

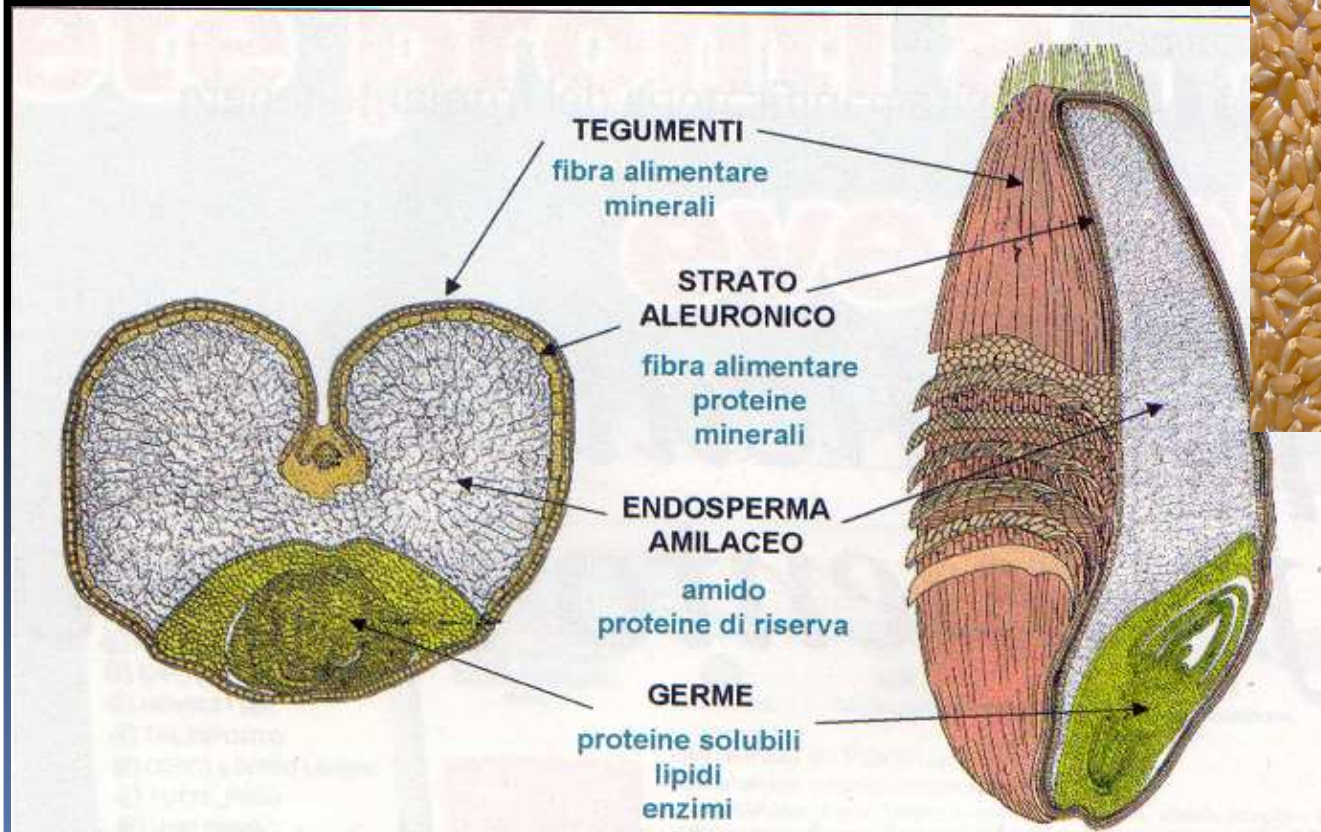


CRA
CONSIGLIO PER LA RICERCA
E LA SPERIMENTAZIONE
IN AGRICOLTURA

**Forum
"Agricoltura,
Alimentazione e
Salute"
Bologna
21 febbraio 2013**

***Celiachia e Gluten Sensitivity.
Strumenti per contrastarne gli effetti***
N. E. POGNA

I cereali sono fondamentali per la nostra dieta perché forniscono amido e proteine in un rapporto quasi ottimale. Inoltre si conservano a lungo (sono secchi) e possono essere facilmente trasportati (si comportano come “fluidi”) e trasformati in cibo (sono privi di parti legnose interne od esterne).



I cereali forniscono il 55% delle proteine alimentari, più di tutti gli alimenti di origine animale.

Fonte alimentare	%	Fonte alimentare	%
<i>Cereali</i>	55	<i>Piante da olio e ortaggi</i>	3
Grano	19	Colza	0,5
Mais	13	Girasole	0,5
Riso	11	Cotone	0,5
Orzo	5	Noce di cocco	0,5
Altri	7	Pomodoro	0,5
<i>Legumi</i>	13	Cipolla, cavolo	0,5
Soia	10	<i>Piante da frutto</i>	0,5
Fagiolo	1	<i>Prodotti animali</i>	17
Pisello	1	Latte, formaggio, uova	6
Arachide	1	Carni	7
<i>Tuberi</i>	4,5	Pesce	4
Patata	2	<i>Altro</i>	7
Cassava	1		
Igname	1,5		

Resa dei Cereali in Italia (in Quintali per Ettaro)

Periodo	F. tenero	F. duro	Mais	Riso	Segale	Orzo
1921-30	12,5	5,2	19,2	51,4	11,5	9,7
1931-40	15,7	11,7	19,7	51,4	7,2	21,9
1951-60	20,0	11,0	26,4	51,2	14,1	11,8
1971-80	30,5	19,4	59,8	51,0	20,9	25,1
1985	36,1	22,1	60,0	60,0	25,3	35,1
2005	54,7	30,0	94,5	64,2	31,2	37,2

ISTAT : *Sommario di statistiche storiche 1924-1945* . Tivoli 1984.

INEA : *Annuario dell'Agricoltura Italiana, 2005*, Roma 2006

Gela, 1932



Roma, 2012



**Le varietà di grano
sono molto cambiate
negli ultimi decenni**



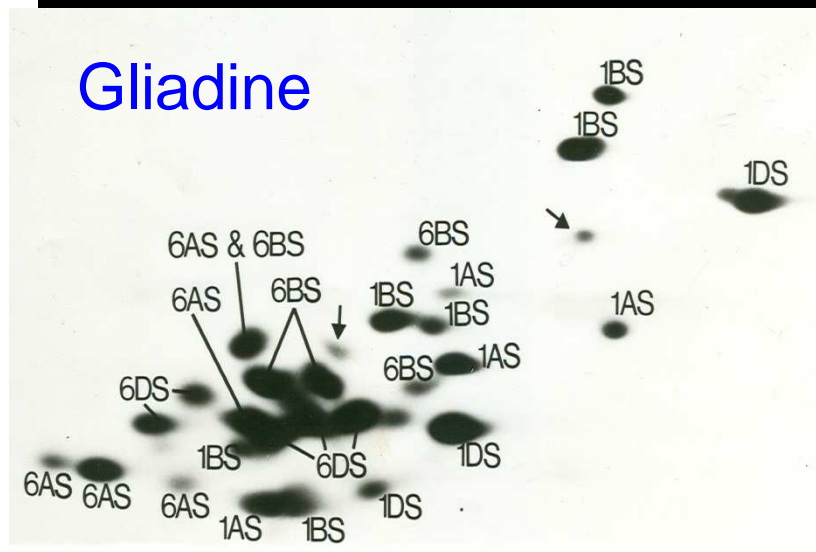
Il glutine si sviluppa quando si aggiunge acqua alla farina di grano e si impasta per alcuni minuti . Se si allontana l'amido contenuto nell'impasto dilavandolo sotto un rivolo d'acqua, si ottiene una massa elastica e lucida che , tolta l'acqua, pesa circa 1/10 della farina usata

Il glutine è elastico ed estensibile. La panificabilità della farina di grano è dovuta alla elasticità ed estensibilità del glutine.



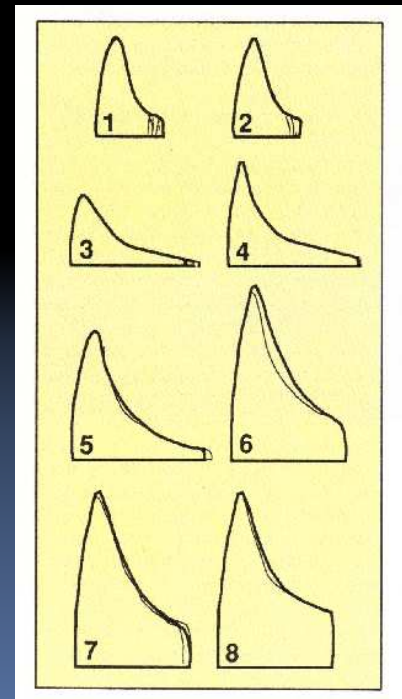
Una singola cariosside di grano contiene da **65 a 80 diverse molecole di prolamine** codificate da più di un centinaio di geni raggruppati in **20 loci** su **6 cromosomi**.

La composizione in prolamine delle varietà coltivate di grano è caratterizzata da un **polimorfismo** estremamente elevato, che riguarda la presenza/assenza, la sequenza aminoacidica, la quantità o le proprietà chimiche di ciascuna molecola prolaminica.



Separazione elettroforetica bidimensionale delle gliadine e delle glutenine estratte da un singolo seme di grano tenero

Il glutine consente all'impasto di trattenere il gas che si forma durante la fermentazione. Con l'Alveografo si misura questa particolare proprietà dell'impasto di grano (quello di orzo, segale, mais, riso o altri cereali non ha questa proprietà) soffiando dell'aria sotto un disco di impasto. Si ottiene una bolla di dimensioni variabili in funzione delle proprietà viscoelastiche del glutine presente nella varietà di grano utilizzata. La resistenza al rigonfiamento (P) e il diametro massimo della bolla (L) stimano rispettivamente la tenacità (elasticità) e l'estensibilità dell'impasto. Questi due parametri si misurano su un grafico detto "Alveogramma"

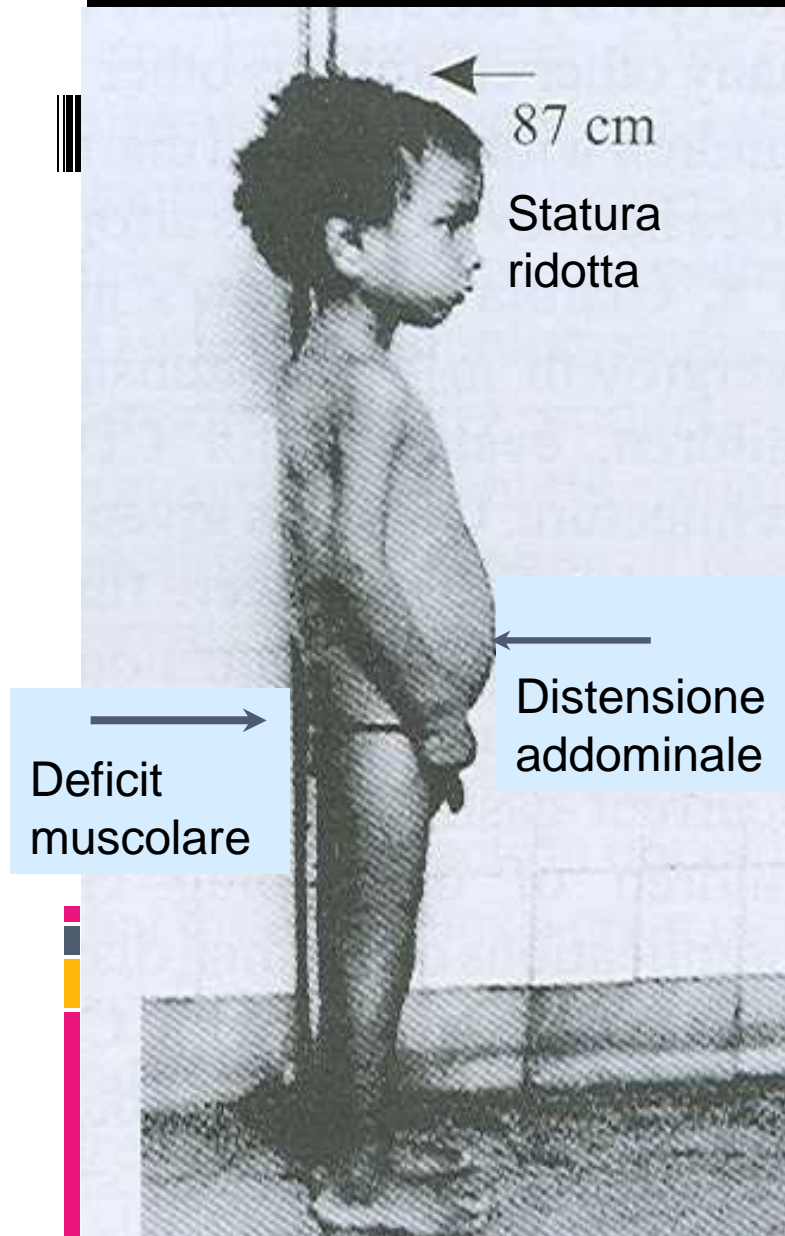


Glutine
e Pane

La

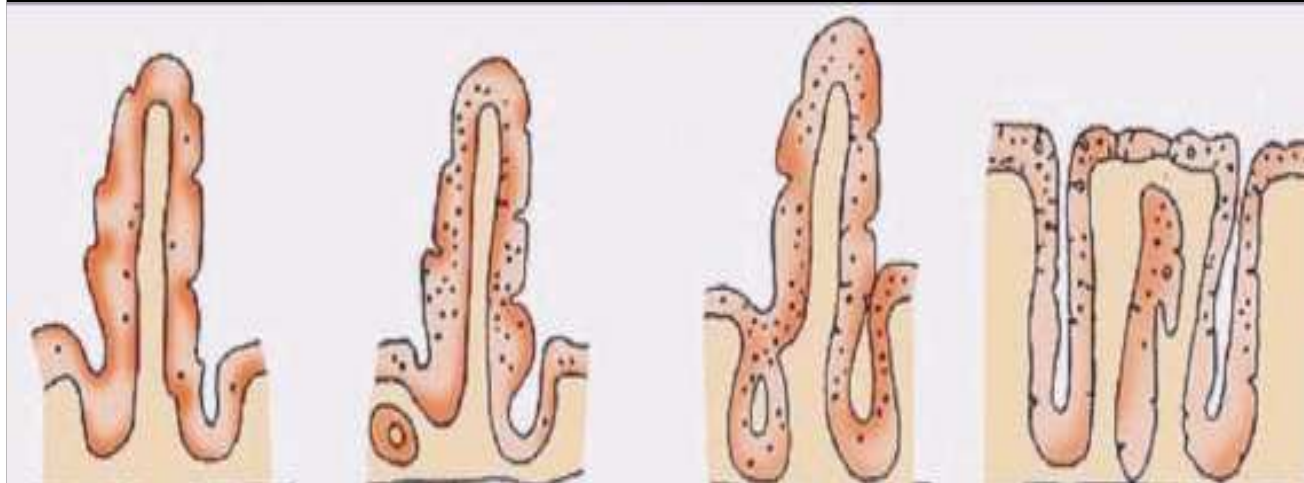
Celiachia

- Grave patologia alimentare che colpisce individui predisposti geneticamente se si alimentano con proteine di grano, orzo e segale.
- Presente in tutto il mondo.
- Malattia autoimmune.
- Solo nel 70% dei casi i gemelli monozigotici sono entrambi celiaci. Pertanto, l'insorgenza della patologia dipende anche da fattori ambientali.



Bambino celiaco di 8 anni

ATROFIA DEI VILLI INTESTINALI CAUSATA DAL



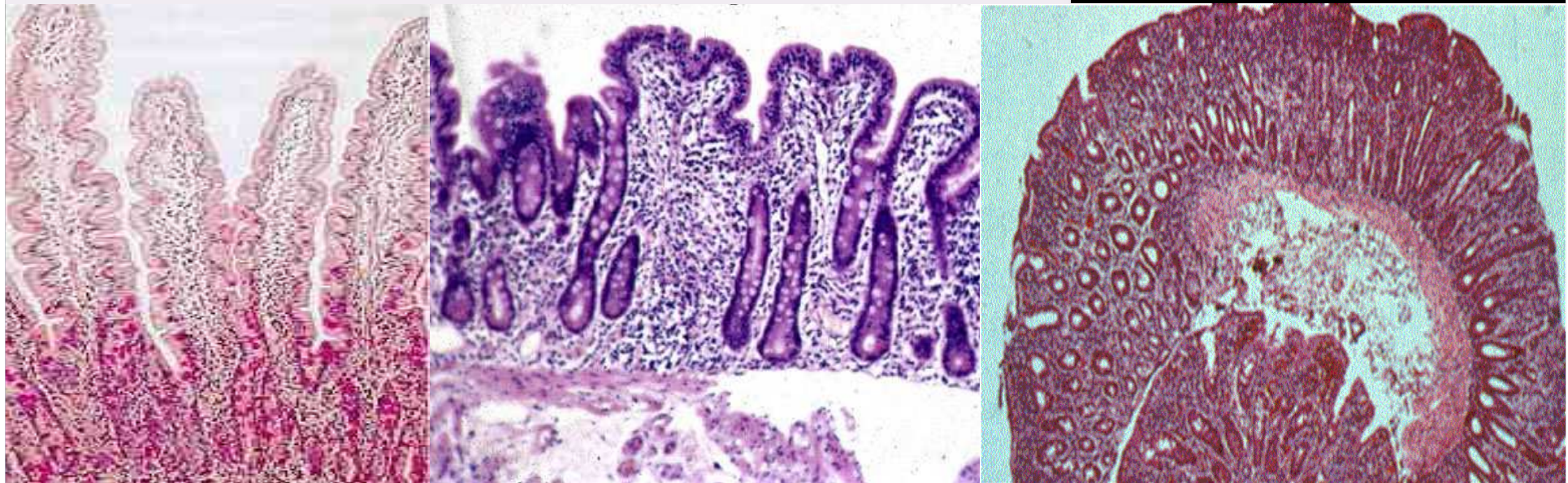
Inizio

Infiltrazione
dei linfociti

Crescita
delle cripte

Distruzione dei
villi

**La celiachia non curata
porta all' atrofia grave
dell'epitelio intestinale**



LA CELIACHIA

Uno su 61 è statisticamente celiaco



Oggi solo la punta dell' iceberg viene diagnosticata

E'chiamata "malattia iceberg"
perché per ogni celiaco
diagnosticato ce ne sono
almeno 5 che sfuggono alla
diagnosi.

Celiaci in Italia

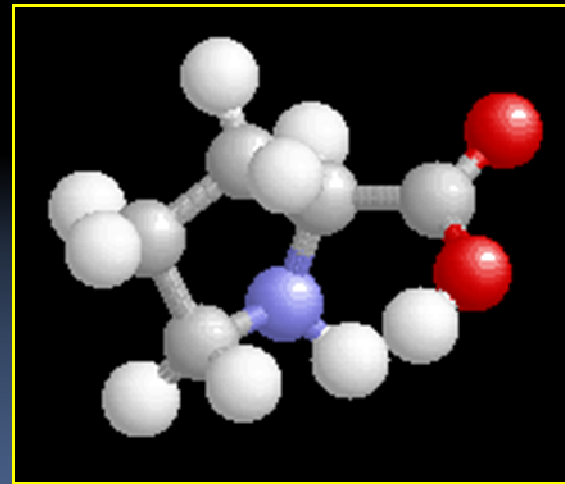
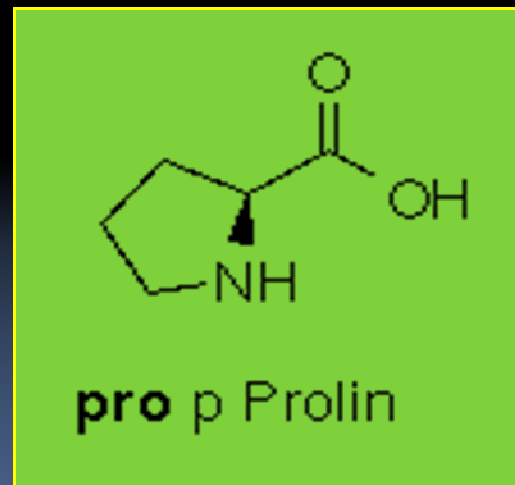
Anno	No. celiaci	‰	No. nuove diagnosi
2007	64.398	1,08	
2008	81.923	1,37	17.525
2009	110.480	1,85	28.557
2010	122.482	2,04	12.002
Atteso	600.000	10,00	

*Fonte: Direzione Generale Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione, Ufficio IV,
Ministero della Salute, anno 2011*

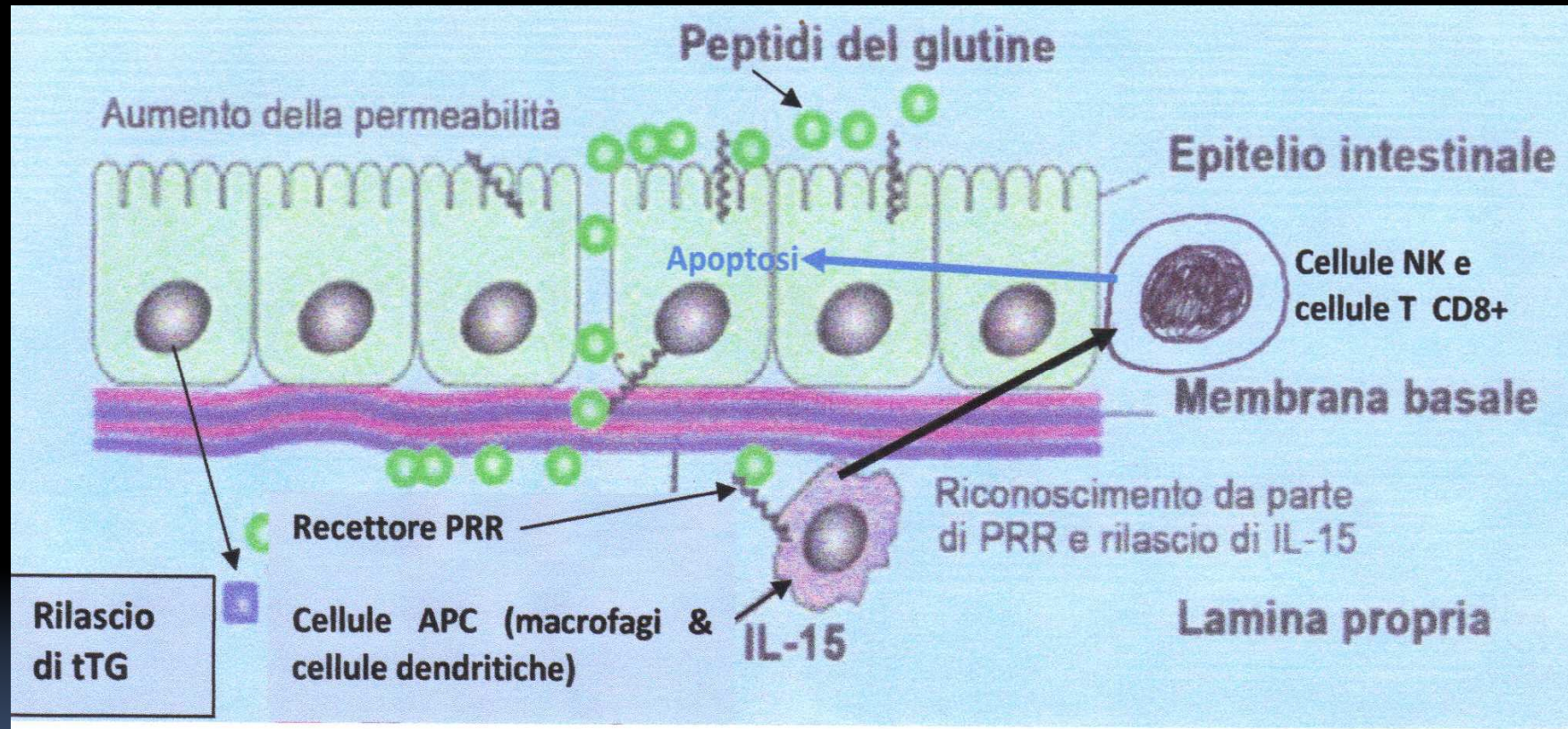
LE BASI MOLECOLARI DELLA CELIACHIA

La Prolina

Le prolamine sono ricche di prolina. Ciò le rende poco digeribili perché nel tratto digerente dell'uomo mancano gli enzimi digestivi (prolil-endopeptidasi) in grado di rompere il legame endopeptidico che coinvolge questo aminoacido.

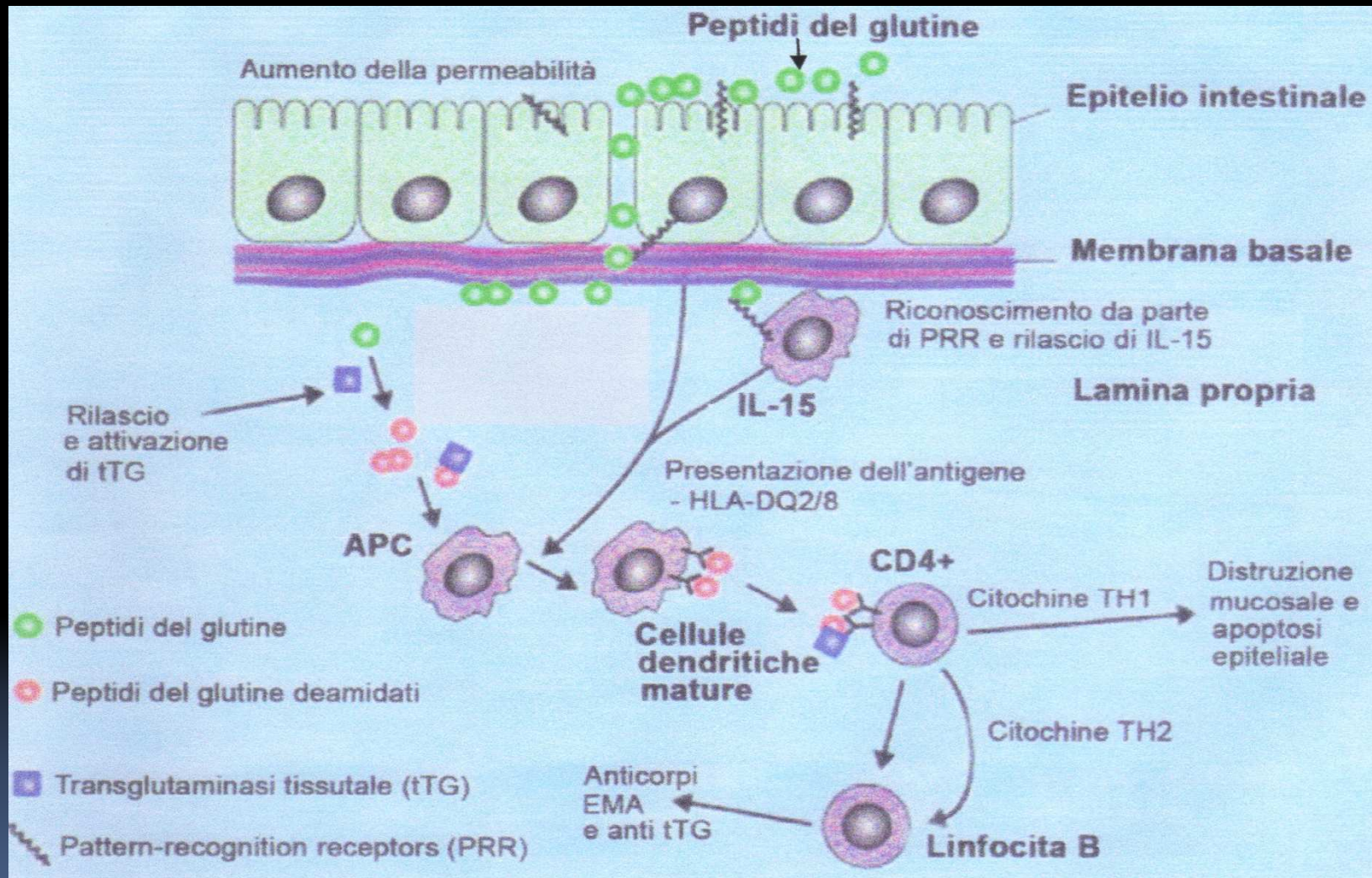


MOLECULAR ASPECTS OF CELIAC DISEASE : INNATE RESPONSE



I peptidi del glutine sono riconosciuti da recettori PRR portati da enterociti, macrofagi e cellule dendritiche che iniziano a produrre IL-15. Questa proteina attiva i “natural killer” (NK) e i linfociti T CD8+, che aggrediscono le cellule dell’epiteio intestinale. La morte degli enterociti si accompagna alla liberazione di tTG (transglutaminasi 2) nella mucosa intestinale.

MOLECULAR ASPECTS OF CELIAC DISEASE : ADAPTIVE RESPONSE

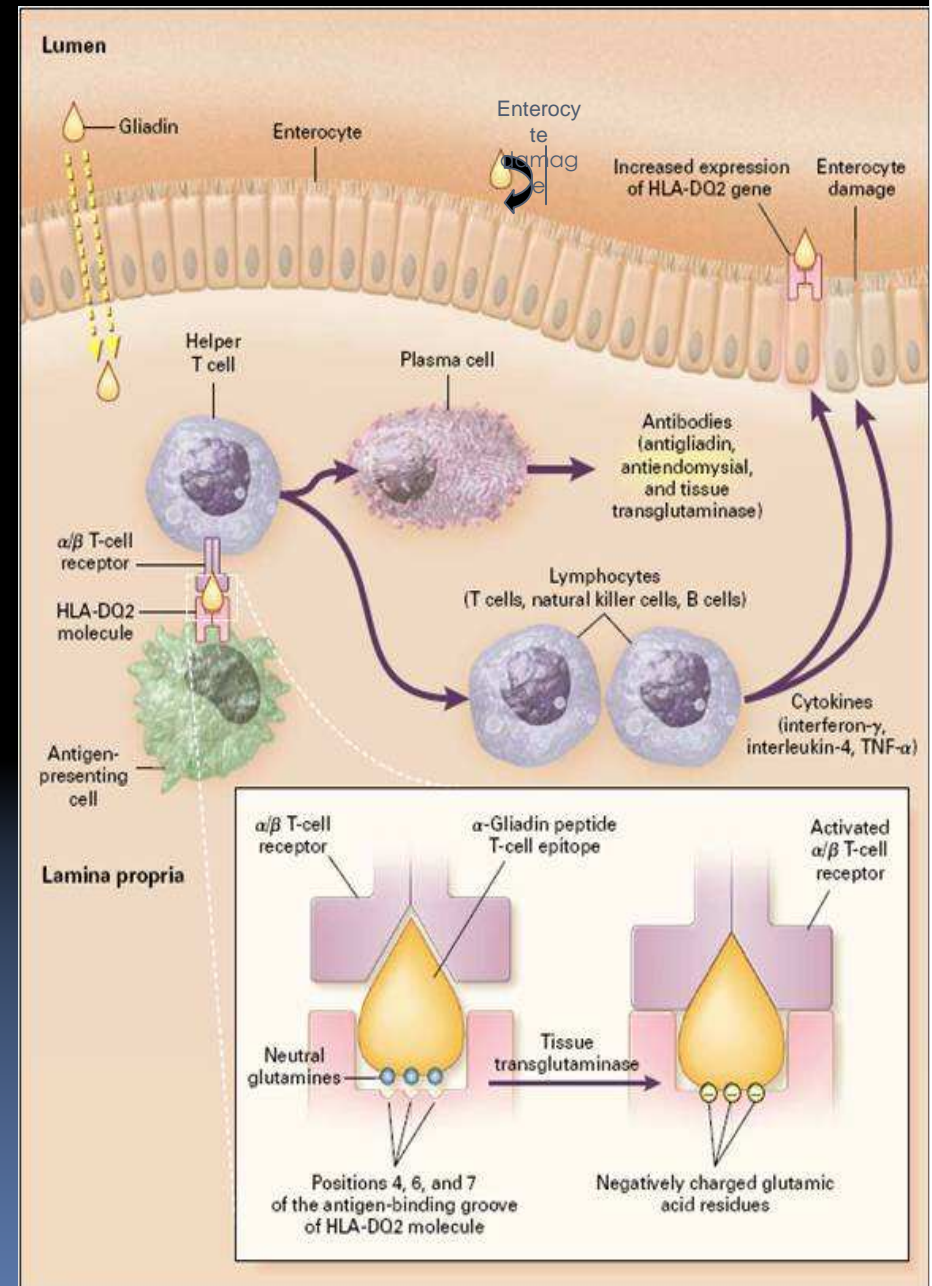


I peptidi del glutine deamidati dalla tTG si legano ai recettori HLA-DQ2/8 portati dai macrofagi e dalle cellule dendritiche attivate dalla IL15. Queste cellule presentano i peptidi del glutine ai linfociti Th1 e Th2, che iniziano a produrre IFN- γ e stimolano i linfociti B a produrre anticorpi sia contro i peptidi che contro la tTG.

I PEPTIDI COINVOLTI NELL'IMMUNITÀ ACQUISITA

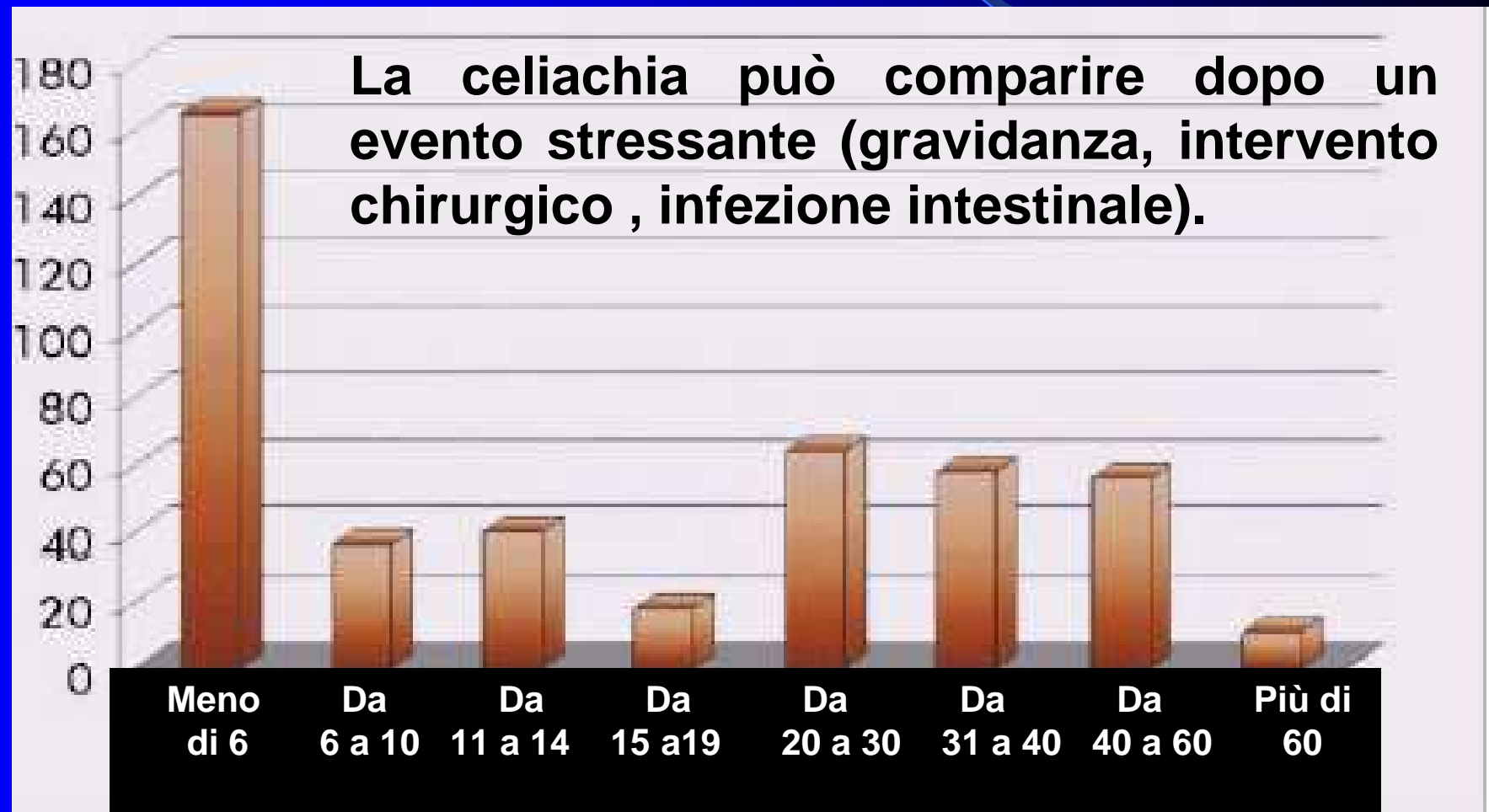
Sono noti almeno 20 peptidi coinvolti nella immunità adattativa tra i quali:

QLQPFPQPQLP
QGSFQPSQQN
QQPQQSFPEQQ
QQPQQSFPEQQ
PSGQGSFQPSQQ
SGQGSFQPSQQN



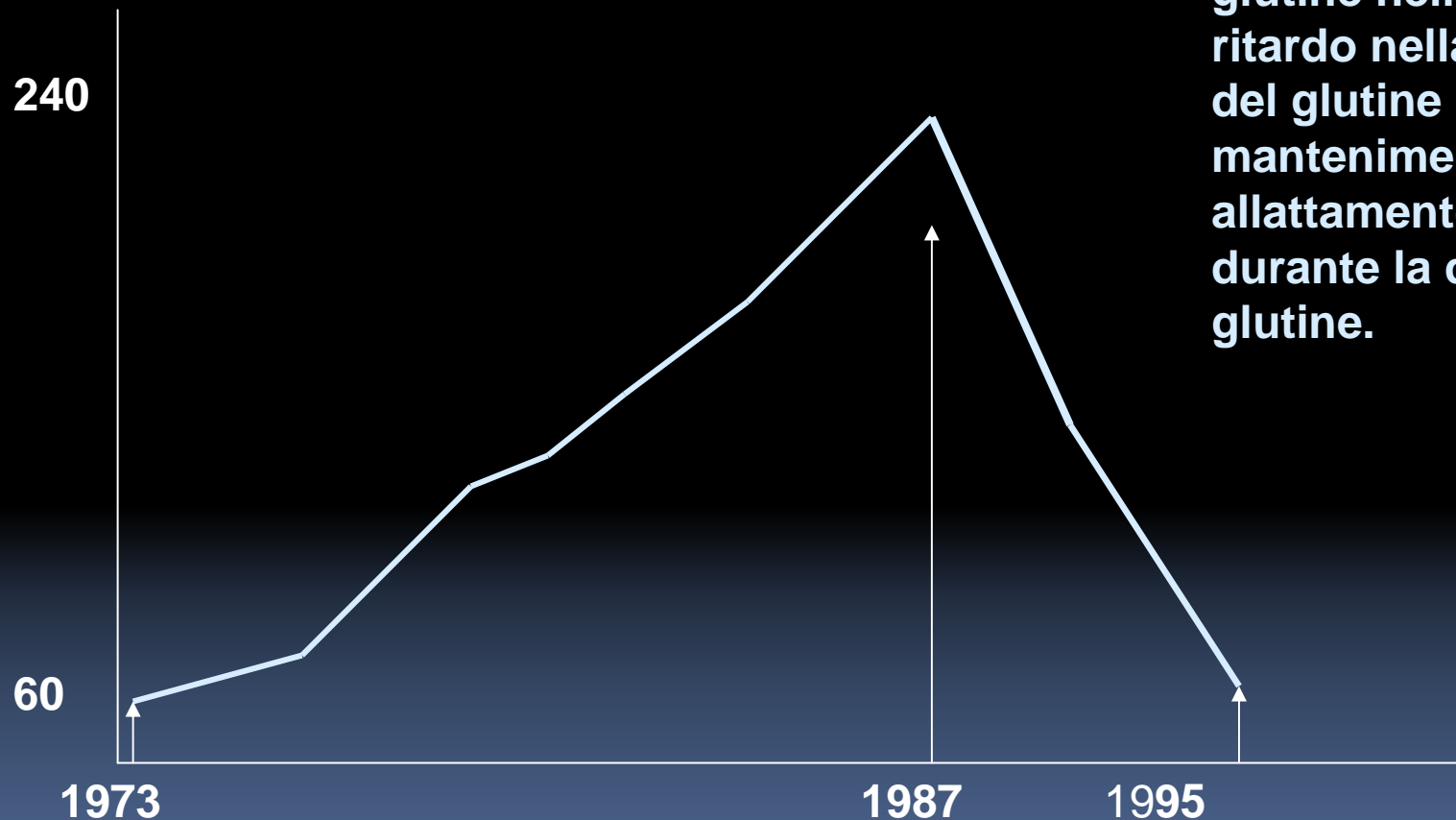
ETA' DI 450 CELIACI AL MOMENTO DELLA DIAGNOSI DI CELIACHIA

Fonte A.I.C. Emilia Romagna



INCIDENZA DELLA CELIACHIA SINTOMATICA NEI BAMBINI SVEDESI DI ETA' NON SUPERIORE A 2 ANNI

Casi su 100.000



Il calo dopo il 1987 è dovuto a (i) riduzione del glutine nella dieta, (ii) ritardo nella introduzione del glutine nella dieta e (iii) mantenimento dell'allattamento al seno durante la dieta con glutine.

La diffusione della celiachia è correlata con la quantità di glutine nella dieta

Terapie alimentari della celiachia

1. Digestione del glutine

mediante proli-endopeptidasi batteriche o fungine

mediante digestione degli impasti con proteasi batteriche

2. Detossificazione del glutine con transglutaminasi
microbica

**3. Sviluppo di grano privo o molto povero di epitopi
immunogenici**

Sviluppo di grano privo o molto povero di epitopi immunogenici

Esiste una notevole variabilità nel livello di tossicità delle prolamine di grano tenero

L'analisi di centinaia di varietà di grano tenero con anticorpi monoclonali specifici per i principali epitopi immunogenici del glutine ha dimostrato che i frumenti teneri coltivati nella prima metà dello scorso secolo (grani di Strampelli inclusi) sono meno tossici dei frumenti attuali, i quali sono particolarmente ricchi di peptidi altamente reattivi in quasi tutti i pazienti celiaci.



1. Digestione del glutine mediante proli-endopeptidasi batteriche o fungine

- L'efficacia di alcuni enzimi fungini, resistenti al pH acido dello stomaco umano, nel degradare in vivo i peptidi tossici del glutine può essere utilizzata per consentire al celiaco di tollerare quantità di glutine pari a 2 grammi/die. La commercializzazione di tali enzimi sotto forma di pillola da ingerire con i pasti avverrà entro 3 anni (Prof. Frits Koning, Università di Leiden, Olanda)
- Analoghi trial sono in corso con proli-endopeptidasi batterica somministrata sotto forma di pillola ed in grado di ridurre il glutine in piccoli frammenti non tossici, a titolo di protezione dalle contaminazioni (commercializzazione entro 2015). (Prof. Markku Maki, Università di Tampere, Finlandia)

1. Digestione del glutine mediante digestione degli impasti con proteasi batteriche

Gli impasti addizionati di peptidasi da lattobacilli che degradano i peptidi del glutine conservano ottime capacità di cottura per la preparazione di cibi commestibili e di ottima palatabilità per i celiaci (Prof. Marco Gobbetti, Università di Bari, Italia)

Nel lievito naturale sono presenti ceppi di *Lactobacillus. alimentarius* 15M, *Lb. brevis* 14G, *Lb. sanfranciscensis* 7A e *Lb. hilgardii* 51B ad elevata attività proteolitica. Questi lattobacilli ed i loro estratti citoplasmatici idrolizzano il glutine.

Detossificazione del glutine con transglutaminasi microbica

Il dr Mauro Rossi del CNR di Avellino propone di rendere innocuo il glutine pre-trattando le farine di grano con la transglutaminasi di *Streptoverticillium moraba* in presenza di alte dosi aggiunte di lisina. In questo modo, i residui glutaminici delle prolamine formano legami chimici con la lisina e non sono più disponibili alla deamidazione da parte della tTG del celiaco.

Negli ultimi anni sono state acquisite evidenze che non tutti i frumenti sono tossici allo stesso livello

GASTROENTEROLOGY 2005;128:393-401

Mapping of Gluten T-Cell Epitopes in the Bread Wheat Ancestors: Implications for Celiac Disease

ØYVIND MOLBERG,* ANNE KJERSTI UHLEN,† TORE JENSEN,* NINA SOLHEIM FLÆTE,†
BURKHARD FLECKENSTEIN,* HELENE ARENTZ-HANSEN,* MELINDA RAKI,* KNUT E. A. LUNDIN,*
and LUDVIG M. SOLLID*

*Institute of Immunology, Rikshospitalet, University of Oslo, Oslo; and †Department of Plant and Environmental Sciences, Agricultural University of Norway, Ås, Norway

GASTROENTEROLOGY 2005;129:797-806

Natural Variation in Toxicity of Wheat: Potential for Selection of Nontoxic Varieties for Celiac Disease Patients

LIESBETH SPAENIJ-DEKKING,* YVONNE KOOY-WINKELAAR,* PETER VAN VEELLEN,*†
JAN WOUTER DRIJFHOUT,* HARRY JONKER,[§] LOEK VAN SOEST,^{||} MARINUS J. M. SMULDERS,^{§,¶}
DIRK BOSCH,[§] LUUD J. W. J. GILISSEN,^{§,¶} and FRITS KONING*

J BIOCHEM TOXICOLOGY
Volume 11, Number 6, 1

insfusion, Leiden University Medical Center, Leiden; †Center for Medical Systems Biology, research International, Wageningen; ‡Centre for Genetic Resources, Wageningen; and

In Vitro Toxicity Testing of Alcohol-Soluble Proteins from Diploid Wheat *Triticum Monococcum* in Celiac Disease

Massimo De Vincenzi,¹ Roberto Luchetti,¹ Claudio Giovannini,¹ Norberto E. Pogna,²
Carlo Saponaro,² Giovanni Galterio,² and Giovanni Gasbarrini³

¹Laboratorio di Metabolismo e Biochimica Patologica, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Rome, Italy; ²Istituto Sperimentale Cerealcoltura, Via Cassia 176, 00191 Rome, Italy; ³Cattedra di Medicina Interna II, Università Cattolica, L. go A. Gemelli 8, 00168 Rome, Italy

Negli ultimi anni sono state acquisite evidenze che non tutti i frumenti sono tossici allo stesso livello

Scandinavian Journal of Gastroenterology, 2006; 41: 1305–1311



ORIGINAL ARTICLE

Lack of intestinal mucosal toxicity of *Triticum monococcum* in celiac disease patients

DANIELA PIZZUTI¹, ANDREA BUDA¹, ANNA D'ODORICO¹, REN SILVIA CHIARELLI², ANDREA CURIONI³ & DIEGO MARTINES¹

¹Department of Surgical and Gastroenterological Sciences, ²Department of Surgical and On
³Department of Agricultural Biotechnology, Padua University, Italy

Journal of Plant Interactions, Month 2007; 00(0): 1–10



ORIGINAL ARTICLE

Variation in noxiousness of different wheat species for celiac patients

NORBERTO E. POGNA¹, LAURA GAZZA¹, OLIMPIA VINCENTINI², & MASSIMO DE VINCENZI²

¹CRA – Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Rome, and ²Division of Food Science, Human Nutrition and Health, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

(Received 31 August 2007; accepted 1 October 2007)

doi:10.1111/j.1440-1746.2006.04680.x

GASTROENTEROLOGY

Environmental factors of celiac disease: Cytotoxicity of hulled wheat species *Triticum monococcum*, *T. turgidum* ssp. *dicoccum* and *T. aestivum* ssp. *spelta*

Olimpia Vincentini,* Francesca Maialetti,* Laura Gazza,[†] Marco Silano,* Mariarita Dessi,[‡] Massimo De Vincenzi* and Norberto Edgardo Pogna[†]

*Division of Food Science, Human Nutrition and Health, National Institute of Health, Rome, [†]CRA, Institute of Cereal Research, Rome, and

[‡]Department of Laboratory Medicine, University Hospital Tor Vergata, Rome, Italy

**Durante l'Età del Rame (7500-5000 BP),
il grano monococco e l'orzo sono stati
i principali cereali coltivati in Europa e
nel Vicino Oriente**



**La dieta di Otzi (5350-
5100 BP), “l'uomo dei
ghiacci” scoperto 20
anni fa sepolto nei
ghiacci del Similaun in
alta Val Venosta, si
basava su pane di grano
monococco, legumi,
carne di cervo e
stambecco , frutti
selvatici (prugnolo),**



PASTA OF MONOCOCCUM WHEAT



Jovial Foods Inc., North Franklin, CT , USA, produces pasta with monococcum wheat in Italy and exports it in USA.

Good-quality spaghetti are produced with monococcum wheat semolina

Monococcum and carasau bread (Sardinian flat bread)



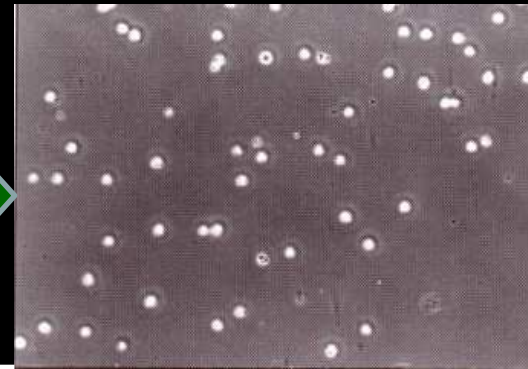
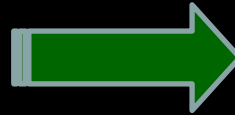
Monococcum, snack and breakfast cereals



INNATE IMMUNE REACTIONS IN 'MONOCOCCUM' WHEAT

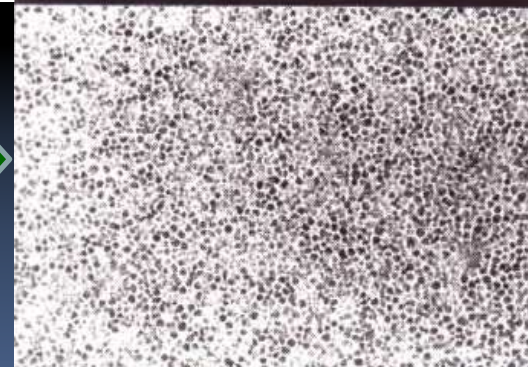
K562(S) CELLS

All accessions



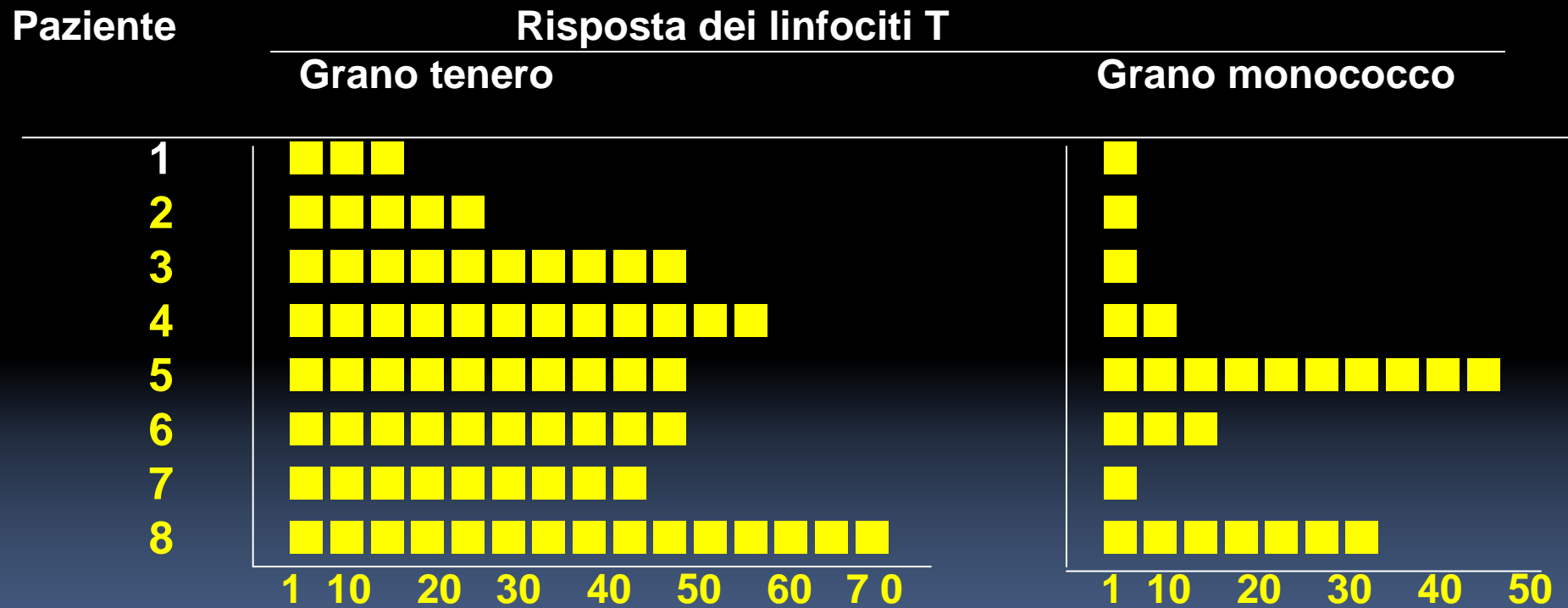
except

Monlis	MAC 0.15
358	MAC 0.59
1636	MAC 1.27



MAC= Minimal Agglutination Concentration (g/l)

RISPOSTA DEI LINFOCITI T DI 8 PAZIENTI CELIACI ALLA SOMMINISTRAZIONE DI PROLAMINE DI GRANO TENERO E GRANO MONOCOCCO



Modificato da Molberg et al 2005, Gastroenterology 128 :393

Immunogenicity of monococcum wheat in celiac patients

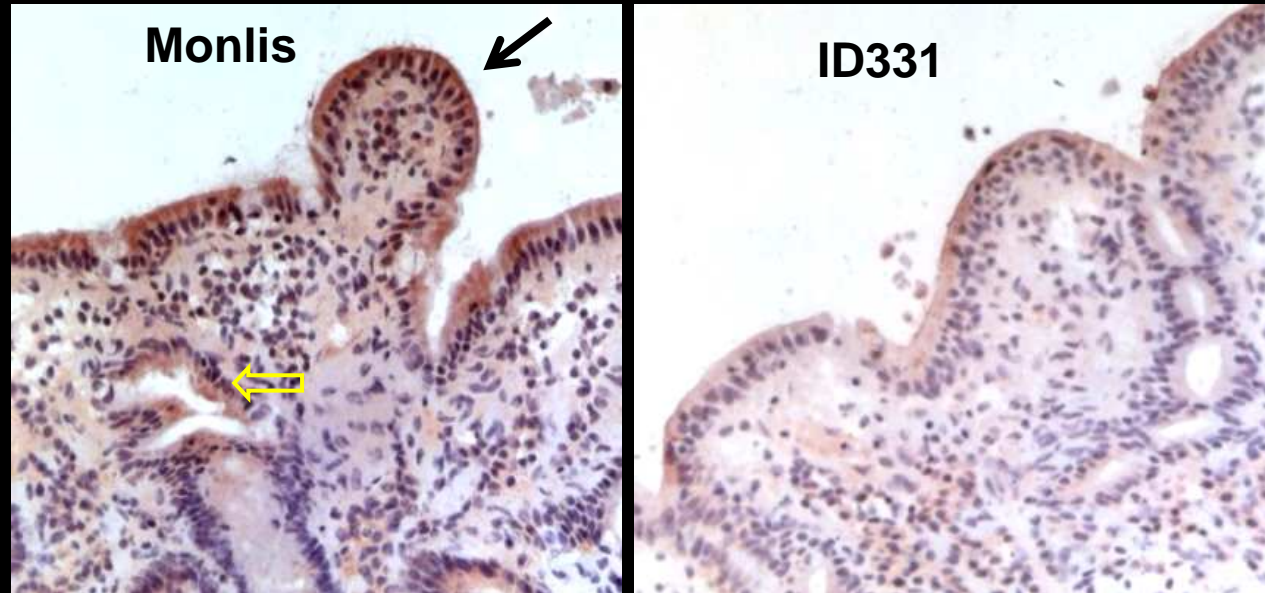
Carmen Gianfrani, Mariatonia Maglio, Vera Rotondi Aufiero, Alessandra Camarca, Immacolata Vocca, Gaetano Iaquinto, Nicola Giardullo, Norberto Pogna, Riccardo Troncone, Salvatore Auricchio, and Giuseppe Mazzearella



The American Journal of
CLINICAL NUTRITION

Am J Clin Nutr 2012;96:1338–44.

Monococcum wheat cv. ID331 does not induce IL-15 production in celiac intestinal mucosa



Production of IL-15 in the intestinal mucosa of celiac patients after exposition to gliadins from monococcum wheat cv. Monlis is evident in both villi (black arrow) and crypts (yellow arrow). This does not occur with gliadins from monococcum wheat cv. ID331.

The absence of ω -gliadins is associated with toxicity in monococcum wheat



The toxic accessions 358, 1636 and Monlis differ from the other inactive genotypes for the absence of ω -gliadins in their A-PAGE patterns.

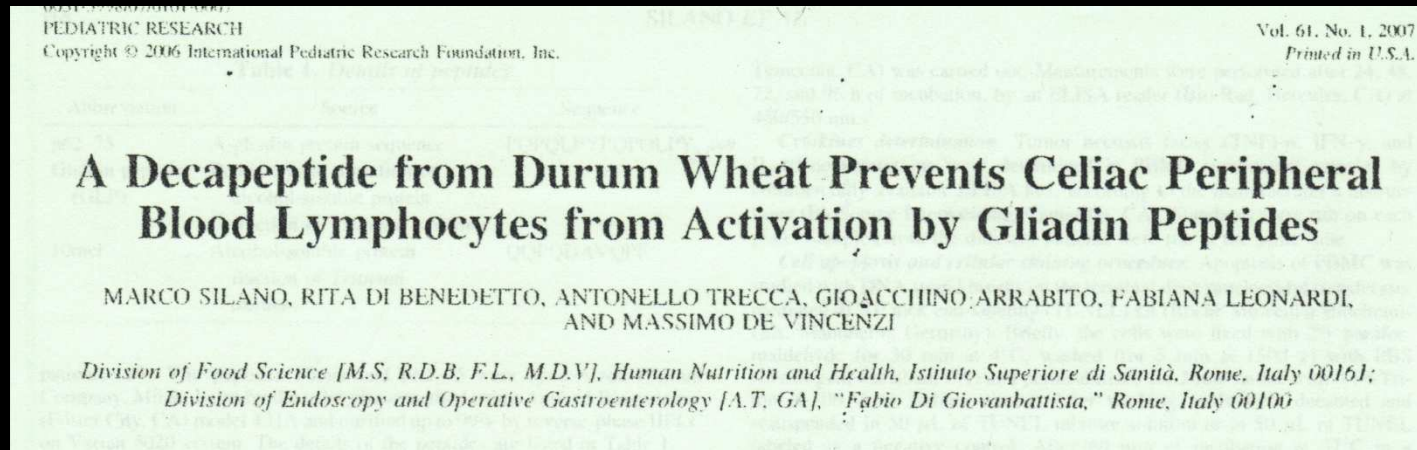
This rare ($\leq 2\%$) condition is associated to superior breadmaking quality. (Saponaro et al 1995)



Monlis **1395** **331**

ω -gliadins

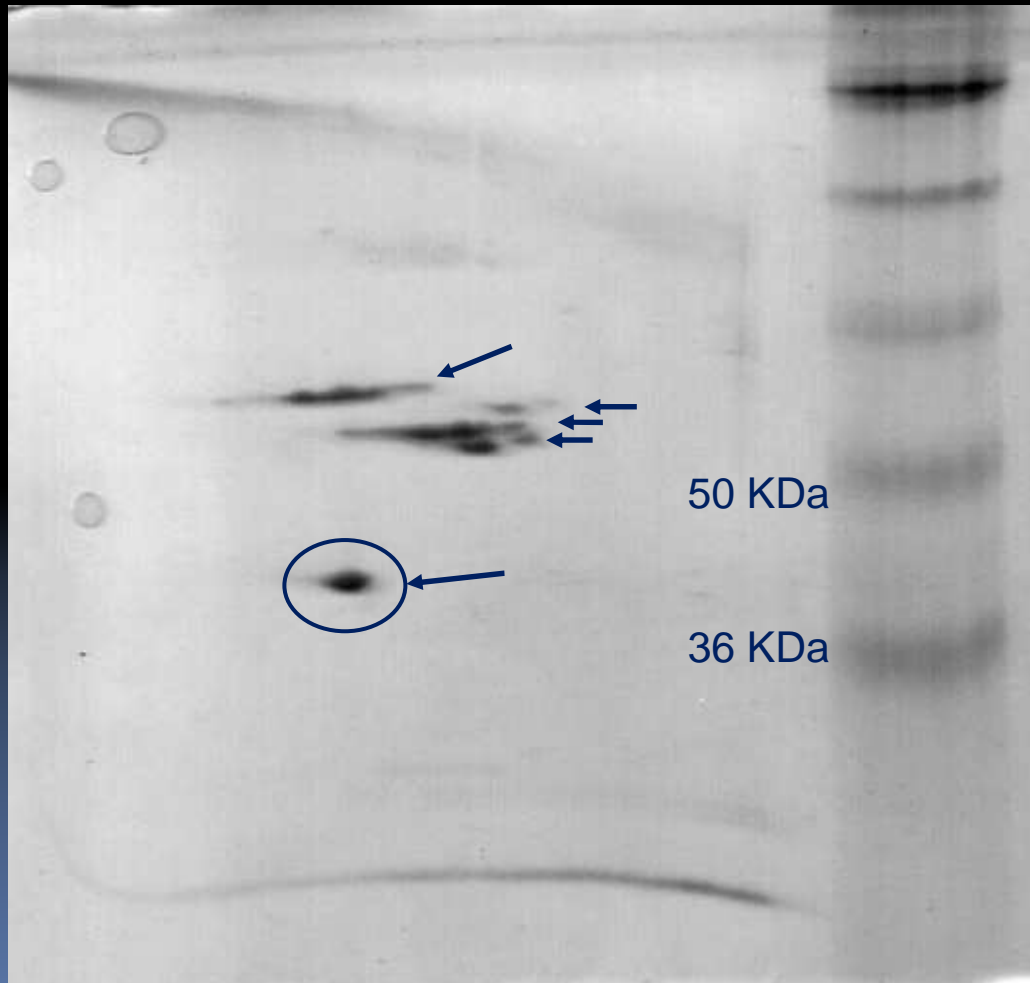
Il peptide protettivo 10-mer **QQPQDAVQPF**_{COOH} di 1157 Da è stato trovato nel materiale ottenuto dalla digestione con pepsina e tripsina delle prolamine del grano duro Adamello.



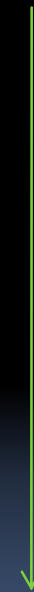
I linfociti del sangue periferico di bambini celiaci a dieta libera proliferano e producono citochine, IFN- γ e TNF- α se esposti alle prolamine di frumento. Questi effetti non si osservano se si aggiunge anche il 10-mer, il quale stimola la sintesi di interleuchina 10, un immunomodulatore antinfiammatorio

Two-dimensional fractionation A-PAGE x SDS-PAGE of ω -gliadins in monococcum wheat cv. Stendhal

A-PAGE \longrightarrow



SDS-PAGE



GLUTEN SENSITIVITY

Negli ultimi decenni, manifestazioni intestinali ed extraintestinali scatenate da alimenti a base di grano, sono state denunciate da individui non affetti da celiachia né da allergia al grano. Dallo scorso anno questa forma di intolleranza è nota come **Gluten Sensitivity (GS)** o Sensibilità al Glutine. Negli USA questa patologia interessa circa il 10% della popolazione ed ha fatto crescere notevolmente il mercato dei cibi privi di glutine o “alternativi”



E' stato suggerito che esista una relazione tra celiachia e GS. Il quadro di Renoir "Le due sorelle" è stato proposto come emblema di questa relazione.

OPEN QUESTIONS IN GLUTEN SENSITIVITY

QUALI COMPONENTI DEL GRANO CAUSANO LA GS ?

TUTTE LE VARIETA' DI GRANO SONO UGUALMENTE NOCIVE?

ESISTE UNA RELAZIONE TRA GS E LE PROPRIETA' VISCO-ELASTICHE DEL GLUTINE?

KAMUT, GRANO MONOCOCCO, FARRO, ORZO, SEGALE E AVENA INDUCONO LA GS ?

LA GS E' UNA CONDIZIONE PERMANENTE ED IRREVERSIBILE?

ESISTE UNA RELAZIONE TRA CELIACHIA E GS?

LA GS COINVOLGE L'IMMUNITA' INNATA, L'IMMUNITA' ADATTATIVA O ENTRAMBE?

.....

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

