

MeB – Pagine Elettroniche

Volume VIII

Settembre 2005

numero 7

CONTRIBUTI ORIGINALI - RICERCA

E' possibile ridurre la tossicità del glutine pre-digerendolo con proteasi?

Luigi Greco¹, Francesca Landolfo², Sara Scognamiglio¹, Oscar Esposito¹

¹Dipartimento di Pediatria, Università Federico II, Napoli ²Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università Federico II, Napoli

Indirizzo per corrispondenza: ydongre@unina.it

Is it possible to reduce gluten toxicity by digesting it with some proteases?

Keywords: 33-mer peptide, intestinal permeability, celiac disease

Summary: Recently a superpeptide (33-mer peptide), which is resistant to all gastrointestinal enzymes and which is able to initiate the immune response in celiac patients, has been identified. The pre-digestion of this peptide with bacterial endopeptidase suppresses completely its toxicity. By studying the intestinal permeability (L/R ratio) in a small number of celiac patients, we were able to show that after the pre-digestion of the superpeptide the intestinal permeability was not altered, while it was doubled after gluten introduction.

PREMESSA

E' stato recentemente identificato, nella sequenza tossica della gliadina, un "superpeptide", il peptide 33-mer, indigeribile dagli enzimi del tubo digerente umano, capace di attivare una complessa e patogenetica risposta immunitaria. La digestione di questo peptide prima della sua somministrazione, ne sopprime completamente la tossicità.

Studi preliminari di Gobetti et al. hanno dimostrato che alcuni Lattobacilli, normalmente presenti nei lieviti naturali del pane, sono capaci di idrolizzare le sequenze tossiche della gliadina.

Abbiamo recentemente preparato pani e biscotti fatti con farina sottoposta a questo tipo di digestione, ed intendiamo valutarne la reale innocuità in soggetti celiaci volontari, utilizzando il modello di studio della permeabilità intestinale prima e dopo la somministrazione di un biscotto con glutine naturale o con glutine predigerito con specifiche proteasi.

Esiste la concreta speranza di produrre pane e prodotti da forno che non siano tossici per i celiaci, pur conservando tutte le qualità organolettiche.

DATI PRELIMINARI

Nel 1995 abbiamo messo a punto una tecnica di valutazione funzionale dell'effetto tossico di una singola dose di glutine, valutando le capacità assorbitive dei pazienti dopo solo 6 ore da un modesto carico di glutine (ingestione di un biscotto).

	Lattulosio	L-ramnosio	Ratio Lattulosio:L-ramnosio
Controlli:			
Prima del glutine	0.29 (0.32 a 0.25)	5.63 (6.14 a 5.11)	0.052 (0.06 a 0.04)
Dopo il glutine	0.27 (0.30 a 0.24)*	5.93 (6.44 a 5.42)	0.045 (0.05 a 0.04)*
Media			-9.3 (-11.8 a -6.8)
Pazienti con malattia celiaca:			
Prima del glutine	0.43 (0.48 a 4.26)	4.94 (5.62 a 4.26)	0.106 (0.15 a 0.07)
Dopo il glutine	0.65 (0.79 a 0.52)	2.87 (3.43 a 2.03)***	0.316 (0.42 a 0.21)***
Media			+240 (260 a 220)

Test T di Student per campioni appaiati prima e dopo l'ingestione di glutine (valori in scala logaritmica)

*p>0.2, **p>0.005, ***p>0.00001.

La variazione media è stata calcolata come antilogaritmo della variazione in scala logaritmica del rapporto percentuale L/R prima e dopo carico di glutine.

Tutti i pazienti allora reclutati hanno mostrato in media un valore raddoppiato della permeabilità intestinale 6 ore dopo l'ingestione di un biscotto con 5 grammi di glutine.

PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Ai pazienti ed ai controlli è stato eseguito un test di permeabilità intestinale basato sull'assorbimento di zuccheri poco digeribili (40 gr di Saccarosio, 1 gr di Ramnosio, 7,5 ml di Lattulosio, sciolti in 200 ml di acqua).

Per valutare la permeabilità intestinale è stata utilizzata la metodica gascromatografica di Dutton, che valuta l'escrezione urinaria degli zuccheri come rapporto L/R (Lattulosio/Ramnosio).

La valutazione del test di permeabilità intestinale è stata attuata una prima volta dosando solo gli zuccheri senza ingestione

di glutine o altro, una seconda volta dopo la ingestione di una dose test di glutine e una terza volta dopo l'ingestione di una dose test di glutine predigerita con le proteasi specifiche.

RISULTATI PRELIMINARI

Di 20 pazienti studiati 13 hanno mostrato una specifica alterazione della permeabilità intestinale dopo il biscotto contenente il glutine e, il giorno seguente, nessuna alterazione della permeabilità intestinale dopo aver mangiato il biscotto contenente glutine predigerito con proteasi.

7 pazienti non hanno mostrato una chiara alterazione della permeabilità dopo glutine e nessuna differenza dopo il glutine predigerito.

La figura mostra i valori medi della escrezione del Ramnosio in questi 13 pazienti: normale a tempo 0, alterata dopo il glutine naturale, di nuovo normale dopo il glutine trattato con proteasi.

La figura successiva mostra lo stesso risultato per il rapporto Lattulosio/Ramnosio, che è un fedele indice della funzione assorbitiva intestinale. Questo rapporto è normale a tempo 0, aumenta molto dopo il glutine e rimane normale dopo il glutine predigerito con le proteasi.

CONCLUSIONI

I risultati preliminari sono promettenti ma non ancora conclusivi.

E' possibile, in laboratorio, idrolizzare i principali peptidi tossici del glutine, coinvolti nella patogenesi della celiachia, e si può ottenere così una farina (che tra l'altro è difficile da usare nella panificazione) che è potenzialmente meno tossica di quella originaria.

Il test "in vivo" su volontari celiaci fornisce risultati incoraggianti, ma non ancora estensibili ad applicazioni pratiche.

7/20 pazienti non hanno mostrato risposte specifiche al glutine ed al glutine trattato.

E' infatti possibile che diversi individui riconoscano diversi tipi di peptidi. Per questo sono necessari ulteriori studi prima di accettare questa proposta come una concreta speranza.

Bibliografia

- L. Greco, D'Adamo, A. Truscelli, G. Parrilli, M. Mayer, G. Budillon. Intestinal permeability after single dose gluten challenge in coeliac disease. *Archives of Disease in Childhood* 1991; 66: 870-872.
- S. Auricchio, G. Deritis, M. De Vincenzis, G. Magazzu', L. Maturi, E. Mancini, M. Minetti, O. Sapor, V. Silano. Mannan and oligomers of N-Acetylglucosamine protect intestinal mucosa of celiac patients with active disease from in vitro toxicity of gliadin peptides. *Gastroenterology* 1990; 99: 973-978.
- R. Di Cagno et al. Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: effects on wheat flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68, 623-633.
- D.F. Cunningham et B. O'Connor. Proline specific peptidases. *Biochim. Biophys. Acta* 1997; 1343, 160-186.
- M. Gobetti. The sourdough microflora: interactions between lactic acid bacteria and yeast. *Trends Food Sci. Technol* 1998; 9, 267-274.
- E.R.S. Kunji, I. Mierau, A. Hagting, B. Poolman, W.N. Konings. The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonia Van Leeuwenhoek* 1996; 70, 187-221.
- S. Auricchio et al. Agglutination activity of gliadin derived peptides from bread wheat: implications for coeliac disease pathogenesis. *Biochem. Biophys. Res Commun.* 1984; 21, 428-433.
- G.G.S. Dutton. Application of gas-liquid chromatography to carbohydrates: part. I. *Adv. Carbohyd. Chem.* 1973; 28, 11-160.