetně transkripce,

replikace a opravy DNA. Toho je dosaženo zabalením a uspořádáním DNA do chromatinu, jehož základní jednotkou je nukleozom. (Oberdoerffer et al., 2023)

Každý nukleozom se skládá z oktameru, tedy komplexu dvou kopií histonů H2A, H2B, H3 a H4, kolem kterého je ovinuto přibližně 147 párů bází DNA. (Talbert PB, Henikoff S., 2021)



Obrázek 6: (a) Struktura částic jádra nukleozomu, (b) H3/H4 histon-násobný heterodimer, (c) H2A/H2B histon-násobný heterodimer, (McGinty et al., 2015).

## H1 histony

H1 histon dynamicky reguluje zahuštění chromatinového vlákna, aby ovlivňoval přístupnost genomu pro transkripční a opravné mechanismy DNA. Je to častý protein, který se vyskytuje zhruba jeden na každý nukleozom v buňkách mnohobuněčných organismů, a jeho množství je důležité pro přežití buňky. Tento histon se váže do středu nukleozomu, kde pomáhá udržet DNA pevně obtočenou a udržuje chromatin ve zhuštěném stavu. Zajímavé je, že se může mezi jednotlivými vlákny chromatinu pohybovat a spolupracuje s dalšími proteiny, které ovlivňují, jestli bude DNA „aktivní“ (euchromatin) nebo „vypnutá“ (heterochromatin). Přesný způsob, jak histon tuto regulaci provádí, zatím vědci úplně neznají. (Akbari et al., 2025)

## **H2A histony**

U lidí byly identifikovány varianty všech jádrových histonů, přičemž varianty H2A jsou nejrozmanitější a nejpočetnější. Varianty histonu H2A – zejména H2A.X, H2A.Z a macroH2A hrají důležitou roli v mechanismu buněčné odpovědi na poškození DNA, který pomáhá chránit stabilitu genomu. Prostřednictvím svého začlenění do chromatinu, posttranslačních modifikací a jedinečných sítí interakcí s jinými proteiny chrání tyto histonové varianty DNA před vnitřními hrozbami, jako je stres při replikaci, a zároveň i před poškozením DNA způsobeným vnějšími faktory. (Oberdoerffer et al., 2023)

## **H2B histony**

H2B varianty jsou méně prozkoumány a rozděleny do dvou tříd. Sekvence H2B jsou nejčastěji uváděny jako závislé na S-fázi, přesto byla popsána také polyadenylace. Bylo zdokumentováno, že varianty H2B hrají roli při zhutňování chromatinu během gametogeneze; mechanická role H2B však zůstává nejasná. (Joseph a Young, 2023)

## **H3 histony**

Varianty H3.1 a H3.2 jsou replikačně závislé formy kanonického histonu H3, které se vyskytují pouze u savců. Odlišují se mezi sebou pouze jedinou aminokyselinou a byly poprvé popsány v roce 1977. Pozdější výzkumy ukázaly, že jejich vkládání do chromatinu úzce souvisí s DNA replikací, a proto se označují jako kanonické varianty. Bylo zjištěno, že H3.1 a H3.2 jsou zvláště obohaceny a označují neaktivní a pozdě se replikující oblasti v savčích buňkách. (Lai et al., 2024)

## **H4 histony**

Existuje několik histonových variant pro H2A, H2B a H3, ale pouze jedna varianta byla popsána pro H4. Histon H4 hraje roli při aktivaci neutrofilů – stimuluje tvorbu peroxidu vodíku, uvolňování zánětlivých látek, přilnavost buněk a produkci IL-8. Způsobuje také zvýšenou propustnost buněčné membrány neutrofilů, což vede k jejich rychlé smrti. Navíc zvyšuje hladinu vápníku uvnitř buněk, což je klíčové pro spuštění zánětlivých reakcí. Tyto účinky naznačují, že histon H4 může v místech zánětu významně přispívat k zesílení imunitní odpovědi. (Hsieh et al., 2021, Kurumizaka et al., 2021).

## 2.4.2 Přehled histonových modifikací

### Acetylace

Analýzy napříč celým proteomem ukazují, že acetylace je častou posttranslační modifikací, která se v buňkách vyskytuje na tisících místech. Acetylace proteinů se podílí na regulaci různých buněčných procesů, přičemž její funkce je nejpodrobněji studována v souvislosti s histony a regulací genové exprese. (Liebner et al., 2024)

Histonové acetyltransferázy (HAT) katalyzují přenos acetylové skupiny z acetylkoenzymu A na  $\epsilon$ -aminoskupinu postranních řetězců lysinu, čímž dochází k neutralizaci jejich kladného náboje. Jelikož koncové části histonů obsahují velké množství lysinu a vykazují kladný náboj, umožňují silné elektrostatické interakce s negativně nabitou DNA v nukleozomu. Acetylace těchto konců však tyto interakce oslabuje. Z hlediska buněčných procesů je histonová acetylace úzce spjata s regulací genové exprese, protože podporuje přeměnu chromatinu z kondenzovaného heterochromatinu na otevřenější euchromatin. Tento strukturální přechod činí DNA snadněji přístupnou pro RNA polymerázu II, transkripční faktory a další proteiny zajišťující iniciaci a elongaci transkripce. (Kim et al., 2023)

### Fosforylace

Histonová fosforylace, poprvé objevená před více než padesáti lety, patří i nadále mezi nejvíce studované posttranslační modifikace histonů. Míra fosforylace v rámci chromatinu je výsledkem vzájemného působení celé řady enzymů – kináz, které fosfátové skupiny přidávají, a fosfatáz, které je naopak odstraňují. (Cavalieri, 2021)

Fosforylace histonů představuje zásadní mechanismus epigenetické regulace, který prostřednictvím připojení fosfátových skupin ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) k vybraným aminokyselinám – zejména serinu, threoninu a tyrosinu – na N-koncích histonových proteinů, flexibilně ovlivňuje strukturu chromatinu a expresi genů. Tato modifikace tak ovlivňuje konformaci chromatinu a je známá svou úlohou u přenosu signálů o poškození DNA, regulaci otevřenosti a uzavřenosti chromatinu, transkripci, řízení průběhu buněčného cyklu a apoptóze. Výsledkem je účinná oprava poškozené DNA a udržení genomové stability. (Gong et al., 2025)

### Methylace

Methylace histonů představuje klíčový mechanismus regulace genové exprese prostřednictvím změn v organizaci chromatinu a je úzce propojena s procesem methylace DNA.

Tato modifikace probíhá převážně na lysinových a argininových zbytcích histonů H3 a H4. Rovnováha methylace histonů je řízena činností methyltransferáz, které přidávají methylové skupiny, a demethyláz, jež je naopak odstraňují. Výsledkem těchto enzymatických aktivit je formování různých chromatinových stavů, například transkripčně aktivního euchromatinu, transkripčně neaktivního heterochromatinu a bivalentních domén. Tyto struktury slouží jako epigenetické značky, které určují, zda bude genová transkripce aktivována, potlačena nebo udržována v připraveném stavu. (Wu et al., 2025)

### **Další histonové modifikace**

Existuje celá řada histonových modifikací, které se v posledních letech intenzivně zkoumají. Mezi tyto další modifikace patří například glykace, lipidace, glykosylace, formylace a další. (Cavalieri, 2021)

### **2.4.3 Histonové modifikace spojené s celiakií**

Pro analýzu histonové modifikace H3K27ac byla použita metoda ChIP-seq (chromatinová imunoprecipitace spojená se sekvenací). Nejprve byly buňky od pacientů s celiakií a zdravých kontrol stimulovány cytokiny (IL-15, IL-21, IFN $\beta$ ), zafixovány formaldehydem a chromatin byl fragmentován sonikací. Následně byla provedena imunoprecipitace pomocí specifické protilátky proti acetylaci H3K27ac, čímž byly izolovány úseky DNA spojené s touto modifikací. Po purifikaci DNA byla připravena sekvenační knihovna a vzorky byly analyzovány pomocí sekvenace nové generace. (Zorro et al., 2020)

Výsledky ukázaly specifické transkripční vzorce v závislosti na typu cytokinu a rozdílné hladiny acetylace histonu H3 na lysinu 27 (H3K27ac). Zajímavým zjištěním bylo, že po stimulaci IFN $\beta$  docházelo přibližně v 60 % případů ke zvýšení transkripce současně se zvýšenou acetylací H3K27ac v promotorových a enhancerových oblastech. Naproti tomu u IL-15 taková souvislost pozorována nebyla, což naznačuje odlišný mechanismus genové regulace. V případě IL-15 se navíc výrazně měnila exprese genů kódujících nekódující RNA, což poukazuje na jejich možnou regulační úlohu nezávislou na H3K27ac. (Gnodi et al., 2022)

## 2.5 Nekódující RNA

Lidská onemocnění představují závažnou hrozbu už od počátku civilizace a porozumění jejich příčinám, vývoji a možnostem léčby je klíčové. Díky technologickému pokroku umožňuje molekulární přístup přesnější a hlubší zkoumání mechanismů nemocí než tradiční makroskopické metody. V tomto směru sehrávají stále větší roli nekódující RNA (ncRNA), které se ukazují jako významní regulátoři různých biologických procesů a mají zásadní vliv na detekci, rozvoj i léčbu nemocí spojených s fyziologií, genetikou, epigenetikou i patologickými stavy včetně rakoviny a vývojových poruch. (Loganathan et al., 2023)

Mezi lineárními ncRNA najdeme různé typy, a mezi hlavní RNA, které regulují genovou expresi patří hlavně kruhová RNA (circRNA), dlouhá nekódující RNA (lncRNA) a mikroRNA (miRNA), z nichž každý typ má specifické vlastnosti z hlediska vzniku, mechanismu účinku, biologické role a relevance pro choroby jako jsou nádory nebo kardiovaskulární poruchy. (Loganathan et al., 2023)

### 2.5.1 Dlouhé nekódující RNA (lncRNA)

Dlouhé nekódující RNA (lncRNA) představují rozsáhlou a různorodou skupinu RNA molekul, které jsou obecně definovány jako transkripty delší než 200 nukleotidů. Většina z nich nevykazuje vysokou míru sekvenční konzervace, i když některé lncRNA jsou evolučně zachované a plní specifické biologické funkce. To, že promotory těchto transkriptů podléhají negativní selekci, naznačuje, že jejich exprese je přísně kontrolovaná a že hrají důležitou funkční roli v buňce. (Dahl et al., 2018)

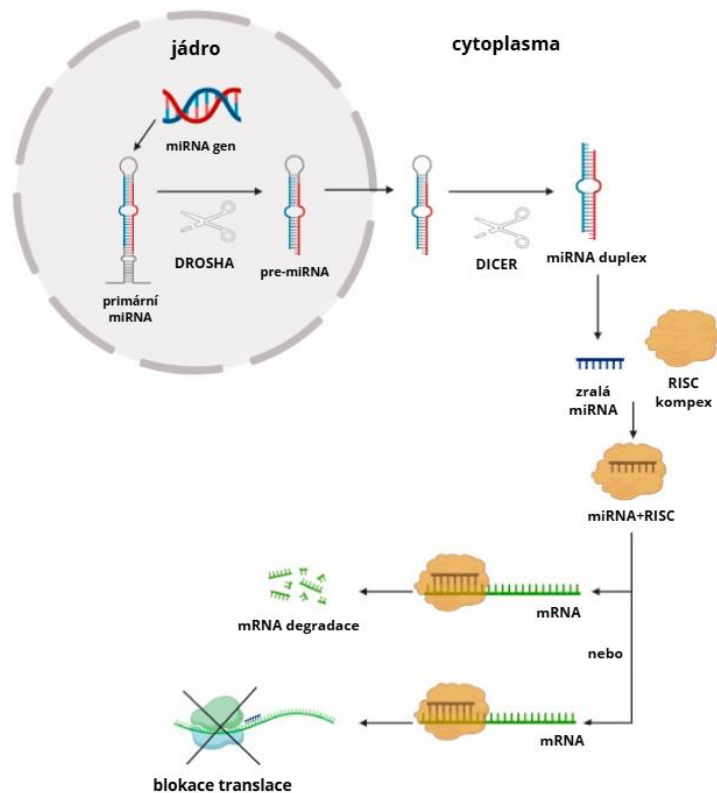
lncRNA sehrávají zásadní úlohu v regulaci genové exprese tím, že ovlivňují strukturu chromatinu prostřednictvím jeho remodelace, úprav histonů a změn v uspořádání nukleozomů. Jedním z klíčových mechanismů této remodelace je komplex SWI/SNF, který se skládá z několika podjednotek a je zodpovědný za přemístění nukleozomů na DNA. lncRNA mohou s tímto komplexem interagovat a tím ovlivňovat uspořádání chromatinu i genovou aktivitu. Kromě toho lncRNA působí také na epigenetické úrovni – například regulují metylaci DNA prostřednictvím enzymu S-adenosylhomocystein hydrolázy, podílí se na demethylaci DNA za účasti proteinu GADD45A a ovlivňují acetylaci histonů prostřednictvím sirtuinu 6 (SIRT6). lncRNA ovlivňuje metylaci histonů tím, že se váže na represivní komplex Polycomb 2 (PRC2), čímž upravuje strukturu a aktivitu chromozomů. Komplex Polycomb je skupina

proteinů, které se podílejí na epigenetické regulaci genové exprese, zejména na umlčení určitých genů tím, že zhutňují chromatin. (Chi et al., 2019)

Studie publikovaná v roce 2016 v časopise *Science* odhalila důležitou roli dlouhé nekódující RNA nazvané lnc13 v regulaci zánětlivých procesů spojených s celiakií. lnc13 potlačuje expresi zánětlivých genů, jako jsou STAT1, MYD88, TRAF2 a IL1RA, za homeostatických podmínek. Analýzy biopsií tenkého střeva ukázaly výrazně nižší hladiny lnc13 u pacientů s celiakií ve srovnání se zdravými jedinci, což naznačuje její roli v patogenezi onemocnění. (Castellanos-Rubio et al., 2016)

## 2.5.2 MikroRNA (miRNA)

MikroRNA jsou krátké RNA molekuly o délce 20 až 22 bází, které hrají významnou roli v regulaci genové exprese – odhaduje se, že ovlivňují 30 až 60 % lidských genů. V lidském genomu bylo dosud popsáno přibližně 2654 zralých miRNA sekvencí. Vědecký výzkum se v současnosti intenzivně zaměřuje na jejich úlohu při vzniku různých onemocnění, stejně jako na jejich potenciál při podpoře regenerace, a rozvíjejí se terapeutické přístupy využívající miRNA k léčbě nemocí. (Kozlov et al., 2023)



Obrázek 7: Biogeneze a funkce mikroRNA (Rigo et al., 2024, upraveno)

Biogeneze miRNA je proces, při kterém vznikají krátké RNA molekuly. Biogeneze začíná v jádře, kde se geny pro miRNA přepisují RNA polymerázou II do dlouhých primárních transkriptů (pri-miRNA). Tyto vlásenkovité struktury jsou následně zpracovány enzymem Drosha a proteinem DGCR8 na kratší pre-miRNA. Ty se přesunou z jádra do cytoplazmy pomocí proteinu exportin-5. V cytoplazmě enzym Dicer rozštěpí pre-miRNA na krátký dvouřetězcový fragment, kdy jeden z těchto řetězců, tzv. zralá mikroRNA, se naváže na protein Argonaute, čímž vzniká komplex zvaný miRISC. Ten pak vyhledává cílové mRNA, s nimiž je mikroRNA částečně komplementární, a následně buď dochází k degradaci mRNA nebo se blokuje translace. Hlavní funkcí miRNA je to, že regulují, které geny projdou translací a kdy následně vznikne protein. Celý proces je složitě řízen a hraje klíčovou roli v buněčném vývoji. (Galagali, Kim, 2020)

Izolace miRNA se často provádí ze séra anebo ze vzorků tkáně podle pokynů výrobce za použití souprav. Analýza genové exprese miRNA se stanovuje pomocí kvantitativní real-time PCR. (Baran et al., 2024)

### 2.5.2.1 MikroRNA v diagnostice celiakie

Studie s názvem „*Circulating miRNAs as Potential Biomarkers for Celiac Disease Development*“, publikovaná v časopise *Frontiers in Immunology*, se zaměřila na výzkum cirkulujících mikroRNA (miRNA) jako možných časných biomarkerů pro rozvoj celiakie. (Tan et al., 2021)

Výzkum identifikoval celkem 53 miRNA, jejichž exprese byla významně odlišná u jedinců, kteří později onemocněli celiakií – 27 z nich mělo zvýšenou a 26 sníženou hladinu miRNA v séru.

Osm z těchto 53 miRNA spojených s celiakií: miR-21-3p, miR-374a-5p, miR-144-3p, miR-500a-3p, miR-486-3p let-7d-3p, let-7e-5p a miR-3605-3p bylo možné v krevním oběhu zachytit již v počátečních fázích onemocnění – v některých případech dokonce více než dva roky předtím, než došlo ke zvýšení hladin protilátek proti transglutamináze nad normální hodnoty.

Dále bylo zjištěno, že u šesti sníženě exprimovaných miRNA: miR-150-5p, miR-150-3p, miR-1246, miR-342-3p, miR-375-3p a let-7a-5p došlo po zahájení bezlepkové diety

ke zvýšení hladiny, což naznačuje jejich možné využití ke sledování účinnosti léčby a hojení střevní sliznice.

Z celkového počtu 53 miRNA bylo 15 nalezeno i ve vzorcích ze sliznice tenkého střeva s podobným trendem exprese, což podporuje hypotézu, že tyto miRNA mají střevní původ. Analýza zapojených biologických drah dále ukázala, že tyto miRNA ovlivňují procesy související s buněčným cyklem, signalizací TGF-beta, metabolismem mastných kyselin, strukturou extracelulární matrix a mezibuněčnými spoji – tedy cestami, které hrají klíčovou roli v patofyziologii celiakie.

Závěrem studie uvádí, že specifické cirkulující miRNA mohou sloužit jako časné a neinvazivní biomarkery pro predikci rozvoje celiakie, a to i dříve než klasické sérologické testy. Některé z nich navíc mohou posloužit jako ukazatel účinnosti bezlepkové diety a obnovy slizniční integrity, což z nich činí potenciálně cenný nástroj pro diagnostiku i monitorování průběhu onemocnění. (Tan et al., 2021)

### 3. TERAPIE

Terapie obecně představuje soubor léčebných přístupů, jejichž cílem je zmírnit příznaky onemocnění, zpomalit jeho progresi nebo ideálně dosáhnout úplného vyléčení. V této kapitole se věnuji epigenetickým terapiím, které se jeví jako perspektivní směr léčby díky své schopnosti ovlivňovat expresi genů bez nutnosti zásahu do samotné sekvence DNA. Přestože je vývoj epigenetických léčiv stále ve fázi preklinického nebo časného klinického výzkumu, představují tyto přístupy důležitou součást budoucí personalizované medicíny. Kromě epigenetických terapií zmiňují také další navrhované terapeutické přístupy. (Mu et al., 2024)

#### 3.1 Epigenetická terapie

Stále více studií potvrzuje klíčovou roli epigenetiky při regulaci lidského růstu, stárnutí a vývoji celé řady onemocnění, zejména těch autoimunitních. Epigenetické změny jsou velmi dynamické – reagují na podněty z vnějšího prostředí i na vývojové fáze organismu. Jelikož jsou tyto změny zprostředkovány specifickými enzymy, které působí cíleně v určitých typech buněk a nemocí, odpovídá to faktu, že autoimunitní choroby mají sice podobný mechanismus vzniku, ale různorodé klinické projevy. Výzkum epigenetických léčiv je tedy nově vznikající oblast v léčbě onemocnění na úrovni genové regulace, která otevírá novou cestu pro případnou léčbu. (Mu et al., 2024)

V rámci vývoje epigenetické léčby autoimunitních onemocnění, včetně celiakie, se stále větší pozornost věnuje dvěma skupinám epigenetických modulátorů – inhibitorům DNA methyltransferáz (DNMT) a inhibitorům histonových deacetyláz (HDAC). Inhibitory DNMT, jako je například azacytidin nebo decitabin, snižují nadměrnou metylaci DNA, která bývá spojena s patologickým umlčením genů důležitých pro regulaci imunitní odpovědi. Obnovením normální methylace mohou tyto látky podpořit expresi ochranných genů a přispět k obnovení rovnováhy imunitního systému. Přestože tyto látky vykazují slibné výsledky v léčbě jiných autoimunitních a nádorových onemocnění, v dostupné odborné literatuře jsem nenalezla studii, která by se zabývala jejich využitím přímo v kontextu léčby celiakie. Výzkum v této oblasti tedy zatím zůstává pouze v teoretické rovině, avšak s potenciálem pro budoucí cílenou epigenetickou terapii. (Mu et al., 2024)

Jak již bylo zmíněno dříve, miRNA se ukazují jako perspektivní časně biomarkery i u celiakie, a to zejména díky své stabilitě a detekci v tělních tekutinách. MiRNA se dostávají do oběhu několika způsoby – mohou být pasivně uvolněny z poškozených buněk, ale častěji jsou aktivně vylučovány ve formě extracelulárních vezikul, jako jsou exosomy, nebo jsou vázány na

transportní proteiny. V této podobě jsou chráněny před degradací a zůstávají stabilní i v náročných podmínkách, jako je zmrazení nebo opakované rozmrazování vzorku. Díky tomu je možné je spolehlivě detekovat například v krevní plazmě, moči nebo slinách. To naznačuje, že miRNA mohou nejen sloužit k časné detekci onemocnění, ale také odrážet stav aktivity nemoci a odpověď na léčbu. (Tan et al., 2021)

## **3.2 Jiné terapie**

V současné době představuje bezlepková dieta zatím jedinou vědecky prokázanou a účinnou terapii celiakie. Spočívá v celoživotním vyloučení všech potravin obsahujících lepek, kdy dlouhé dodržování této diety vede u většiny pacientů k ústupu klinických příznaků a obnově střevní sliznice. V současné době probíhá výzkum několika léčiv, která by v budoucnu mohla sloužit jako doplněk nebo alternativa k bezlepkové dietě a pomoci pacientům zmírnit příznaky nebo omezit imunitní reakci na lepek. Léčiva, která dále ve své práci zmiňuji, vykazují slibné výsledky a mohou být možností, jak v budoucnu účinně zasáhnout do léčby celiakie. (Aljada et al., 2021, Massironi et al., 2024)

### **3.2.1 Latiglutenáza**

Latiglutenáza je experimentální enzymatická terapie, která by měla sloužit jako doplněk bezlepkové diety u pacientů s celiakií. Obsahuje dvě enzymové složky – glutaminové endoproteázy a prolylové endopeptidázy, které rozkládají lepek v žaludku ještě předtím, než se dostane do tenkého střeva. Klinické studie ukázaly, že u séropozitivních pacientů, tedy těch, kteří mají přetrvávající protilátky i přes dodržování diety, může latiglutenáza zmírnit příznaky jako bolest břicha a nadýmání. Naopak u séropozitivních pacientů s příznaky, které nesouvisí s lepkem (např. kvůli intoleranci laktózy, přerůstání bakterií nebo syndromu dráždivého tračníku), nebyl zaznamenán žádný efekt. Zlepšení příznaků však nebylo doprovázeno odpovídajícím zlepšením střevní sliznice, což může být dáno delším časem potřebným pro její regeneraci nebo slabou souvislostí mezi příznaky a mírou poškození tkáně. (Syage et al., 2019)

### **3.2.2 Polymer BL-7010**

Mezi alternativní přístupy ke zmírnění účinků expozice lepku patří jeho sekvestrace, tedy navázání ještě před vstřebáním ve střevě. Jedna z takových látek je BL-7010, syntetický polymer s vysokou molekulovou hmotností, který se nevstřebává a má silnou afinitu ke gliadinu. Tímto způsobem může blokovat vstřebávání imunogenních peptidů a snižovat zánětlivé reakce spojené s onemocněními, jako je celiakie nebo Crohnova choroba. Účinnost BL-7010 byla potvrzena in vitro i na myším modelu citlivém na lepek. Klinická studie

(NCT01990885), zaměřená na bezpečnost a toleranci tohoto přípravku, byla provedena u pacientů s Crohnovou chorobou, avšak její výsledky dosud nebyly zveřejněny.  
(Massironi et al., 2024)

## ZÁVĚR

Epigenetika v kontextu celiakie představuje oblast s obrovským potenciálem, ale zároveň s mnoha výzvami. V průběhu práce bylo zřejmé, že epigenetické modifikace hrají významnou roli v regulaci genové exprese a mohou ovlivňovat, zda se u geneticky predisponovaného jedince celiakie skutečně rozvine. Zároveň se však ukazuje, že samotné pochopení těchto mechanismů a jejich klinické využití je velmi složité. Výzkum epigenetických změn, například v oblasti methylace DNA, je technicky náročný a vyžaduje analýzu velkého množství dat, která musí být precizně vyhodnocena. Kromě toho je nutné zajistit dostatečný počet pacientů, aby bylo možné získané výsledky zobecnit a přenést do praxe. To činí vývoj epigenetické léčby nejen nákladným, ale i časově velmi náročným procesem.

Velmi slibným směrem výzkumu se ukazuje být využití mikroRNA, které hrají významnou roli v posttranskripční regulaci genové exprese. V souvislosti s celiakií se ukazuje, že určité vzory exprese miRNA mohou sloužit jako biomarkery pro diagnostiku, monitoring aktivity onemocnění nebo hodnocení terapeutické odpovědi. Výhodou miRNA je, že je lze detekovat i v tělních tekutinách, což z nich činí atraktivní neinvazivní diagnostický nástroj.

I když vývoj epigenetických léčiv, jako jsou inhibitory DNA methyltransferáz či histonových deacetyláz, představuje do budoucna zajímavou možnost, avšak jejich využití v terapii celiakie je zatím v teoretické rovině. Je pravděpodobné, že do budoucna budou tyto přístupy dále zkoumány, a to nejen v kontextu celiakie, ale i jiných autoimunitních onemocnění. Aktuálně se však zdá, že výzkumné úsilí směřuje spíše k jiným typům terapií, které jsou blíže klinickému využití. Patří mezi ně například enzymatická degradace lepku pomocí latiglutenázy nebo sekvestrace pomocí polymeru. Tyto přístupy, často kombinované s bezlepkovou dietou, vykazují v klinických studiích u vybraných skupin pacientů slibné výsledky.

## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Dochat C, Afari N, Satherley RM, Coburn S, McBeth JF. Celiac disease symptom profiles and their relationship to gluten-free diet adherence, mental health, and quality of life. *BMC Gastroenterol.* 2024 Jan 2;24(1):9. doi: 10.1186/s12876-023-03101-x. PMID: 38166645; PMCID: PMC10759532.
- [2] Carlo Catassi, Elena F Verdu, Julio Cesar Bai, Elena Lionetti, Coeliac disease, *The Lancet*, Volume 399, Issue 10344, 2022, Pages 2413-2426, ISSN 0140-6736, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00794-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00794-2)
- [3] Cazac GD, Mihai BM, Ștefănescu G, Gîlcă-Blanariu GE, Mihai C, Grigorescu ED, Onofriescu A, Lăcătușu CM. Celiac Disease, Gluten-Free Diet and Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease. *Nutrients.* 2024 Jun 25;16(13):2008. doi: 10.3390/nu16132008. PMID: 38999756; PMCID: PMC11243569.
- [4] Hoffmanová, I., Sánchez, D., Tlaskalová-Hogenová, H. Diagnostická úskalí celiakie. *Vnitřní lékařství* [online]. 2019, 65(1), 50–55
- [5] Gnode E, Meneveri R, Barisani D. Celiac disease: From genetics to epigenetics. *World J Gastroenterol.* 2022 Jan 28;28(4):449-463. doi: 10.3748/wjg.v28.i4.449. PMID: 35125829; PMCID: PMC8790554.
- [6] Laurikka P, Kivelä L, Kurppa K, Kaukinen K. Review article: Systemic consequences of coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2022 Jul;56 Suppl 1(Suppl 1):S64-S72. doi: 10.1111/apt.16912. PMID: 35815828; PMCID: PMC9543231.
- [7] Tye-Din JA, Galipeau HJ, Agardh D. Celiac Disease: A Review of Current Concepts in Pathogenesis, Prevention, and Novel Therapies. *Front Pediatr.* 2018 Nov 21;6:350. doi: 10.3389/fped.2018.00350. PMID: 30519552; PMCID: PMC6258800.
- [8] Andrén Aronsson C, Lee HS, Hård Af Segerstad EM, Uusitalo U, Yang J, Koletzko S, Liu E, Kurppa K, Bingley PJ, Toppari J, Ziegler AG, She JX, Hagopian WA, Rewers M, Akolkar B, Krischer JP, Virtanen SM, Norris JM, Agardh D; TEDDY Study Group. Association of Gluten Intake During the First 5 Years of Life With Incidence of Celiac Disease Autoimmunity and Celiac Disease Among Children at Increased Risk. *JAMA.* 2019 Aug 13;322(6):514-523. doi: 10.1001/jama.2019.10329. PMID: 31408136; PMCID: PMC6692672.
- [9] Stahl M, Koletzko S, Andrén Aronsson C, Lindfors K, Liu E, Agardh D; TEDDY Study Group. Coeliac disease: what can we learn from prospective studies about disease risk? *Lancet Child Adolesc Health.* 2024 Jan;8(1):63-74. doi: 10.1016/S2352-4642(23)00232-8. Epub 2023 Nov 14. PMID: 37972632; PMCID: PMC10965251.
- [10] Meza-Menchaca T, Albores-Medina A, Heredia-Mendez AJ, Ruíz-May E, Ricaño-Rodríguez J, Gallegos-García V, Esquivel A, Vettoretti-Maldonado G, Campos-Parra AD. Revisiting Epigenetics Fundamentals and Its Biomedical Implications. *Int J Mol Sci.* 2024 Jul 19;25(14):7927. doi: 10.3390/ijms25147927. PMID: 39063168; PMCID: PMC11276703.

- [11] Antonella Farsetti, Barbara Illi, Carlo Gaetano, How epigenetics impacts on human diseases, *European Journal of Internal Medicine*, Volume 114,2023, Pages 15-22, ISSN 0953-6205
- [12] Li L, Chen R, Zhang H, Li J, Huang H, Weng J, Tan H, Guo T, Wang M, Xie J. The epigenetic modification of DNA methylation in neurological diseases. *Front Immunol*. 2024 Sep 23;15:1401962. doi: 10.3389/fimmu.2024.1401962. PMID: 39376563; PMCID: PMC11456496.
- [13] Zhang J, Sheng H, Hu C, Li F, Cai B, Ma Y, Wang Y, Ma Y. Effects of DNA Methylation on Gene Expression and Phenotypic Traits in Cattle: A Review. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 25;24(15):11882. doi: 10.3390/ijms241511882. PMID: 37569258; PMCID: PMC10419045.
- [14] Talbert PB, Henikoff S. Histone variants at a glance. *J Cell Sci*. 2021 Mar 26;134(6):jcs244749. doi: 10.1242/jcs.244749. PMID: 33771851; PMCID: PMC8015243.
- [15] Robert K. McGinty, Song Tan, Nucleosome Structure and Function, *Chemical Reviews* 2015 115 (6), 2255-2273, DOI: 10.1021/cr500373h
- [16] Akbari E, Burge NL, Poirier MG. Linker histone H1.0 loads onto nucleosomes through multiple pathways that are facilitated by histone chaperones. *bioRxiv [Preprint]*. 2025 Feb 27:2025.02.23.639383. doi: 10.1101/2025.02.23.639383. PMID: 40060531; PMCID: PMC11888354.
- [17] Oberdoerffer P, Miller KM. Histone H2A variants: Diversifying chromatin to ensure genome integrity. *Semin Cell Dev Biol*. 2023 Feb 15;135:59-72. doi: 10.1016/j.semcdb.2022.03.011. Epub 2022 Mar 21. PMID: 35331626; PMCID: PMC9489817.
- [18] Lai PM, Gong X, Chan KM. Roles of Histone H2B, H3 and H4 Variants in Cancer Development and Prognosis. *Int J Mol Sci*. 2024 Sep 7;25(17):9699. doi: 10.3390/ijms25179699. PMID: 39273649; PMCID: PMC11395991.
- [19] Joseph FM, Young NL. Histone variant-specific post-translational modifications. *Semin Cell Dev Biol*. 2023 Feb 15;135:73-84. doi: 10.1016/j.semcdb.2022.02.012. Epub 2022 Mar 9. PMID: 35277331; PMCID: PMC9458767.
- [20] Hitoshi Kurumizaka, Tomoya Kujirai, Yoshimasa Takizawa, Contributions of Histone Variants in Nucleosome Structure and Function, *Journal of Molecular Biology*, Volume 433, Issue 6, 2021, 166678, ISSN 0022-2836, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.10.012>.
- [21] Hsieh IN, Deluna X, White MR, Hartshorn KL. Histone H4 directly stimulates neutrophil activation through membrane permeabilization. *J Leukoc Biol*. 2021 Apr;109(4):763-775. doi: 10.1002/JLB.3A0620-342R. Epub 2020 Aug 17. PMID: 32803840; PMCID: PMC7461478.

- [22] Liebner T, Kilic S, Walter J, Aibara H, Narita T, Choudhary C. Acetylation of histones and non-histone proteins is not a mere consequence of ongoing transcription. *Nat Commun.* 2024 Jun 11;15(1):4962. doi: 10.1038/s41467-024-49370-2. PMID: 38862536; PMCID: PMC11166988.
- [23] Cavalieri V. The Expanding Constellation of Histone Post-Translational Modifications in the Epigenetic Landscape. *Genes (Basel).* 2021 Oct 10;12(10):1596. doi: 10.3390/genes12101596. PMID: 34680990; PMCID: PMC8535662.
- [24] Kim TH, Nosella ML, Bolik-Coulon N, Harkness RW, Huang SK, Kay LE. Correlating histone acetylation with nucleosome core particle dynamics and function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2023 Apr 11;120(15):e2301063120. doi: 10.1073/pnas.2301063120. Epub 2023 Apr 3. PMID: 37011222; PMCID: PMC10104578.
- [25] Gong P, Guo Z, Wang S, Gao S, Cao Q. Histone Phosphorylation in DNA Damage Response. *Int J Mol Sci.* 2025 Mar 7;26(6):2405. doi: 10.3390/ijms26062405. PMID: 40141048; PMCID: PMC11941871.
- [26] MUDr. Pavel Frühauf, CSc., doc. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D., MUDr. Petr Dědek, Ph.D., prof. MUDr. Jiří Nevorál, CSc., MUDr. Radana Kotalová, CSc., prof. MUDr. Josef Sýkora, Ph.D., MUDr. Natália Szitányi, MUDr. Alena Šebková, MUDr. Lubomír Zahradníček, *Celiakie – doporučený postup pro diagnostiku a terapii u dětí a dospívajících*, (2016)
- [27] Wu X, Xu H, Xia E, Gao L, Hou Y, Sun L, Zhang H, Cheng Y. Histone modifications in the regulation of erythropoiesis. *Ann Med.* 2025 Dec;57(1):2490824. doi: 10.1080/07853890.2025.2490824. Epub 2025 Apr 11. PMID: 40214280; PMCID: PMC11995772.
- [28] Loganathan T, Doss C GP. Non-coding RNAs in human health and disease: potential function as biomarkers and therapeutic targets. *Funct Integr Genomics.* 2023 Jan 10;23(1):33. doi: 10.1007/s10142-022-00947-4. PMID: 36625940; PMCID: PMC9838419.
- [29] Dahl M, Kristensen LS, Grønbæk K. Long Non-Coding RNAs Guide the Fine-Tuning of Gene Regulation in B-Cell Development and Malignancy. *Int J Mol Sci.* 2018 Aug 21;19(9):2475. doi: 10.3390/ijms19092475. PMID: 30134619; PMCID: PMC6165225.
- [30] Chi Y, Wang D, Wang J, Yu W, Yang J. Long Non-Coding RNA in the Pathogenesis of Cancers. *Cells.* 2019 Sep 1;8(9):1015. doi: 10.3390/cells8091015. PMID: 31480503; PMCID: PMC6770362.
- [31] Kozlov DS, Rodimova SA, Kuznetsova DS. The Role of MicroRNAs in Liver Functioning: from Biogenesis to Therapeutic Approaches (Review). *Sovrem Tekhnologii Med.* 2023;15(5):54-79. doi: 10.17691/stm2023.15.5.06. Epub 2023 Oct 30. PMID: 39967915; PMCID: PMC11832066.
- [32] Tan, I., De Almeida, R., Modderman, R., Stachurska, A., Dekens, J., Barisani, D., Meijer, C., Roca, M., Martínez-Ojinaga, E., Shamir, R., Auricchio, R., Korponay-Szabó, I., Castillejo, G., Szajewska, H., Koletzko, S., Zhernakova, A., Kumar, V., Li, Y., Visschedijk, M., Weersma, R., Troncone, R., Mearin, M., Wijmenga, C., Jonkers, I., & Withoff, S. (2021). Circulating miRNAs as Potential Biomarkers for Celiac Disease Development. *Frontiers in Immunology*, 12.

- [33] Castellanos-Rubio A, Fernandez-Jimenez N, Kratchmarov R, Luo X, Bhagat G, Green PH, Schneider R, Kiledjian M, Bilbao JR, Ghosh S. A long noncoding RNA associated with susceptibility to celiac disease. *Science*. 2016 Apr 1;352(6281):91-5. doi: 10.1126/science.aad0467. PMID: 27034373; PMCID: PMC4994711.
- [34] Min H, Kim JS, Ahn J, Shim YH. Gliadin Intake Causes Disruption of the Intestinal Barrier and an Increase in Germ Cell Apoptosis in A *Caenorhabditis Elegans* Model. *Nutrients*. 2019 Oct 27;11(11):2587. doi: 10.3390/nu11112587. PMID: 31717869; PMCID: PMC6893585.
- [35] Jorgensen R, Devarahalli SS, Shah Y, Gao H, Arul Arasan TS, Ng PKW, Gangur V. Advances in Gluten Hypersensitivity: Novel Dietary-Based Therapeutics in Research and Development. *Int J Mol Sci*. 2024 Apr 16;25(8):4399. doi: 10.3390/ijms25084399. PMID: 38673984; PMCID: PMC11050004.
- [36] Wang M, Yu M, Kong WJ, Cui M, Gao F. Association between intestinal neoplasms and celiac disease: A review. *World J Gastrointest Oncol*. 2021 Sep 15;13(9):1017-1028. doi: 10.4251/wjgo.v13.i9.1017. PMID: 34616509; PMCID: PMC8465454.
- [37] Galagali H, Kim JK. The multifaceted roles of microRNAs in differentiation. *Curr Opin Cell Biol*. 2020 Dec;67:118-140. doi: 10.1016/j.ceb.2020.08.015. Epub 2020 Nov 3. PMID: 33152557; PMCID: PMC8607530.
- [38] Singer BD. A Practical Guide to the Measurement and Analysis of DNA Methylation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2019 Oct;61(4):417-428. doi: 10.1165/rcmb.2019-0150TR. PMID: 31264905; PMCID: PMC6775954.
- [39] Liu F, Wang Y, Gu H, Wang X. Technologies and applications of single-cell DNA methylation sequencing. *Theranostics*. 2023 Apr 23;13(8):2439-2454. doi: 10.7150/thno.82582. PMID: 37215576; PMCID: PMC10196823.
- [40] Joseph DB, Strand DW, Vezina CM. DNA methylation in development and disease: an overview for prostate researchers. *Am J Clin Exp Urol*. 2018 Dec 20;6(6):197-218. PMID: 30697577; PMCID: PMC6334199.
- [41] Baran M, Ayna TK, Pehlivan M, Aksoy B, Koçyiğit AÖ, Appak YÇ, Eldem A, Dündar BN, Soyöz M, Pirim İ. Epigenetické mechanismy genů ovlivňujících imunitní odpověď u pacientů s celiakií. *J Pediatr Res*. březen 2024;11(1):25-29. doi:10.4274/jpr.galenos.2024.08456.
- [42] Mu S, Wang W, Liu Q, Ke N, Li H, Sun F, Zhang J, Zhu Z. Autoimmune disease: a view of epigenetics and therapeutic targeting. *Front Immunol*. 2024 Nov 13;15:1482728. doi: 10.3389/fimmu.2024.1482728. PMID: 39606248; PMCID: PMC11599216.
- [43] Aljada B, Zohni A, El-Matary W. The Gluten-Free Diet for Celiac Disease and Beyond. *Nutrients*. 2021 Nov 9;13(11):3993. doi: 10.3390/nu13113993. PMID: 34836247; PMCID: PMC8625243.
- [44] Syage JA, Green PHR, Khosla C, Adelman DC, Sealey-Voyksner JA, Murray JA. Latiglutenase Treatment for Celiac Disease: Symptom and Quality of Life Improvement for Seropositive Patients on a Gluten-Free Diet. *GastroHep*. 2019 Nov;1(6):293-301. doi: 10.1002/ygh2.371. Epub 2019 Oct 8. PMID: 32313451; PMCID: PMC7169937.

- [45] Massironi S, Franchina M, Elvevi A, Barisani D. Beyond the gluten-free diet: Innovations in celiac disease therapeutics. *World J Gastroenterol.* 2024 Oct 14;30(38):4194-4210. doi: 10.3748/wjg.v30.i38.4194. PMID: 39493330; PMCID: PMC11525874.
- [46] Rigo, F.F.; Oliveira, E.C.S.d.; Quaglio, A.E.V.; Moutinho, B.D.; Di Stasi, L.C.; Sasaki, L.Y. Expression of MicroRNAs in Adults with Celiac Disease: A Narrative Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 9412. [https:// doi.org/10.3390/ijms25179412](https://doi.org/10.3390/ijms25179412)
- [47] Zorro MM, Aguirre-Gamboa R, Mayassi T, Ciszewski C, Barisani D, Hu S, Weersma RK, Withoff S, Li Y, Wijmenga C, Jabri B, Jonkers IH. Tissue alarmins and adaptive cytokine induce dynamic and distinct transcriptional responses in tissue-resident intraepithelial cytotoxic T lymphocytes. *J Autoimmun.* 2020 Mar;108:102422. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102422. Epub 2020 Feb 4. PMID: 32033836; PMCID: PMC7049906.