

Le nuove frontiere delle tecnologie alimentari e la celiachia

IL GRANO E IL GLUTINE

Oltre la metà delle proteine alimentari deriva dai cereali, più di quanto forniscono gli alimenti di origine animale (17%). In Italia e nei paesi del bacino mediterraneo il grano soddisfa per circa un terzo il fabbisogno medio giornaliero di energia (2400 kcal). Questa energia (mediamente 320 kcal per 100 g di grano) proviene per l'80% dall'amido e da zuccheri semplici come glucosio, fruttosio o saccarosio e per il 15% dalle proteine, presenti nella granella in una percentuale media dell'11-13%. In effetti il grano costituisce la principale fonte di proteine alimentari nella dieta umana (19% circa) e fornisce altri fattori nutritivi importanti come vitamine (tiamina, niacina, riboflavina, vitamina B6, acido folico, vitamina E) e minerali (potassio, magnesio, ferro, fosforo, rame, zinco, selenio) e numerose altre sostanze bioattive come fibre alimentari, polifenoli e fitoestrogeni (soprattutto isoflavoni e lignani). La quota principale (oltre il 75%) delle proteine della cariosside di grano è costituita da proteine di riserva note come *gliadine* e *glutenine* (collettivamente denominate *prolamine*) le quali, in presenza di acqua, ossigeno ed energia (fornita dalle operazioni di impastamento) formano il *glutine*, il più grande e complesso polimero proteico naturale responsabile delle peculiari proprietà visco-elastiche delle farine, cioè della qualità panificatoria o pastificatoria del grano (fig. 1).

La rete tridimensionale del glutine consente all'impasto di trattenere il gas prodotto dal lievito durante la fase di fermentazione-lievitazione. Questa proprietà dell'impasto può essere misurata sperimentalmente soffiando aria

* *Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura - Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali (CRA-QCE), Roma*

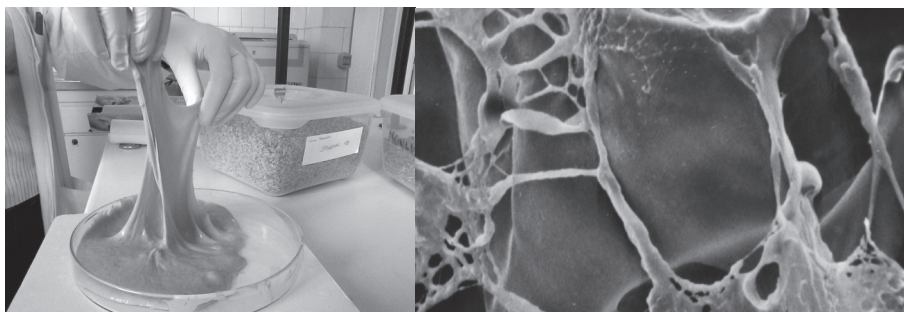


Fig. 1 *Glutine (a sinistra) e sua struttura al microscopio elettronico a scansione (a destra)*

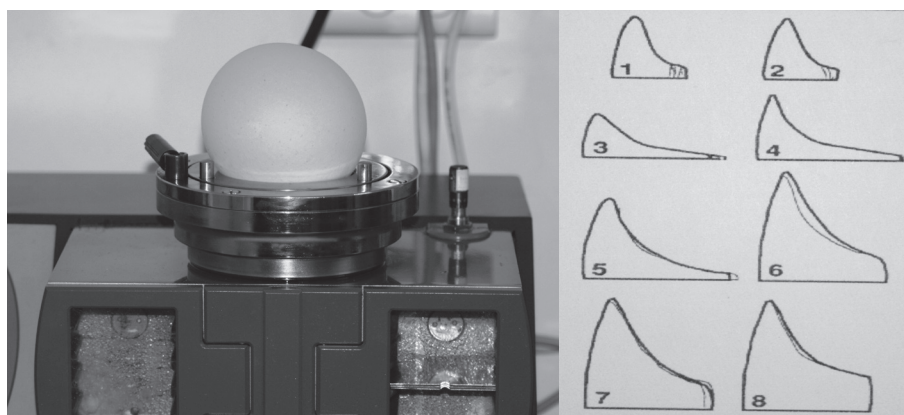


Fig. 2 *Valutazione dell'impasto di grano tenero mediante alveografo (a sinistra). Gli alveogrammi (a destra) stimano la "forza" (area, W), la tenacità (altezza, P) e la estensibilità (lunghezza, L) di otto diversi impasti di grano tenero*

dentro l'impasto stesso per formare una bolla le cui dimensioni variano in funzione delle proprietà visco-elastiche del glutine. La resistenza al rigonfiamento e il diametro della bolla misurate con l'Alveografo (fig. 2) stimano rispettivamente la tenacità (elasticità) e l'estensibilità dell'impasto.

Dall'andamento di queste due variabili durante la formazione della bolla si ottiene un grafico (alveogramma) la cui area corrisponde all'energia (parametro W) spesa per gonfiare la bolla stessa ("forza" del glutine), mentre i parametri P (altezza massima dell'alveogramma) e L (lunghezza massima dell'alveogramma) stimano rispettivamente la resistenza massima al rigonfiamento (o *tenacità*) e il diametro massimo della bolla (*estensibilità*). Nello scorso secolo, il passaggio dalla panificazione/pastificazione artigianale a quella industriale è stato accompagnato dalla coltivazione di varietà di grano con valori crescenti dei parametri alveografici W e P . Le varietà di grano tenero

VARIETÀ	CONTENUTO PROTEICO (%)	W ALVEOGRAFICO	INDICE DI GLUTINE (%)
<i>Grano tenero</i>			
Ardito*	12,7	125	88
Mentana*	11,7	76	40
Roma*	12,5	59	47
Villa Glori*	12,1	90	50
Bologna	13,1	301	98
Etecho	11,8	199	93
Eureka	11,8	116	97
Guadalupe	10,2	213	96
<i>Grano duro</i>			
Cappelli*	14,4	95	11
Simeto	13,2	310	79
*Varietà di N. Strampelli			

Tab. 1 *W alveografico e indice di glutine di varietà di grano prodotte da N. Strampelli a confronto con varietà moderne*

attualmente coltivate hanno un valore medio di *W* più che doppio rispetto a quello delle varietà messe a punto da Nazareno Strampelli nel primo trentennio del '900 (tab. 1). Anche “*l'indice di glutine*”, un parametro che misura la “qualità” (livello di polimerizzazione) del glutine in una scala da 0 (scadente) a 100 (ottimo), è molto più basso nelle varietà di Strampelli rispetto a quelle di recente costituzione.

Lo stesso vale per le varietà di grano duro. Ad esempio, la varietà Cappelli prodotta nel 1915 da Strampelli ha un valore medio di *W* tre volte più piccolo di quello della più recente varietà Simeto, tuttora coltivata su migliaia di ettari. È interessante notare che il glutine “debole” della varietà Cappelli si accompagna a elevato contenuto proteico delle cariossidi (>14%), a dimostrazione che la “forza” del glutine è dovuta soprattutto alla struttura delle proteine piuttosto che alla loro quantità. Infatti, l'incremento dell'indice *W* negli ultimi decenni è stato ottenuto selezionando nuove varietà con proteine particolarmente elastiche, con un elevato valore di *P* alveografico.

Il glutine rappresenta circa l'80% della porzione proteica del frumento ed è composto principalmente da un gruppo di proteine denominate *prolamine*, a loro volta suddivise in gliadine e glutenine. Le *gliadine* sono proteine monomeriche e sono rappresentate in ogni varietà di grano da circa 50 molecole diverse per dimensione e sequenza, distinte in 4 gruppi noti come α -, β -, γ - e ω -gliadine. Esse costituiscono il 40% delle proteine totali (fig. 3).

Le *glutenine* sono proteine polimeriche composte da subunità HMW ad alto peso molecolare (High Molecular Weight, 3-5 molecole diverse per ogni

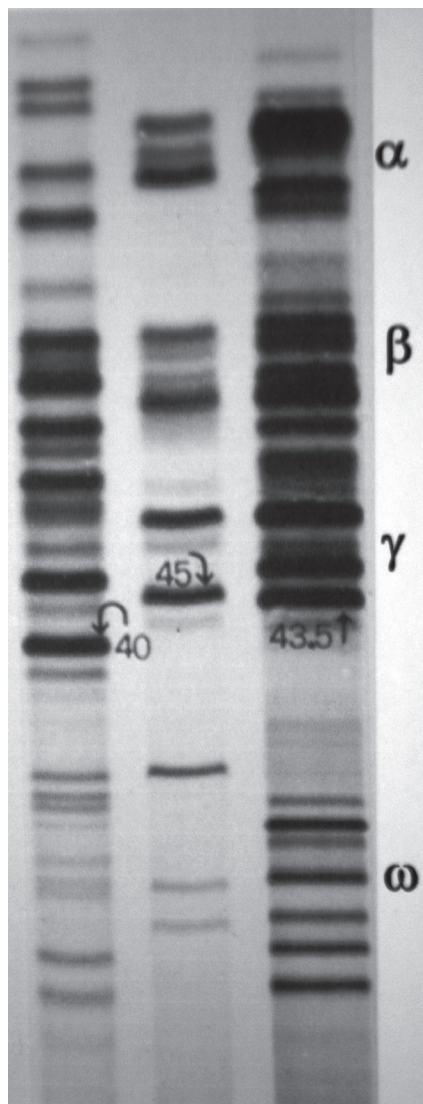


Fig. 3 Separazione elettroforetica di gliadine di due varietà di grano tenero e, al centro, una varietà di grano duro. Le frecce indicano tre gliadine associate alla qualità del glutine

varietà) e da subunità LMW a basso peso molecolare (Low Molecular Weight, da 16 a 25 molecole diverse). Le subunità HMW costituiscono il 10% delle proteine totali, hanno 4-7 residui di cisteina di cui 2-3 localizzati alle estremità della molecola e in grado di formare legami covalenti inter-molecolari (ponti disolfuro) responsabili dell'estrema polimerizzazione del glutine. Le subunità LMW hanno 8 residui di cisteina di cui almeno 2 impegnati in legami inter-molecolari. Le subunità gluteniniche durante le operazioni di im-

pasto si legano tra loro (polimerizzazione) a formare una rete tridimensionale responsabile dell'*elasticità* (tenacità) del glutine. Le gliadine si legano a questo "scheletro" proteico attraverso legami deboli che conferiscono *estensibilità* (viscosità) al complesso molecolare del glutine.

Grazie a queste particolari proprietà visco-elastiche del grano è possibile ottenere pane e prodotti da forno con caratteristiche qualitative (volume, sofficità) che altri cereali come riso, mais, orzo, avena o segale non sono in grado di fornire. Anche la superiore tenuta alla cottura e la ridotta collosità della pasta di grano duro rispetto a quella di altri cereali sono dovute in larga parte al glutine.

INTOLLERANZA ALIMENTARE AL GRANO

Tuttavia il glutine è anche il principale responsabile di due sindromi patologiche alimentari, *celiachia* e "*gluten sensitivity*", che stanno mettendo in discussione la sicurezza d'uso del grano.

La celiachia è la forma più grave di intolleranza alimentare. Essa compare in individui predisposti geneticamente quando ingeriscono alimenti o bevande a base di frumento, orzo o segale. È indotta da frammenti indigeriti di *prolamine* quando questi vengono a contatto con l'epitelio dell'intestino tenue e con le cellule del sistema immunitario (macrofagi, cellule dendritiche, linfociti) presenti nelle mucose sottostanti, inducendo la produzione di anticorpi anti-gliadinici e una serie di auto-anticorpi (anti-tranglutaminasi tessutale, anti-endomisio) che aggrediscono la mucosa intestinale. Si instaura così una reazione infiammatoria che distrugge i villi intestinali, strutture implicate nell'assorbimento dei cibi digeriti, e porta a una sindrome clinica nota come "malassorbimento". Fino a pochi anni fa la celiachia era considerata tipica dell'infanzia ma tale convinzione è stata rivista perché a partire dai primi anni '90 si è assistito a un forte incremento del numero di diagnosi a carico di soggetti in età adulta. I soggetti affetti dalla forma classica della celiachia presentano le caratteristiche manifestazioni cliniche e di laboratorio del malassorbimento intestinale e lamentano sintomi importanti quali diarrea cronica o stipsi, addome globoso, vomito, inappetenza, arresto della crescita, calo ponderale e irritabilità, spesso associati ad anemia sideropenica, deficit vitaminici e osteoporosi. Nella forma atipica, la più frequente, i sintomi intestinali sono aspecifici (dolore addominale ricorrente, stipsi, dispepsia) o del tutto assenti; prevalgono invece le manifestazioni extraintestinali isolate, caratterizzate da ritardo puberale, bassa statura, osteopenia, osteoporosi, po-

liabortività, infertilità, associazione a disordini autoimmuni. Anche in questo caso i soggetti affetti possono presentare le tipiche alterazioni istologiche intestinali, ma spesso sono paucisintomatici o asintomatici, e sfuggono a una diagnosi corretta.

Tra le forme atipiche della celiachia sono comprese la cosiddetta forma latente, caratterizzata dalla presenza nel siero di anticorpi anti-endomisio e anti-transglutaminasi tissutale e da assenza di atrofia dei villi, sia quella silente (asintomatica), caratterizzata dall'assenza di sintomi clinici in presenza di atrofia dei villi e auto-anticorpi. La celiachia può essere considerata come un fattore di predisposizione allo sviluppo di altre patologie autoimmuni, quali il diabete mellito insulino-dipendente di tipo I, la tiroidite di Hashimoto e la sclerosi multipla (De Block et al., 2001; Not et al., 2001; Valentino et al., 1999). La prevalenza di malattie autoimmuni nei celiaci è significativamente più alta rispetto alla popolazione generale. La associazione tra celiachia e altre patologie autoimmuni lascia pensare a un comune substrato genetico (Ventura et al., 1999; Kristiansen et al., 2000).

La celiachia può comparire a qualunque età ed è irreversibile. La recente introduzione di marcatori diagnostici di tipo sierologico altamente specifici e sensibili (anticorpi anti-gliadina deamidata, anti-endomisio e anti-transglutaminasi tissutale) e di test genetici (tipizzazione dell'HLA) ha portato a stimare che la celiachia interessa attualmente circa l'1% della popolazione mondiale e tende a raddoppiare la sua prevalenza ogni 15 anni circa. La malattia è presente in tutto il mondo con una distribuzione piuttosto eterogenea (ad esempio non supera lo 0,3% in Germania, mentre si avvicina al 3% in Finlandia). Nel 1992 Richard Logan ha proposto un modello a iceberg della celiachia. In questo modello, la prevalenza globale della malattia è rappresentata dall'intera mole dell'iceberg, la quale è a sua volta influenzata dalla frequenza di soggetti predisposti geneticamente. I casi diagnosticati di celiachia rappresentano la parte "emersa" e visibile dell'iceberg, mentre la porzione "sommersa" (circa il 90% dell'intero volume dell'iceberg) corrisponde ai casi che sfuggono alla diagnosi, rappresentati in grandissima maggioranza dalle forme atipiche succitate. Ad esempio, in Italia i celiaci diagnosticati nel 2010 ammontavano a poco più di 122.000 (0,2% della popolazione totale) a fronte dei circa 600.000 attesi in base alla prevalenza dell'1% stimata dalle analisi sierologiche condotte su campioni rappresentativi della popolazione (tab. 2).

Il notevole aumento della prevalenza della celiachia negli ultimi anni è verosimilmente associato a nuove abitudini alimentari come la diminuzione dell'allattamento al seno, l'aumento delle quantità di glutine ingerito durante

ANNO	NUMERO	%	INCREMENTO
2007	64.398	0,11	
2008	81.923	0,14	17.525
2009	110.480	0,18	28.557
2010	122.482	0,20	12.002

Tab. 2 *Celiaci registrati in Italia*

lo svezzamento e la *qualità* del glutine stesso, in particolare il forte aumento della tenacità del glutine.

La celiachia può essere superata con una dieta priva di grano, orzo e segale (dieta *gluten-free*). I celiaci non diagnosticati e quelli che mantengono una dieta libera nonostante la diagnosi sono esposti a una serie di danni per la salute quali bassa statura, anemia, stomatite, difetti dello smalto dentario, osteoporosi e quadri patologici a livello delle articolazioni, del fegato, del cuore e del sistema nervoso centrale. La gravità di queste complicanze è legata all'esposizione prolungata alle proteine tossiche; talora può instaurarsi un linfoma. Il celiaco ha difficoltà ad alimentarsi al di fuori delle mura domestiche ed è esposto al rischio di assunzione involontaria di prolamine a causa dell'uso assai diffuso delle farine di frumento e dei suoi derivati nell'industria alimentare e cartaria o a causa della contaminazione di prodotti naturalmente privi di glutine.

LE BASI IMMUNOLOGICHE DELLA CELIACHIA

Nella celiachia si riconoscono due livelli d'azione delle prolamine: (i) un'*attività citotossica innata* e (ii) un'*attività immunitaria adattativa*. L'attività citotossica si manifesta pochi minuti dopo l'esposizione dell'epitelio intestinale alle prolamine e coinvolge l'*immunità innata*. La risposta innata è particolarmente importante perché rappresenta la prima linea di difesa contro gli antigeni patogeni esterni. Le cellule dell'epitelio intestinale, le cellule dendritiche e quelle con capacità fagocitaria (macrofagi) della sottostante mucosa sono caratterizzate dalla presenza sulle loro superfici di specifici recettori definiti "pattern recognition receptors" (PRR), i quali, dopo aver riconosciuto e legato i peptidi prolamini, innescano il rilascio di citochine e chemochine proinfiammatorie, tra le quali la proteina nota come interleuchina-15 (IL-15). Quest'ultima proteina attiva le cellule "natural killer" (NK) e i linfociti T CD8+, che aggrediscono le cellule dell'epitelio intestinale. La morte degli enterociti si accompagna alla liberazione di transglutaminasi tessutale (tTG)

nella mucosa intestinale (Mention et al., 2003). Inoltre il rilascio di IL-15 induce le cellule dendritiche e i macrofagi a legare con altri specifici recettori (HLA-DQ2/8) i frammenti di prolamine deamidate dall'azione della transglutaminasi tissutale (tTG) e a presentarli ai linfociti T-helper (Th1 e Th2), che iniziano a produrre interferone γ (IFN- γ) e stimolano i linfociti B a produrre anticorpi sia contro i peptidi prolamini che contro la tTG, innescando la risposta *immunitaria adattativa*. Le due branche della risposta immunitaria, l'innata e l'adattativa, seppure con differenti funzioni, sembrano essere attivate da frammenti prolamini (epitopi) diversi, quelli non-immunodominanti e quelli immunodominanti, capaci di indurre rispettivamente la risposta immunitaria innata e quella adattativa. Attualmente conosciamo solo un paio di peptidi non-immunodominanti, mentre quelli immunodominanti sono numerosi (oltre 20) e diversi tra loro, e i pazienti celiaci reagiscono in modo diverso a questi epitopi. La situazione è ulteriormente complicata dal fatto che ogni varietà di grano ha una propria composizione in prolamine e contiene centinaia di molecole diverse di queste proteine. Inoltre è stato dimostrato che deve essere superata una soglia affinché nell'individuo con predisposizione genetica alla celiachia si instauri una risposta immunitaria patologica alle prolamine (Vader et al., 2003). Questa soglia è determinata dalla quantità di epitopi immunodominanti che interagiscono con le cellule T-helper e dall'intensità della risposta indotta nei linfociti dal loro legame con le sequenze prolamine. Pertanto, lo sviluppo di varietà di grano a bassa citotossicità e immunogenicità o l'uso di particolari specie di grano naturalmente povere di prolamine immunodominanti potrebbe portare alla produzione di farine e semole in cui sono assenti o rare le sequenze prolamine in grado di attivare le cellule T intestinali oltre la soglia patologica.

TOSSICITÀ E IMMUNOGENICITÀ DEL GRANO

Sono state ottenute prove sperimentali di una certa variabilità nel livello di citotossicità innata e immunogenicità adattativa tra le diverse specie e varietà di grano. In particolare, è stato dimostrato (van den Broeck et al., 2010) che le varietà più recenti di grano tenero sono molto ricche di sequenze fortemente immunogeniche rispetto alle varietà coltivate nella prima metà dello scorso secolo, varietà di N. Strampelli incluse. Inoltre è stato dimostrato che la rimozione di alcune specifiche prolamine può ridurre l'*attività citotossica* del grano tenero e che le prolamine estratte da numerose varietà di frumento monococco non hanno citotossicità immediata *in vitro* verso gli espianti inte-

stinali di pazienti celiaci. Lo stesso comportamento è stato osservato in alcune varietà di farro (Vincentini et al., 2007; Pogna et al., 2008). Inoltre nelle farine di grano monococco e di alcune varietà di farro sono presenti molecole proteiche in grado di contrastare gli effetti tossici delle farine di frumento tenero e frumento duro (Pogna et al., 2008; Gazza et al., 2010).

Il grano monococco (*Triticum monococcum* ssp *monococcum*) è un frumento diploide ($2n=2x=14$) a cariosside vestita; introdotto in coltura circa 10.000 anni fa nel Vicino Oriente, è una delle specie che hanno fondato l'agricoltura. Per migliaia di anni (fino all'età del Bronzo), insieme a farro e orzo, ha costituito la base della dieta delle popolazioni agricole europee. L'introduzione in agricoltura dei frumenti poliploidi (farro, grano duro, grano tenero e grano spelta), più produttivi e di facile trebbiatura, ha ridotto drasticamente la coltivazione del grano monococco il quale è attualmente coltivato su piccole superfici in Italia, Germania, Francia, Turchia, Grecia e Penisola balcanica.

Il grano monococco è strettamente imparentato con frumento tenero e frumento duro. Adattabile ai più diversi ambienti di coltura, è particolarmente indicato per un'agricoltura a basso impatto ambientale, in quanto naturalmente resistente a stress e patogeni vari.

IL GRANO MONOCOCCO

Il rinnovato interesse per il grano monococco è legato alla crescente sensibilità dell'opinione pubblica per le caratteristiche dietetico-nutrizionali degli alimenti ed è giustificato dall'ottima composizione della sua farina. Il contenuto proteico del grano monococco, in media 15-18%, è superiore a quello degli altri cereali coltivati e presenta un valore nutrizionale superiore a quello di frumento tenero e frumento duro. Gli studi condotti presso l'Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali del Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura (CRA-QCE) negli ultimi dieci anni hanno permesso di identificare numerosi aspetti peculiari e nutrizionalmente interessanti del grano monococco (tab. 3). Tra le caratteristiche che lo rendono unico nell'ambito dei cereali a paglia abbiamo (i) l'elevato contenuto in carotenoidi, precursori della vitamina A e antiossidanti naturali, che è circa 5 volte quello del frumento tenero; (ii) l'ottima disponibilità di tocoli (vitamina E), che è circa 50% maggiore rispetto a frumento duro e tenero; (iii) l'alto contenuto in lipidi (circa 50% in più rispetto al frumento tenero), con una netta prevalenza di acidi grassi insaturi; (iv) l'alta percentuale in ceneri e l'elevato contenuto in minerali (particolarmente interessanti sono zinco, ferro

SPECIE	PROTEINE (%)	LIPIDI INSATURI (%)	LUTEINA (PPM)	VITAMINA E (PPM)	ZINCO (PPM)	FERRO (PPM)	FOSFORO (PPM)
Grano monococco	18,3±1,2	3,4±0,7	7,5±0,4	75,5±2,1	62,0±3,5	57,3±7,1	4800±570
Grano tenero	11,2±1,1	1,9±0,5	1,1±0,2	50,2±3,3	31,1±2,0	32,2±6,9	2800±699
Differenza (%)	+63	+79	+582	+50,4	+99,3	+77,3	+71,4

Tab. 3 *Contenuto medio (\pm ES) di proteine, lipidi insaturi e altre sostanze bioattive in grano monococco e grano tenero*

e fosforo) e (v) un contenuto in fruttani circa 50-70% maggiore rispetto al grano tenero (Hidalgo e Brandolini, 2008).

La farina di grano monococco, quasi impalpabile, presenta un caratteristico colore giallo ed è ottima per la produzione di biscotti, *snakes*, fiocchi (*flakes*) e altri prodotti da forno (Brandolini et al., 2008; Pollini et al., 2013); esistono anche genotipi con un'ottima attitudine alla panificazione (Saponaro et al., 1995; Borghi et al., 1996). Anche la qualità pastificatoria è molto elevata, sia in termini di lavorabilità della materia prima che di qualità del prodotto finito: gli spaghetti e i maccheroni di grano monococco hanno una buona tenuta alla cottura e una ridotta perdita di amido rispetto a quelli a base di semole commerciali di grano duro (Brandolini et al., 2008). Inoltre *T. monococcum* possiede granuli di amido di piccole dimensioni (cosiddetti *B-type*) in proporzione maggiore rispetto ai frumenti coltivati.

Una caratteristica peculiare di questo cereale è l'elevata tollerabilità alimentare. Negli ultimi anni sono state ottenute numerose evidenze sperimentali della ridotta tossicità delle prolamine di grano monococco. In particolare, le prolamine di questo cereale non sono in grado di indurre lesioni nella mucosa intestinale di pazienti celiaci (Auricchio et al., 1982; De Vincenzi et al., 1995; 1996) e di agglutinare le cellule K562(S), un test *in vitro* fortemente correlato con la "tossicità" dei peptidi prolamini. Inoltre sono state individuate accessioni di *T. monococcum* povere di sequenze immuno-dominanti in grado di stimolare i linfociti T (Molberg et al., 2005; Spaenij-Dekking et al., 2005; Zanini et al., 2013). Recentemente, Gianfrani et al. (2012) hanno riportato i risultati di uno studio condotto su due genotipi di grano monococco, Monlis e ID331, a confronto con la varietà di grano tenero Sagittario. Orbene, mentre le prolamine di Sagittario e Monlis, una varietà di grano monococco priva di ω -gliadine, sono in grado di promuovere la proliferazione degli enterociti nelle cripte delle mucose di pazienti celiaci e di indurre la sintesi di interleuchina 15 (IL-15) negli enterociti dei villi intestinali, le prolamine di ID331, una linea di grano monococco contenente una sola ω -gliadina, non mostrano

alcun effetto. I risultati suggeriscono che Monlis è in grado di attivare l'immunità innata e promuovere la sintesi di interleuchina 15 (IL-15), molecola chiave nell'induzione dell'immunità adattativa, mentre ID331 non sembra capace di elicitare questo tipo di risposta immunitaria. Tutto ciò è in accordo con l'osservazione che le prolamine della varietà Monlis e di altri genotipi di grano monococco privi di ω -gliadine si comportano come le prolamine di frumento tenero nella loro capacità di agglutinare le cellule K562(S) e alterare l'epitelio intestinale. Questi rari genotipi tossici di grano monococco (< 2%) differiscono dagli altri per la particolarità di non produrre ω -gliadine, nelle quali sembrano essere presenti sequenze in grado di contrastare la tossicità delle altre prolamine. Nonostante le proteine di grano monococco mostrino ridotta citotossicità verso le cellule intestinali, la presenza di epitopi immunodominanti ne preclude l'uso nella dieta dei celiaci. D'altra parte, tenuto conto che l'incidenza e la gravità della celiachia dipende dalla quantità e dalla nocività delle prolamine e che alcuni genotipi di grano monococco hanno una elevata qualità panificatoria accoppiata con assenza di citotossicità e ridotta immunogenicità, è atteso che l'uso delle farine di monococco nella dieta della popolazione generale, all'interno della quale si trova una elevata percentuale di individui predisposti geneticamente alla celiachia ma non ancora celiaci, possa contribuire a contenere la diffusione di questa forma di intolleranza alimentare. Ciò lascia pensare che il grano monococco, riportato recentemente in coltivazione in Italia dai ricercatori del Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura (CRA) di Roma e San Angelo Lodigiano, potrà svolgere un ruolo importante nella prevenzione della celiachia, sia direttamente sotto forma di pane e pasta sia indirettamente come specie modello per lo studio del ruolo dell'immunità innata nell'insorgenza della celiachia.

LA GLUTEN SENSITIVITY O INTOLLERANZA NON-CELIACA AL GRANO

Nel 2011 la comunità medica internazionale ha preso atto dell'esistenza di una nuova sindrome associata al consumo di grano, la "*gluten sensitivity*" o intolleranza non-celiaca al grano. Come i pazienti celiaci, quelli affetti da *gluten sensitivity* (GS) mostrano sintomi sistemici di gonfiore addominale, nausea, dolori addominali, spasmi, vomito, diarrea, mancanza di lucidità, depressione quando mangiano prodotti a base di farina o semola di grano. Talora compaiono anche sintomi meno tipici come debolezza muscolare, dolori ossei, tendenza alle fratture, alterazioni cutanee. Diversamente dalla celiachia, i sintomi compaiono poche ore dopo l'ingestione di grano, mancano altera-

zioni significative della mucosa intestinale e non compaiono auto-anticorpi anti-tTG o anti-endomisio. I sintomi scompaiono rapidamente (dopo poche ore) se si toglie il grano dalla dieta, ma ricompaiono nuovamente se si reintroduce questo alimento. Inoltre, mentre i celiaci tendono ad acquisire peso sotto una dieta *gluten-free*, i pazienti affetti da GS tendono a perdere peso nelle prime settimane di questa dieta. La stima di prevalenza di questa forma di intolleranza alimentare nella popolazione italiana ammonta a circa 4%, vale a dire 2-2,5 milioni di persone. Non è noto se la frequenza della GS tenda a crescere con la stessa velocità della celiachia. Inoltre sono tuttora ignoti o poco definiti molti aspetti eziologici, diagnostici e terapeutici della GS. In particolare, non sono ben noti i componenti chimici del grano che causano la sindrome, la variabilità naturale per questi componenti né il grado di tossicità di cereali diversi dal grano tenero (grano duro, farro, grano monococco, orzo, segale, avena). Tuttavia è stato osservato che alcuni pazienti tollerano alimenti a base di grano Kamut® (*Triticum turgidum* ssp *polonicum*), farro (*T. turgidum* ssp *dicoccum*) e monococco (*T. monococcum*). A questo riguardo, può essere interessante rilevare che diversamente dal glutine di grano tenero, quello di grano monococco può essere quasi completamente digerito dai nostri enzimi gastrici e pancreatici (Mamone et al., 2013). Questa recentissima osservazione è particolarmente importante perché alla base della celiachia e della *gluten sensitivity* c'è l'incapacità di digerire completamente il glutine. In effetti, il nostro corredo di enzimi digestivi non risulta in grado di demolire completamente il glutine, macro-molecola particolarmente ricca di prolina e caratterizzata da un peso molecolare molto elevato. Le dimensioni molecolari del glutine tendono a crescere nelle varietà di frumento con alti valori di W e queste varietà, come abbiamo sottolineato precedentemente, sono cresciute di numero negli anni più recenti.

ALTRE STRATEGIE CONTRO L'INTOLLERANZA AL GLUTINE

A livello internazionale sono in corso diversi *trial* clinici per trovare alternative alla dieta *gluten-free* nella terapia della celiachia e della GS. Ad esempio alcuni enzimi fungini, resistenti al pH acido dello stomaco umano, sono in grado di digerire *in vivo* i peptidi tossici del glutine. Una volta somministrati al paziente celiaco, quest'ultimo è in grado di tollerare la presenza nella propria dieta di quantità di glutine pari a 2 grammi/die (Spelniak et al., 2006). Poiché il consumo medio giornaliero di glutine ammonta a 13-15 g, la somministrazione di questi enzimi sotto forma di pillole da ingerire con i pasti (la

commercializzazione delle pillole avverrà entro un paio di anni) consentirà al paziente celiaco di evitare gli effetti negativi dell'ingestione di alimenti inquinati da tracce di glutine, ma non potrà sostituire la dieta *gluten-free*.

Un altro *trial* clinico riguarda una prolil-endopeptidasi batterica somministrata sotto forma di pillole in grado di ridurre il glutine in piccoli frammenti non tossici, a titolo di protezione dalle contaminazioni accidentali in alimenti *gluten-free* (Lindorfs et al., 2012). In Italia Gobetti et al. (2007) propongono di aggiungere alle farine di riso o mais usate nella preparazione di pane, pasta e prodotti da forno per celiaci, le farine di grano trattate con ceppi di lattobacilli a elevata attività proteolitica (*Lactobacillus alimentarius* 15M, *Lb. brevis* 14G, *Lb. sanfranciscensis* 7A e *Lb. hilgardii* 51B) in grado di degradare i peptidi del glutine. Sempre in Italia, presso il CNR di Avellino sono in corso degli studi per detossificare il glutine pre-trattando le farine di grano con l'enzima transglutaminasi di *Streptoverticillium mobaraense* 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, passaggio chiave dell'immunità adattativa (Mazzeo et al., 2013).

In conclusione, nei prossimi anni vedremo crescere le nostre conoscenze sulle cause dell'intolleranza al grano e della sua crescente diffusione nei paesi occidentali, e verranno delineate le strategie più adeguate per arrestare o rallentare la crescita esponenziale della celiachia e della "gluten sensitivity". In particolare, si potrà verificare se l'uso alimentare di farro, grano monococco e altri cereali minori è un valido approccio nella prevenzione della celiachia e nell'alimentazione dei soggetti affetti da GS. Infine potranno essere messe a punto strategie di selezione da applicare nei programmi di miglioramento genetico per lo sviluppo di varietà di grano tenero e grano duro a elevata tolleranza alimentare.

RIASSUNTO

L'ampia diffusione sugli scaffali dei nostri supermercati di alcuni prodotti alternativi a quelli a base di grano testimonia il crescente disagio alimentare di una parte consistente della popolazione (in USA la dieta senza glutine riguarda circa il 19% della popolazione!) verso questo cereale. In questo contesto si spiega anche la nascita di nuove filiere agro-alimentari che partono dalla coltivazione di vecchie varietà di grano tenero o grano duro a basso *indice di glutine*. La *celiachia* è una forma di intolleranza al glutine relativamente rara (1% della popolazione) che colpisce individui geneticamente predisposti danneggiando anche gravemente la loro mucosa intestinale attraverso meccanismi immunitari e autoimmunitari. Un'altra forma di intolleranza molto più frequente

(6-10% della popolazione) è nota come *sensibilità al glutine* e si manifesta con gli stessi sintomi della celiachia (gonfiore intestinale, dolori addominali, sonnolenza, annebbiamento mentale, cefalea ecc.) ma non provoca danni intestinali né manifestazioni autoimmunitarie. Alla base della celiachia e della sensibilità al glutine c'è la nostra difficoltà a digerire completamente il glutine perché il nostro bagaglio di enzimi digestivi non comprende le prolil-endoropeptidasi, con il risultato che i frammenti indigeriti di glutine una volta arrivati nell'intestino possono scatenare il quadro sintomatologico succitato. Per contenere la diffusione di queste intolleranze sono state proposte diverse soluzioni quali la somministrazione di prolil-endoropeptidasi di origine batterica o fungina, il consumo di pane e pasta prodotti con farine/semole pre-digerite con lattobacilli oppure detossificate mediante trattamento con l'enzima transglutaminasi. Recentemente è stato dimostrato che il grano monococco (*Triticum monococcum*), una specie coltivata per oltre 6000 anni nell'area mediterranea e poi abbandonata nell'Età del bronzo, è incapace in alcuni casi di scatenare le reazioni immunitarie più precoci della celiachia. Inoltre, diversamente dal glutine di grano tenero, quello di grano monococco può essere completamente demolito dai nostri enzimi digestivi, come recentemente dimostrato in laboratori italiani. Sulla base di queste osservazioni, si ritiene che le farine di grano monococco possano essere particolarmente utili per la prevenzione delle intolleranze al glutine e nella formulazione di prodotti per il divezzamento. D'altra parte, l'osservazione che i frumenti teneri coltivati nella prima metà dello scorso secolo sono meno ricchi di proteine particolarmente aggressive per i pazienti celiaci e possiedono un *indice di glutine* molto più basso delle varietà attuali è stata associata alla crescita delle intolleranze e ha suggerito un diverso approccio nel processo di costituzione delle future varietà di grano.

BIBLIOGRAFIA

- AURICCHIO S., DE RITIS G., DE VINCENZI M., OCCORSIO P., SILANO V. (1982): *Effects of gliadin-derived peptides from bread and durum wheats on small intestine cultures from rat fetus and celiac children*, «Pediatric Research», 16, pp. 1004-1010.
- BORGHİ B., CASTAGNA R., CORBELLINI M., HEUN M., SALAMINI F. (1996): *Breadmaking quality of einkorn wheat (Triticum monococcum ssp monococcum)*, «Cereal Chemistry», 73, pp. 208-214.
- BRANDOLINI A., HIDALGO A., MOSCARITOLO S. (2008): *Chemical composition and pasting properties of einkorn (Triticum monococcum L. subsp monococcum) whole meal flour*, «Journal of Cereal Science», 47, pp. 599-609.
- DE BLOCK C.E.M., DE LEEUW I.H., VERTOMMEN J.J.F., ROOMAN R.P.A., DU CAJU M.V.L., VAN CAMPENHOUT C.M., WEYLER J.J., WINNOCK F., VAN AUTREVE J., GORUS F.K. (2001): *Beta-cell, thyroid, gastric, adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in type I diabetes*, «Clin Exp Immunol», 126, pp. 236-241.
- DE VINCENZI M., DESSÌ M.R., GIOVANNINI C., MAIALETTI F. AND MANCINI E. (1995): *Agglutinating activity of gliadin peptide fractions in coeliac disease*, «Toxicology», 96, pp. 29-35.
- DE VINCENZI M., LUCHETTI R., PERUFFO A.D.B., CURIONI A., POGNA N.E., GASBARRINI G. (1996): *In vitro assessment of acetic-acid-soluble proteins (glutenin) toxicity in celiac disease*, «Journal of Biochemical Toxicology», 11, pp. 205-210.

- HIDALGO A., BRANDOLINI A. (2008): *Protein, ash, lutein and tocopherols distribution in einkorn (Triticum monococcum L. subsp. monococcum) seed fractions*, «Food Chemistry», 107, pp. 444-448.
- GAZZA L., VINCENTINI O., DE VINCENZI M., PICCININI M., PETRANGELI V., NG P.K.W. AND POGNA N.E. (2010): *Variation in toxicity of monococcum and dicoccum wheat plants for celiac patients*, Atti del 10° International Gluten Workshop, 7-9 settembre 2009, pp. 298-303.
- GIANFRANI C., MAGLIO M., ROTONDI AUFIERO V., CAMARCA A., VOCCA I., IAQUINTO G., GIARDULLO N., POGNA N., TRONCONE R., AURICCHIO S., MAZZARELLA G. (2012): *Immunogenicity of monococcum wheat in celiac patients*, «American Journal of Clinical Nutrition», 96, pp. 1339-1345.
- GOBBETTI M., RIZZELLO C.G., DI CAGNO R., DE ANGELIS M. (2007): *Sourdough lactobacilli and celiac disease*, «Food Microbiology», 24, pp. 187-196.
- KRISTIANSEN O.P., LARSEN Z.M., POCIOT F. (2000): *CTLA-4 in autoimmune diseases: a general susceptibility gene to autoimmunity?*, «Genes Immun.», 1, pp. 170-184.
- LINDFORS K., LÄHDEAHO M.L., KALLIOKOSKI S., KURPPA K., COLLIN P., MÄKI M., KAUKINEN K. (2012): *Future treatment strategies for celiac disease*, «Expert Opinion on Therapeutics Targets», 16, pp. 665-675.
- LOGAN R.F.A. (1992): *Problems and pitfalls in epidemiological studies of celiac disease*, «Din Nutr. Res.», 2, pp. 14-24.
- MAMONE G., CAMARCA A., DI STASIO L., FERRANTI P., POGNA N., TRONCONE R., AURICCHIO S., GIANFRANI C. (2013): *Comparative analysis of digestibility of wheat bread protein (T. vulgare) and einkorn protein (T. monococcum) by immunological and proteomic approaches*, International Celiac Disease Symposium, Chicago 22-25 September 2013.
- MAZZEO M.F., BONAVITA R., MAURANO F., BERGAMO P., SICILIANO R. A., ROSSI M. (2013): *Biochemical modifications of gliadins induced by microbial transglutaminase on wheat flour*, «AutorizyBBA -General subjects», 11, pp. 5166-5174.
- MENTION J.J., BEN AHMED M., BÈGUE B., BARBE U., VERKARRE V., ASNAFI V., COLOMBEL J.F., CUGNENC P.H., RUEMMELE F.M., MCINTYRE E., BROUSSE N., CELLIER C., CERF-BENSUSSAN N. (2003): *Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease*, «Gastroenterology», 125, pp. 730-745.
- MOLBERG Ø., UHLEN A.K., JENSEN T., FLÆTE N.S., FLECKENSTEIN B., ARENTZ-HANSEN H., RAKI M., LUNDIN K.E.A., SOLLID L.M. (2005): *Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread wheat ancestors: implications for celiac disease*, «Gastroenterology», 128, pp. 393.
- NOT T., TOMMASINI A., TONINI G., BURATTI E., POCECCO M., TORTUL C., VALUSSI M., CRICHIUTTI G., TREVISIOL C., AZZONI E., NERI E., TORRE G., MARTELOSSI S., SOBAN M., LENHARDT A., CATTIN L., VENTURA A. (2001): *Undiagnosed coeliac disease and risk of autoimmune disorders in subjects with type I diabetes mellitus*. «Diabetologia», 44, pp. 151-155.
- POGNA N.E., GAZZA L., VINCENTINI O., DE VINCENZI M. (2008): *Variation in noxiousness of different wheat species for celiac patients*, «Journal of Plant Interactions», 3, pp. 57-67.
- POLLINI C.M., MIZZAU R., PERESSINI D., D'EGIDIO M.G., POGNA N. (2013): *Cereali da colazione e snack salutistici prodotti con granella di Triticum monococcum*, in Atti 9° convegno AISTEC, pp. 220-223.
- SAPONARO C., POGNA N.E., CASTAGNA R., PASQUINI M., CACCIATORI P. AND REDAELLI R. (1995): *Allelic variation at the Gli-A^m1, Gli-A^m2 and Glu-A^m1 loci and bread-making*

- quality in diploid wheat* Triticum monococcum, «Genetics Research Camb», 66, pp. 127-137.
- SPAENIJ-DEKKING E.H.A., KOOY-WINKELAAR E.M.C., NIEUWENHUIZEN W.F., DRIJFHOUT J.W., KONING F. (2004): *A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of α/β - and γ -gliadin*, «Gut», 53, pp. 1267-1273.
- STEPNIAK D., SPAENIJ-DEKKING L., MITEA C., MOESTER M., DE RU A., BAAK-PABLO R., VAN VEELEN P., EDENS L., KONING F. (2006): *Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease*, «American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology», 291, pp. G621-G629.
- VADER W., STEPNIAK D., KOOY Y., MEARIN L., THOMPSON A., VAN ROOD J.J., SPAENIJ L., KONING F. (2003): *The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses*, «Proceedings of the National Academy of Sciences», 100, pp. 12390-12395.
- ZANINI B., PETROBONI B., NOT T., DI TORO N., VILLANACCI V., LANZAROTTO F., POGNA N., RICCI C AND LANZINI A. (2013): *Search for atoxic cereals: a single blind, cross-over study on the safety of a single dose of Triticum monococcum, in patient with celiac disease*, «BMC Gastroenterology», 13, pp. 92.
- VALENTINO R., SAVASTANO S., TOMMASELLI A.P., DORATO M., SCARPITTA M.T., GIGANTE M., MICILLO M., PAPARO F., PETRONE E., LOMBARDI G., TRONCONE R. (1999): *Prevalence of coeliac disease in patients with thyroid autoimmunity*, «Horm Res», 51, pp. 124-127.
- VAN DEN BROECK H.C., DE JONG H. C., SALENTIJN E. M. J., DEKKING L., BOSCH D., HAMER R. J., GILISSEN L. J. W. J., VAN DER MEER I. M., AND SMULDERS M. J. M. (2010): *Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease*, «Theoretical and Applied Genetics», 121, pp. 1527-1539.
- VENTURA A., MAGAZZÙ G., GRECO L. (1999): *Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease*, «Gastroenterology», 117, pp. 297-303.
- VINCENTINI O., MAIALETTI F., GAZZA L., SILANO M., DE VINCENZI M. AND POGNA N.E. (2007): *The environmental factors of celiac disease: cytotoxicity of hulled wheat species Triticum monococcum, T. turgidum ssp dicoccum and T. aestivum ssp spelta*, «Journal of Gastroenterology and Hepatology», 22, pp. 1816-1822.