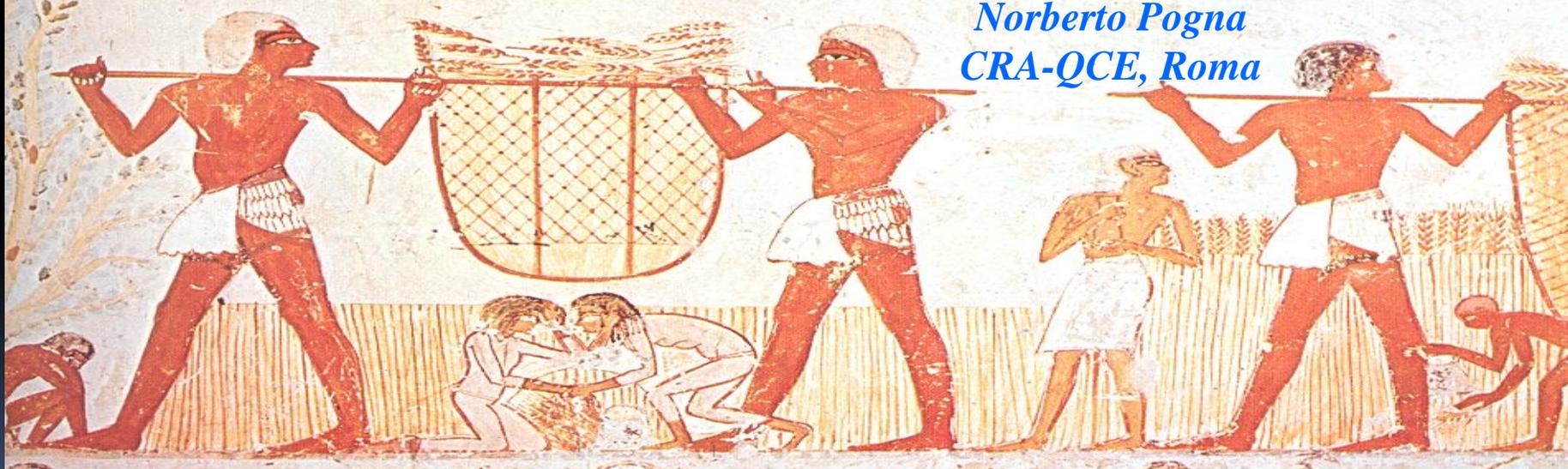




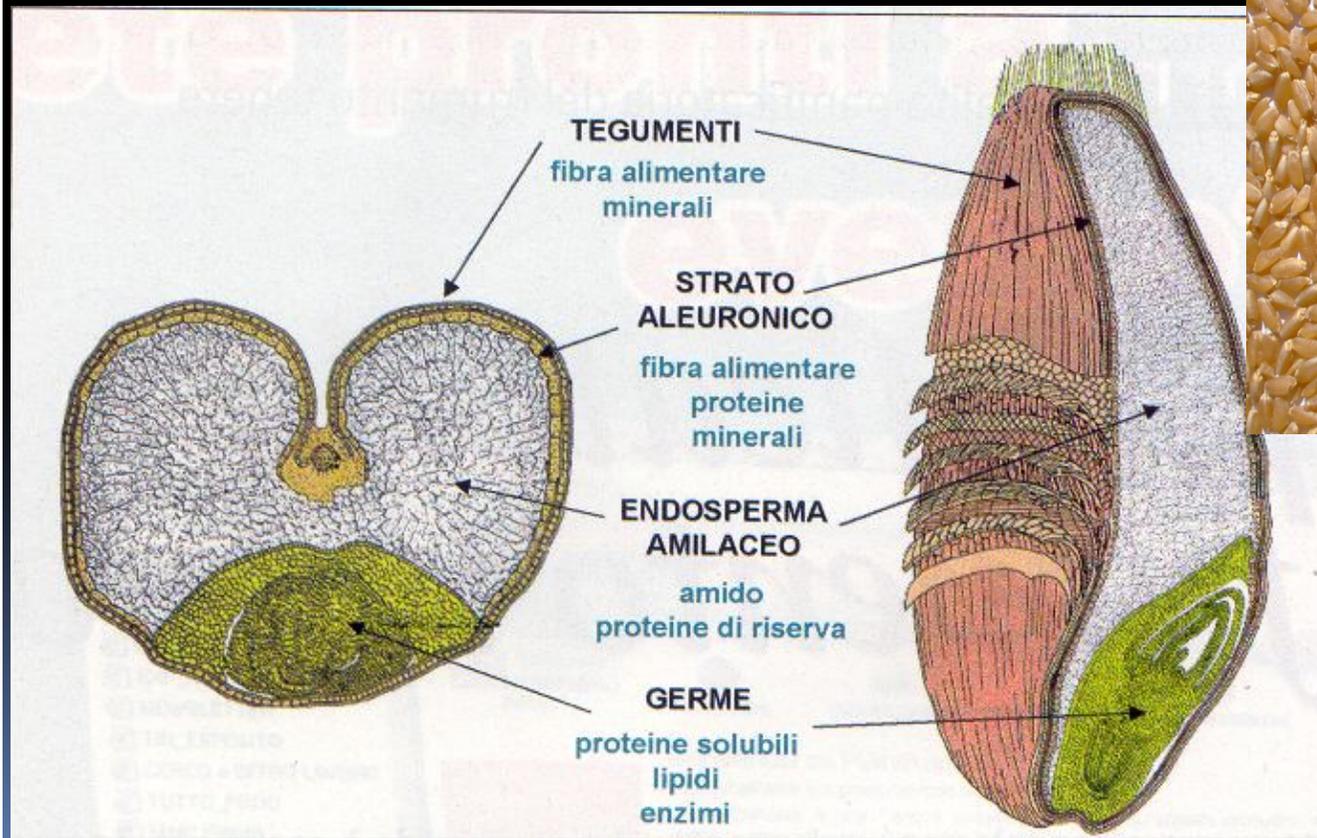
Le nuove frontiere delle tecnologie alimentari e la celiachia

*Norberto Pogna
CRA-QCE, Roma*



*Innovazioni nelle produzioni agricole destinate all'industria alimentare e farmaceutica
Accademia dei Georgofili
31 ottobre 2013*

I cereali forniscono amido e proteine in un rapporto quasi ottimale per la nostra alimentazione. 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	%
Cereali	55	Piante da olio e ortaggi	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
Legumi	13	Cipolla, cavolo	0,5
Soia	10	Piante da frutto	0,5
Fagiolo	1	Prodotti animali	17
Pisello	1	Latte, formaggio, uova	6
Arachide	1	Carni	7
Tuberi	4,5	Pesce	4
Patata	2	Altro	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

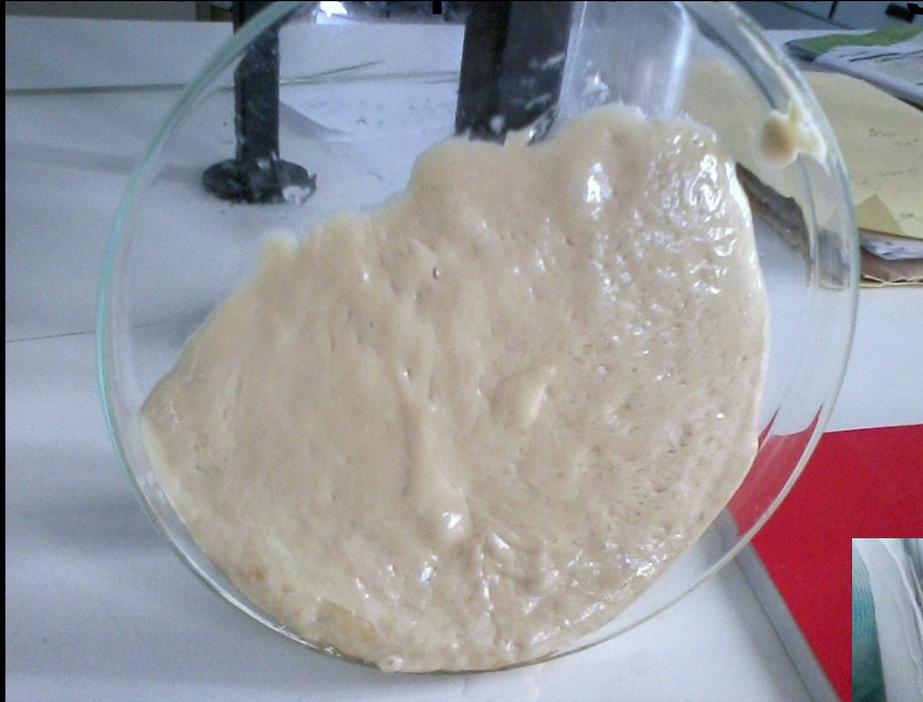
Gela, 1932



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 tenendo l'impasto sotto un rivolo d'acqua, si ottiene una massa elastica e lucida il cui peso secco è circa 1/10 di quello della farina.

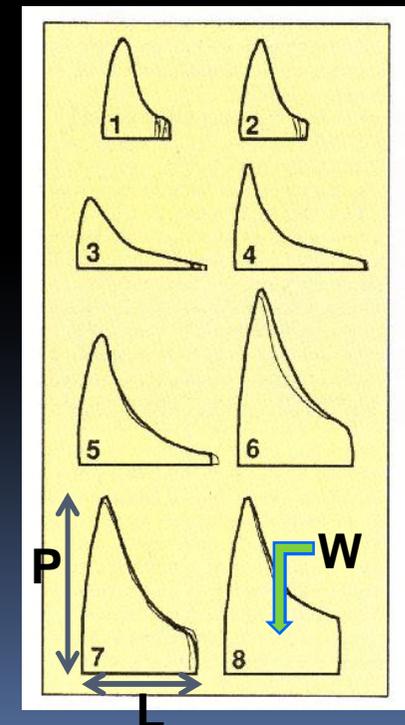
Il glutine è elastico ed estensibile. La panificabilità del grano è dovuta alla elasticità ed estensibilità del glutine.



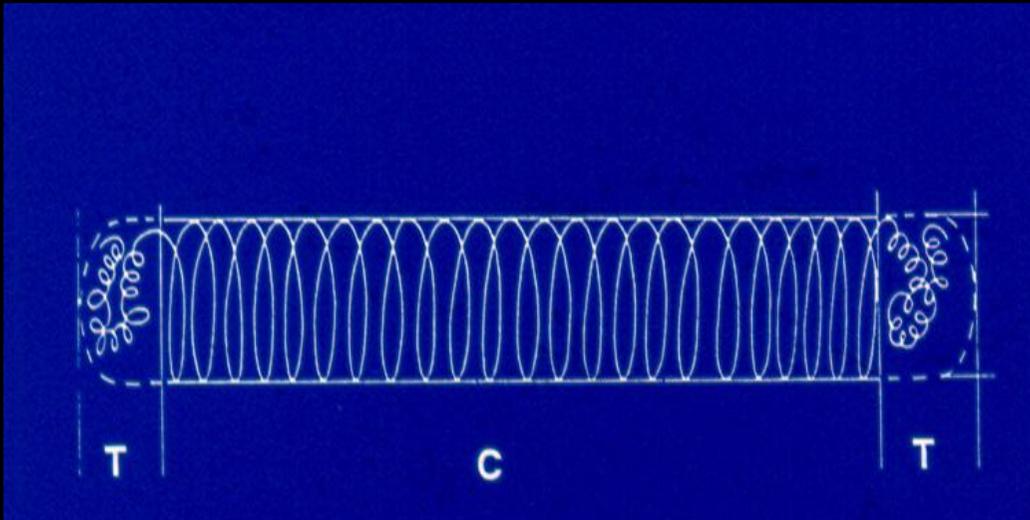
Il glutine consente all'impasto di trattenere il gas che si forma durante la fermentazione. Con l'Alveografo si misura questa particolare proprietà del grano (orzo, segale, mais, riso o altri cereali non hanno questa proprietà) soffiando aria dentro l'impasto. Si ottiene una bolla di dimensioni variabili in funzione delle proprietà viscoelastiche del glutine. 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". L'area dell'alveogramma misura l'energia (W) spesa per gonfiare la bolla e viene definita "forza" del glutine.



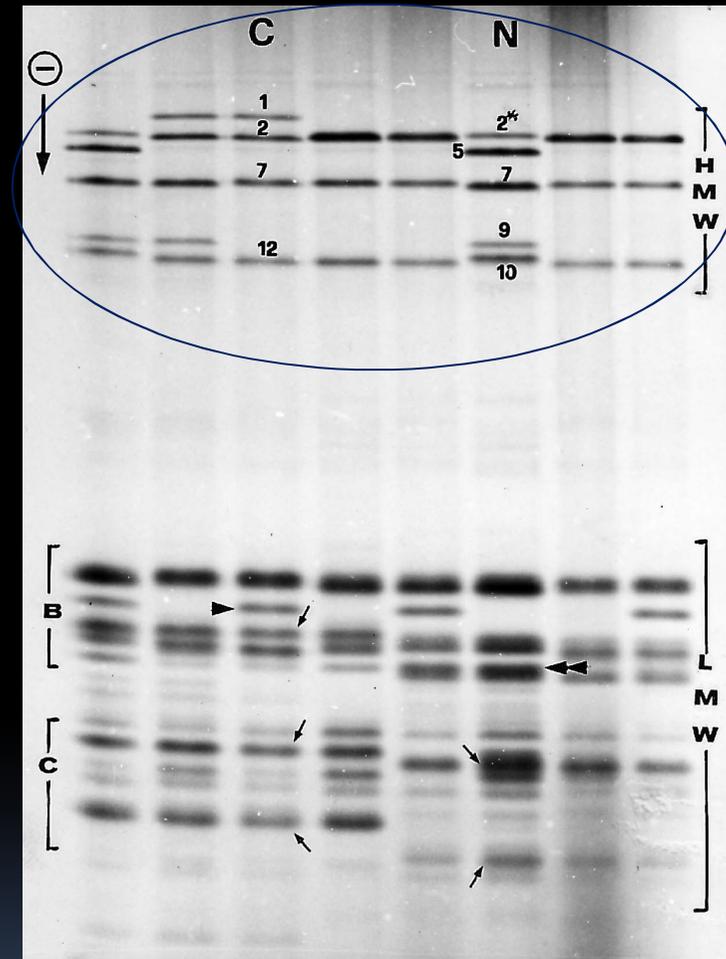
Glutine
e Pane



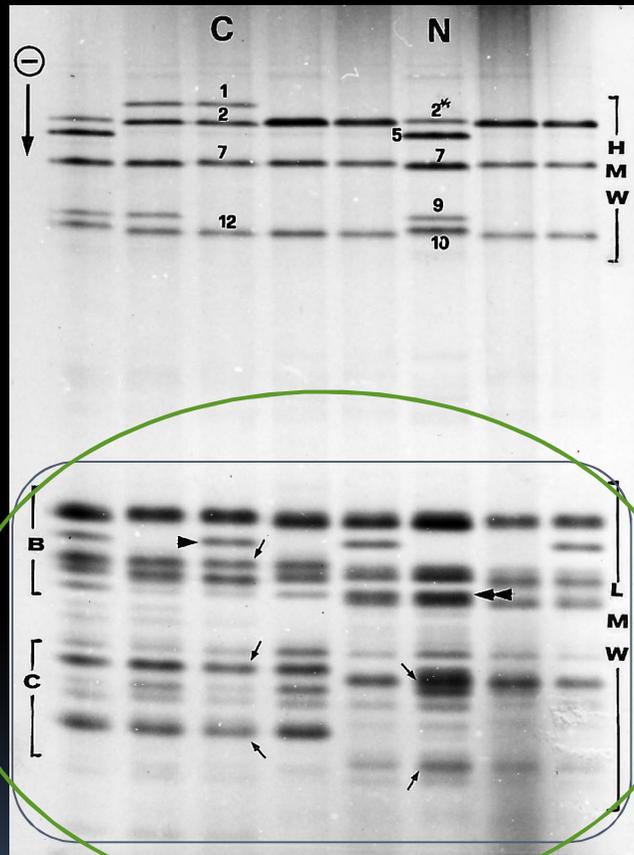
Struttura delle proteine del glutine: le HMW-GS



In una singola varietà di grano tenero ci sono proteine ad alto peso molecolare (70-90 KDa) note come HMW-GS. Queste proteine (10% delle proteine totali) hanno 4-7 residui di cisteina di cui 2-3 localizzati alle estremità della molecola non sono impegnati in ponti disolfuro intramolecolari ma formano durante le operazioni di impasto dei legami covalenti inter-molecolari (polimerizzazione)

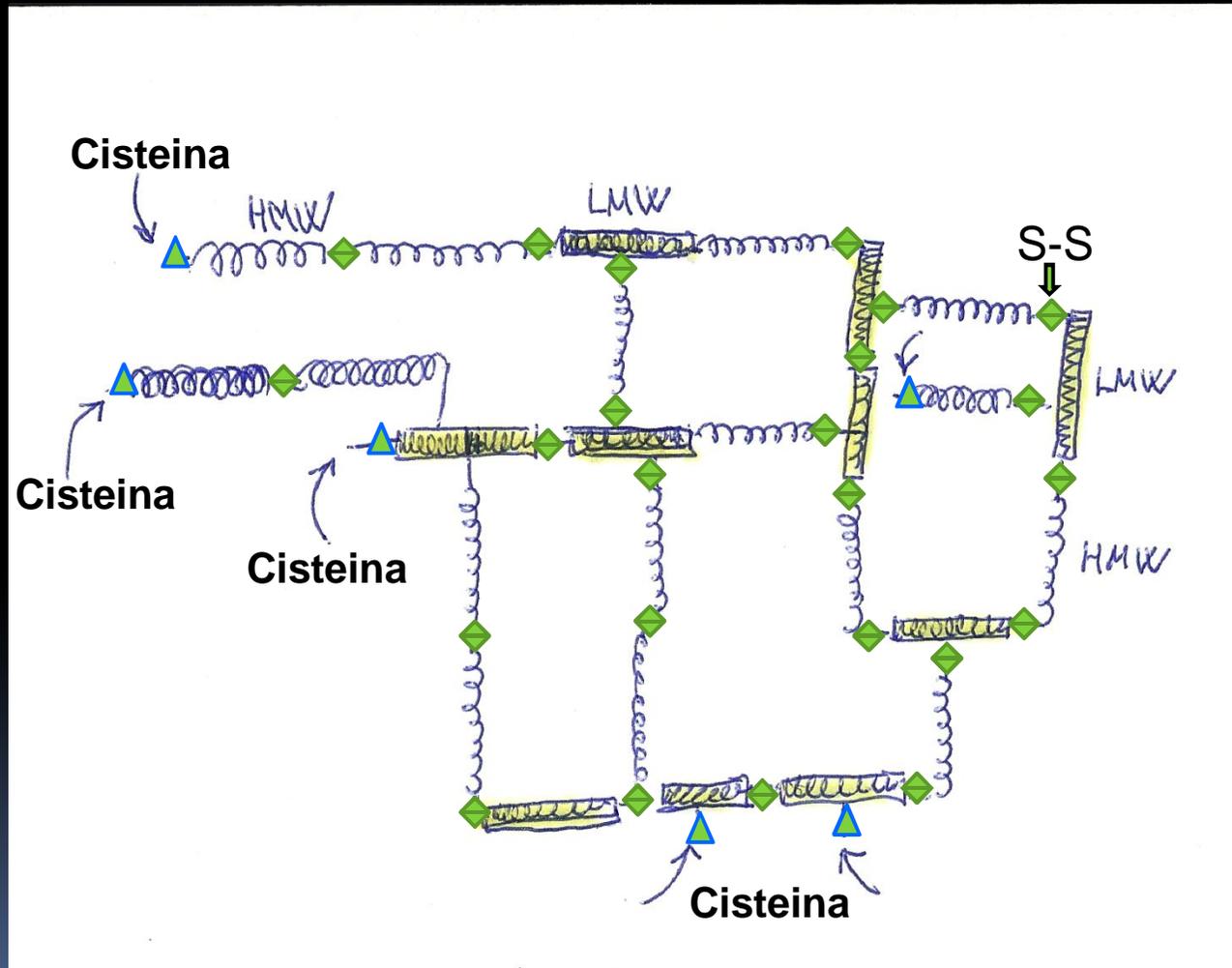


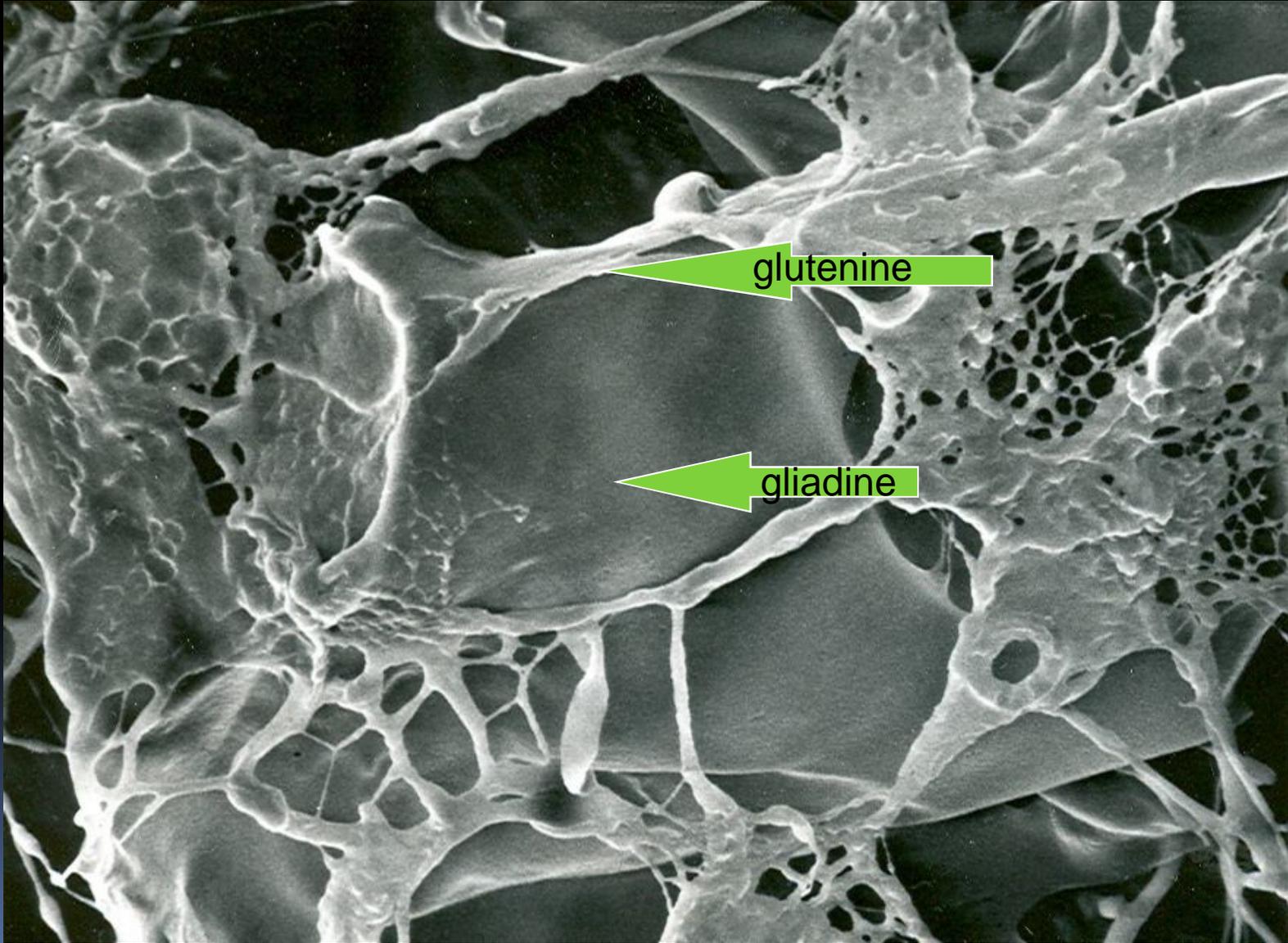
Struttura delle proteine del glutine: le LMW-GS



In una singola varietà di grano tenero ci sono proteine a basso peso molecolare (35-45 KDa) note come LMW-GS. Hanno 8 residui di cisteina di cui almeno 2 impegnati in legami inter-molecolari (polimerizzazione)

Formazione del glutine per polimerizzazione di HMW-GS e LMW-GS





glutenine

gliadine





La tenacità (elasticità) del glutine è aumentata significativamente negli ultimi decenni

Il glutine



Varietà	Proteine %	W alveografico	Indice di glutine %
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
Sen. Cappelli*	14,4	95	11
Simeto	13,2	310	79

*Varietà di N. Strampelli 1915-1930

Periodo	W < 150	W 150-199	W 200-299	W > 300
1974-1979	41	50	8	1
2010-2012	20	37	30	13



Gli USA hanno circa 315 milioni di abitanti, di cui circa 3 milioni ($\cong 1\%$) sono celiaci. Tuttavia, circa 60 milioni di statunitensi ($\cong 19\%$) seguono una dieta senza glutine.



Russel Crowe



Gwyneth Paltrow



Miley Cyrus

€11,50/Kg



€10,97/Kg



€17,10/Kg



- ✓ 100% VEGETALE
- ✓ senza GLUTINE
- ✓ senza LIEVITO
- ✓ senza ZUCCHERI aggiunti
- ✓ a basso contenuto di GRASSI



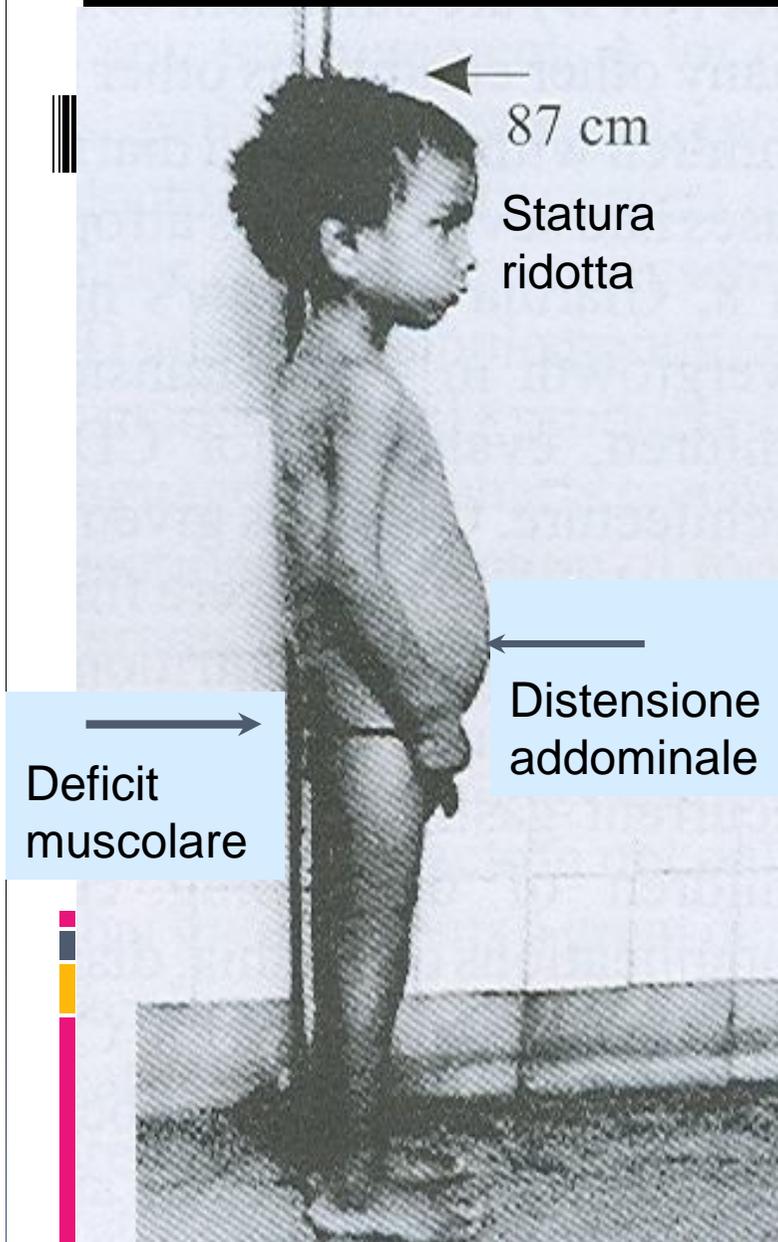
€6,24/Kg



€8,47/Kg

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.**



Bambino celiaco di 8 anni

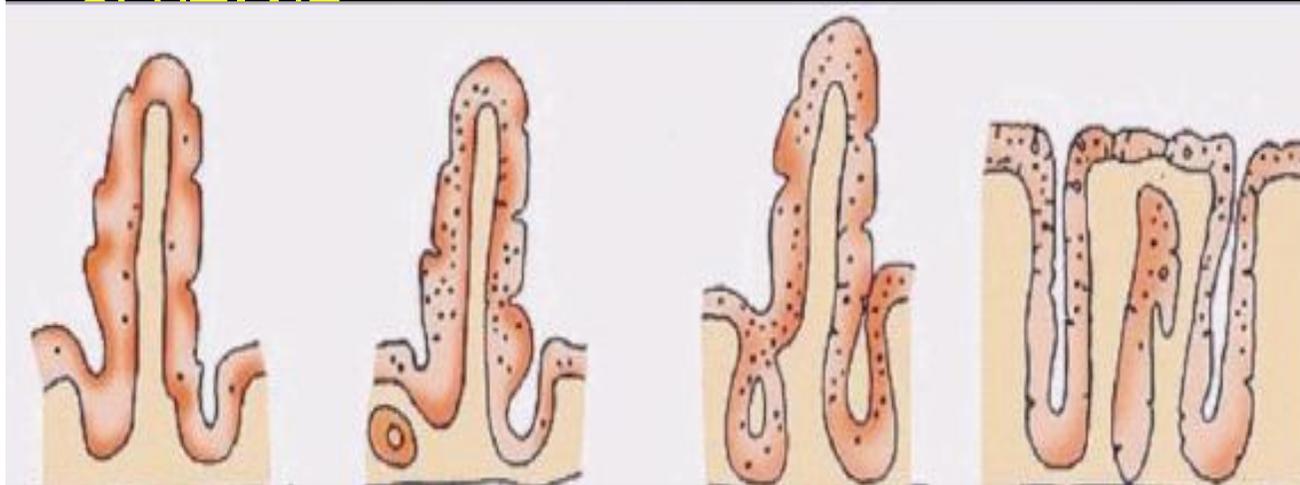
GLUTEN SENSITIVITY

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. Dal 2011 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.

ATROFIA DEI VILLI INTESTINALI CAUSATA DAL



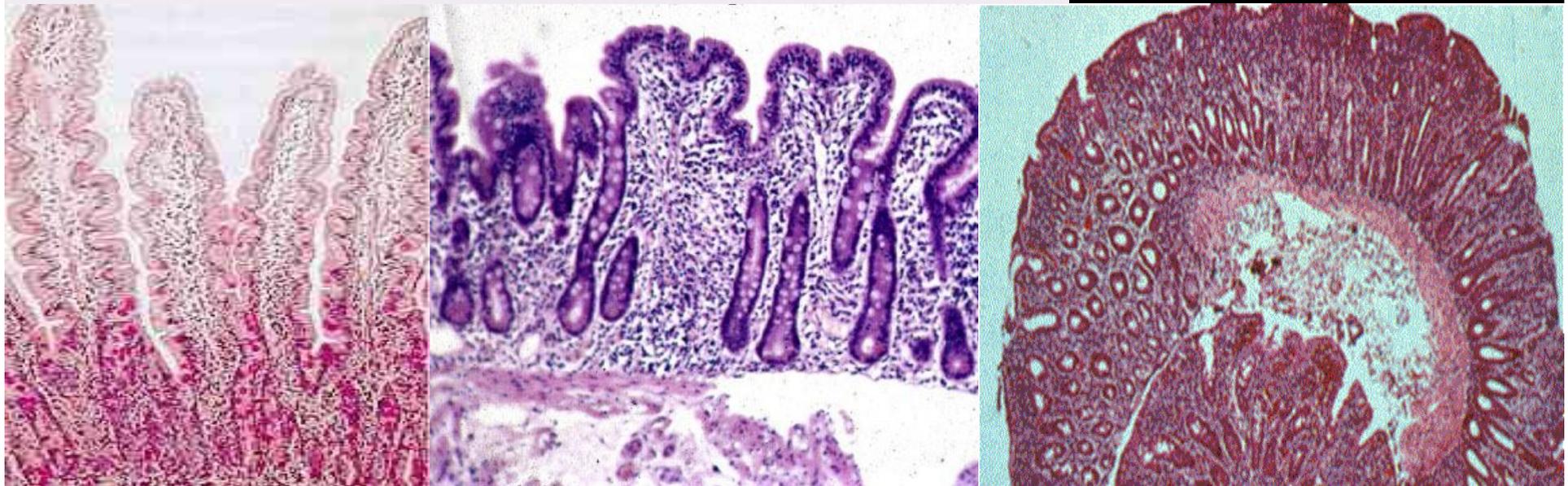
Inizio

Infiltrazione
dei linfociti

Crescita
delle cripte

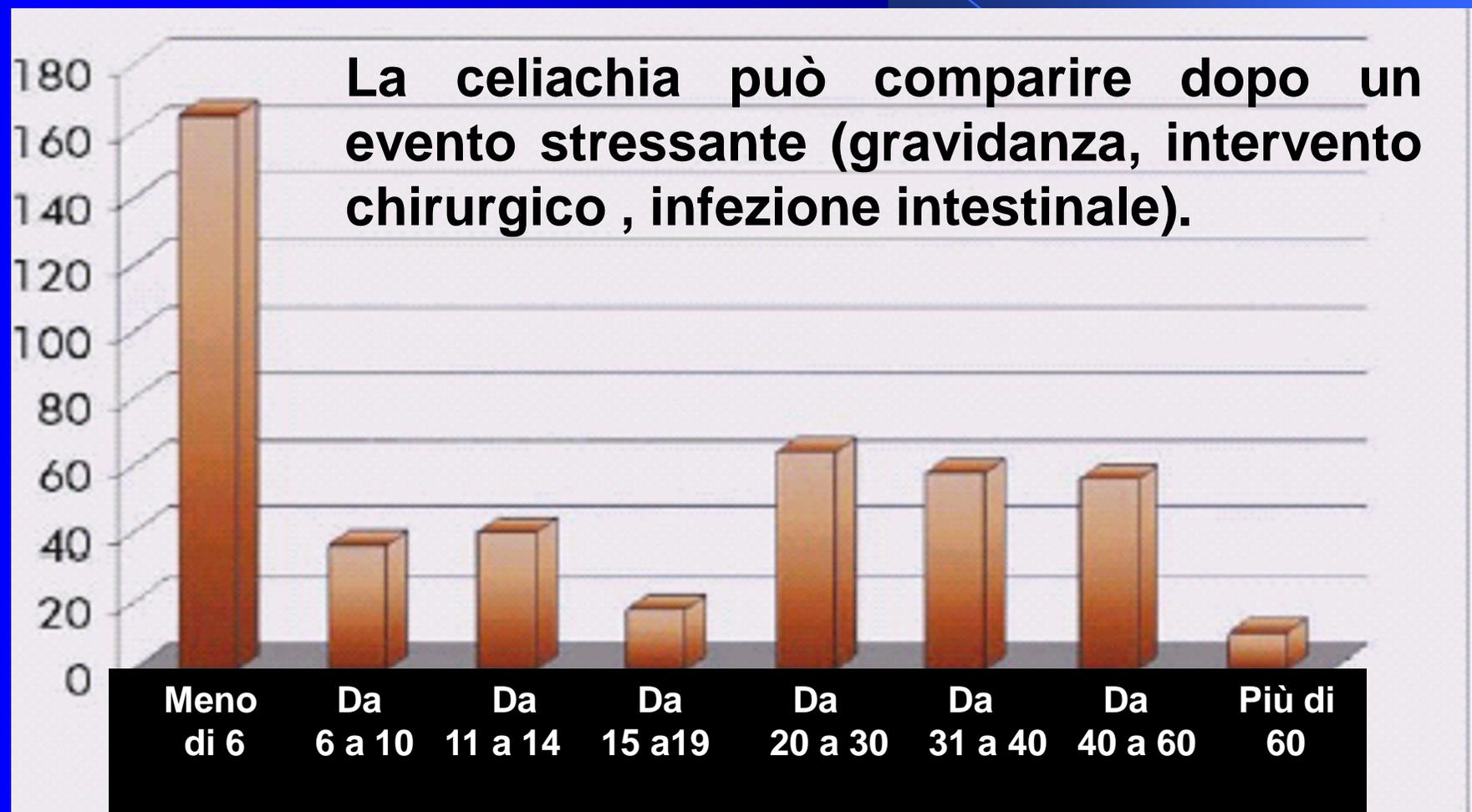
Distruzione dei
villi

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



ETA' DI 450 CELIACI AL MOMENTO DELLA DIAGNOSI DI CELIACHIA

Fonte A.I.C. Emilia Romagna

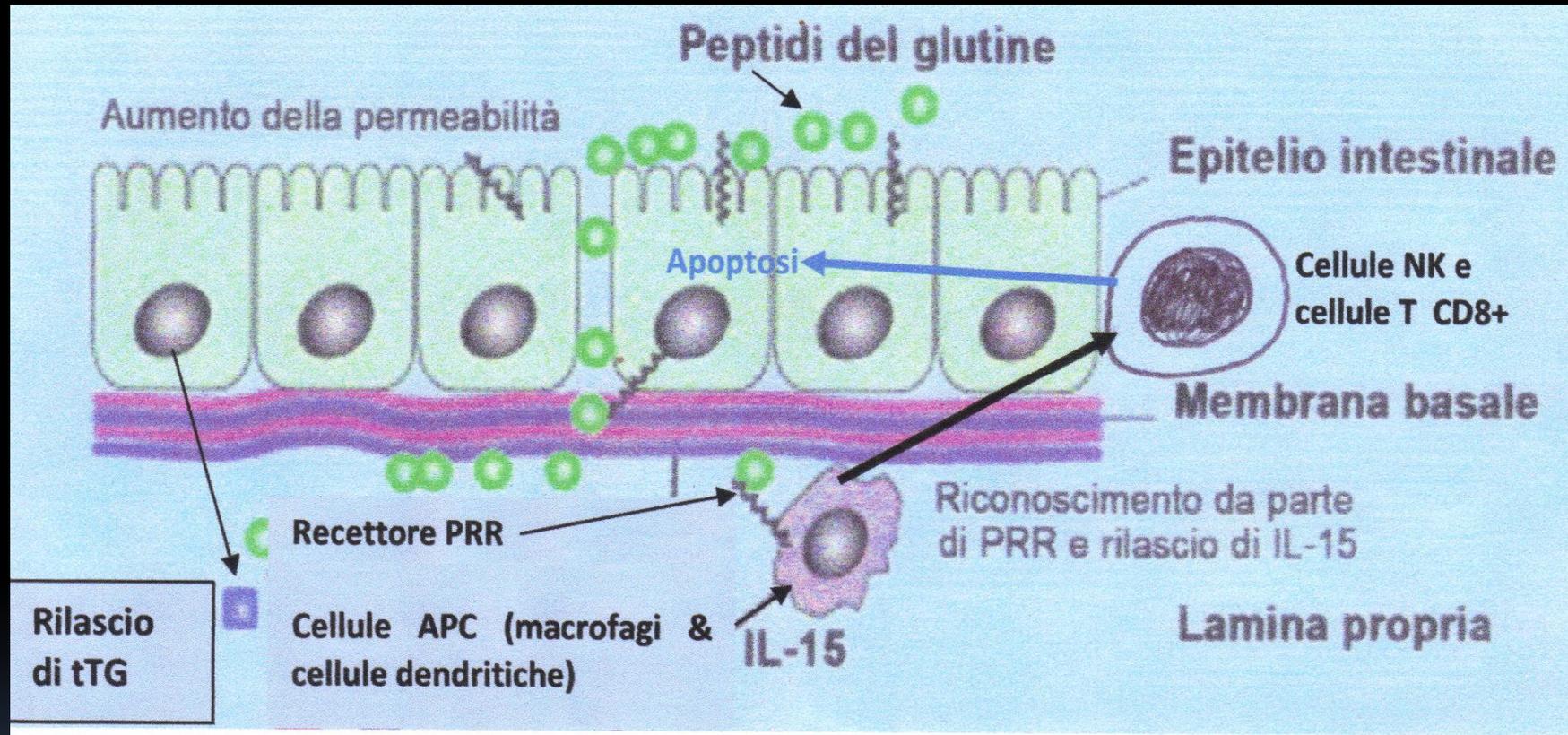


Celiaci in Italia

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	

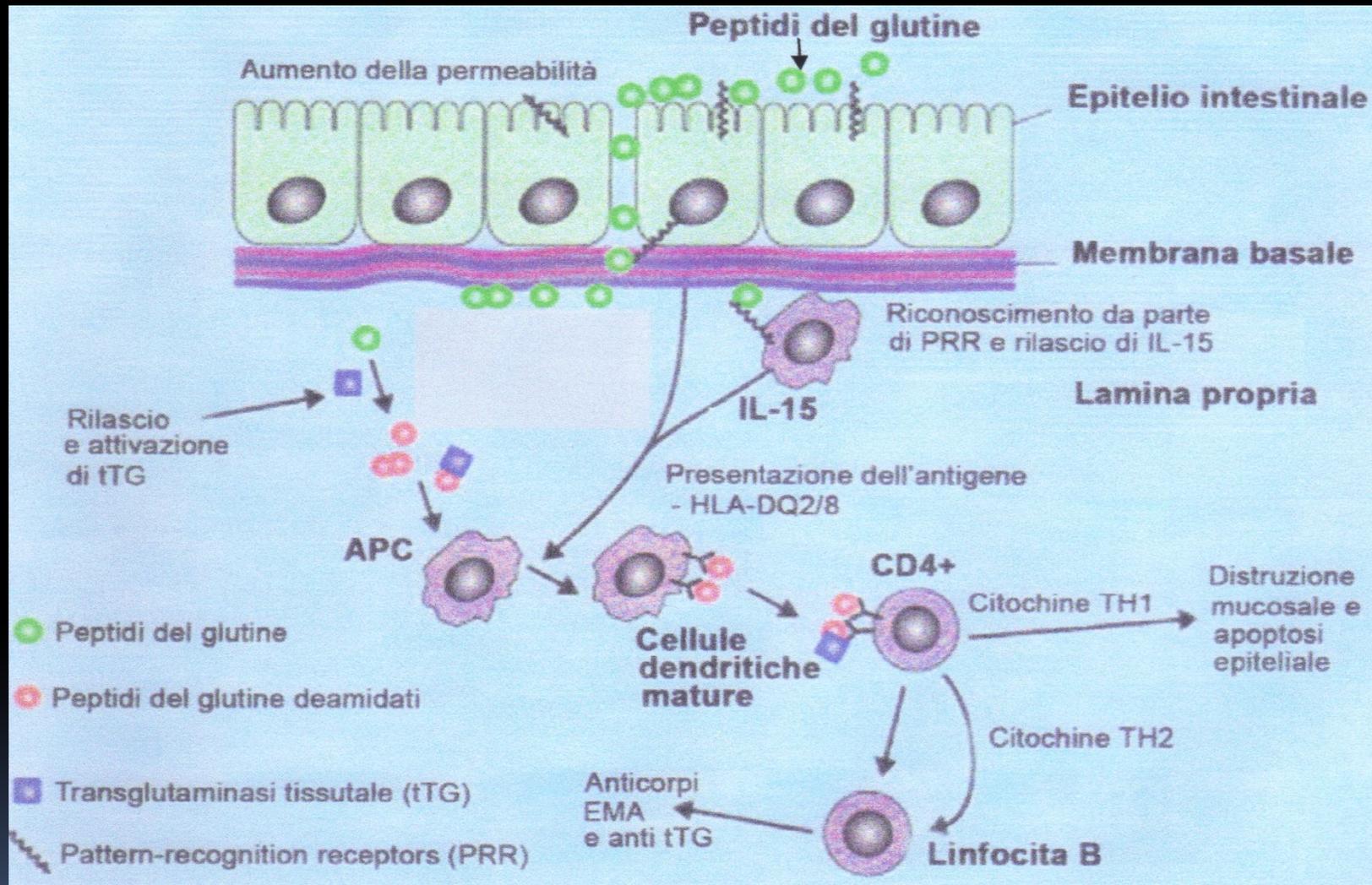
*Fonte: Direzione Generale Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione, Ufficio IV,
Ministero della Salute, anno 2011*

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’epiteo intestinale. La morte degli enterociti si accompagna alla liberazione di tTG (transglutaminasi 2) nella mucosa intestinale.

MOLECULAR ASPECTS OF CELIAC DISEASE : ADAPTIVE RESPONSE

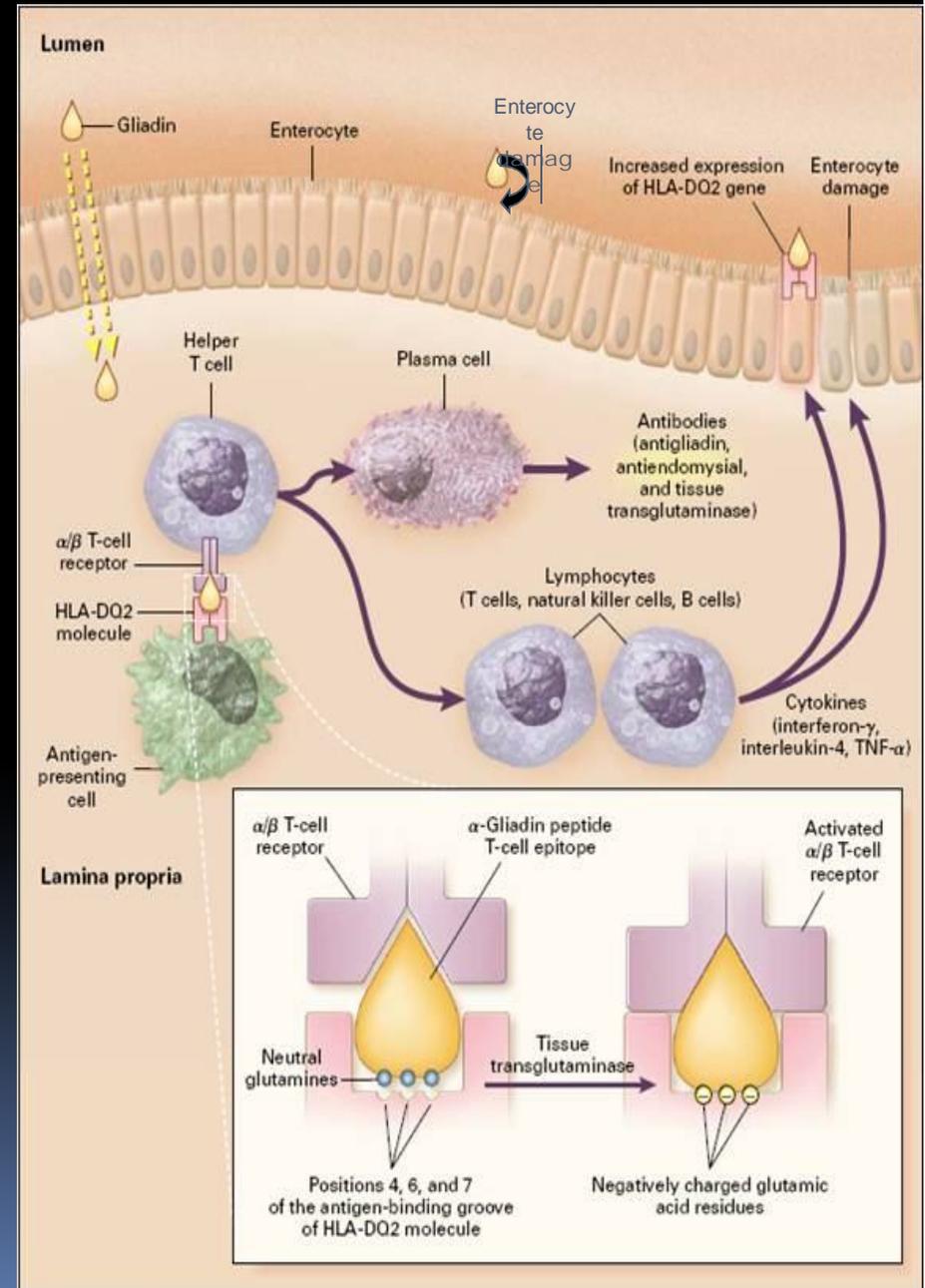


I peptidi del glutine deamidati dalla tTG si legano ai recettori HLA-DQ2/8 portati dai macrofagi e dalle cellule dendritiche attivate dalla IL15. Queste cellule presentano i peptidi del glutine ai linfociti Th1 e Th2, che iniziano a produrre IFN- γ e stimolano i linfociti B a produrre anticorpi sia contro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

I PEPTIDI COINVOLTI NELL'IMMUNITA' (INNATA E ACQUISITA)

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

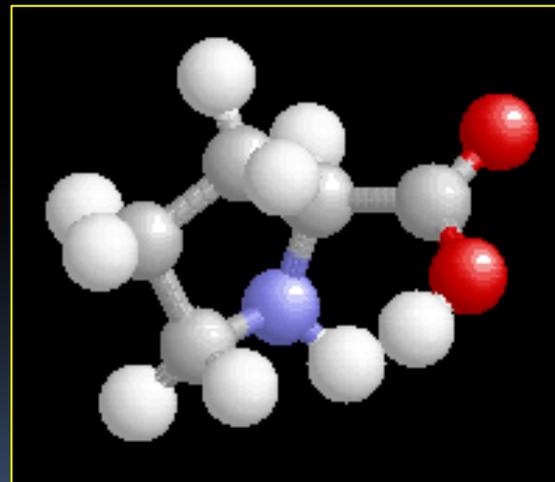
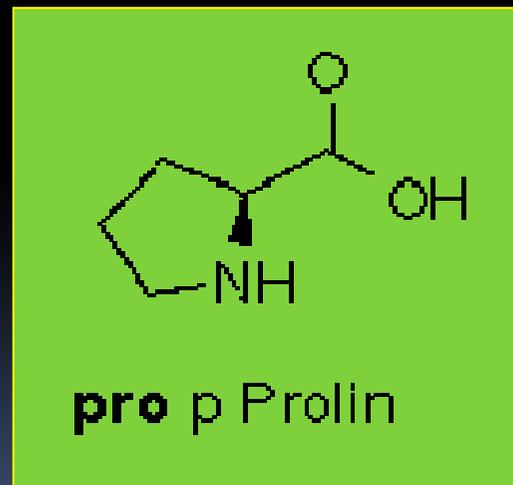
QLQPFPPQLP
QGSFQPSQQN
PSGQGSFQPSQQ
SGQGSFQPSQQN
QQPQQSFPEQQ
QQPQQPFPO
QQPQQPYPO
QPQQPFPOP



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.



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)
- Analogo trial è 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 proteasi batteriche

Farine o semole di grano sono trattate con lactobacilli che degradano i peptidi del glutine ed aggiunte in parti uguali a farine di riso o mais per la preparazione di pane, pasta e prodotti da forno per 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.

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

[†]infusion, Leiden University Medical Center, Leiden; [‡]Center for Medical Systems Biology, Wageningen; [§]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

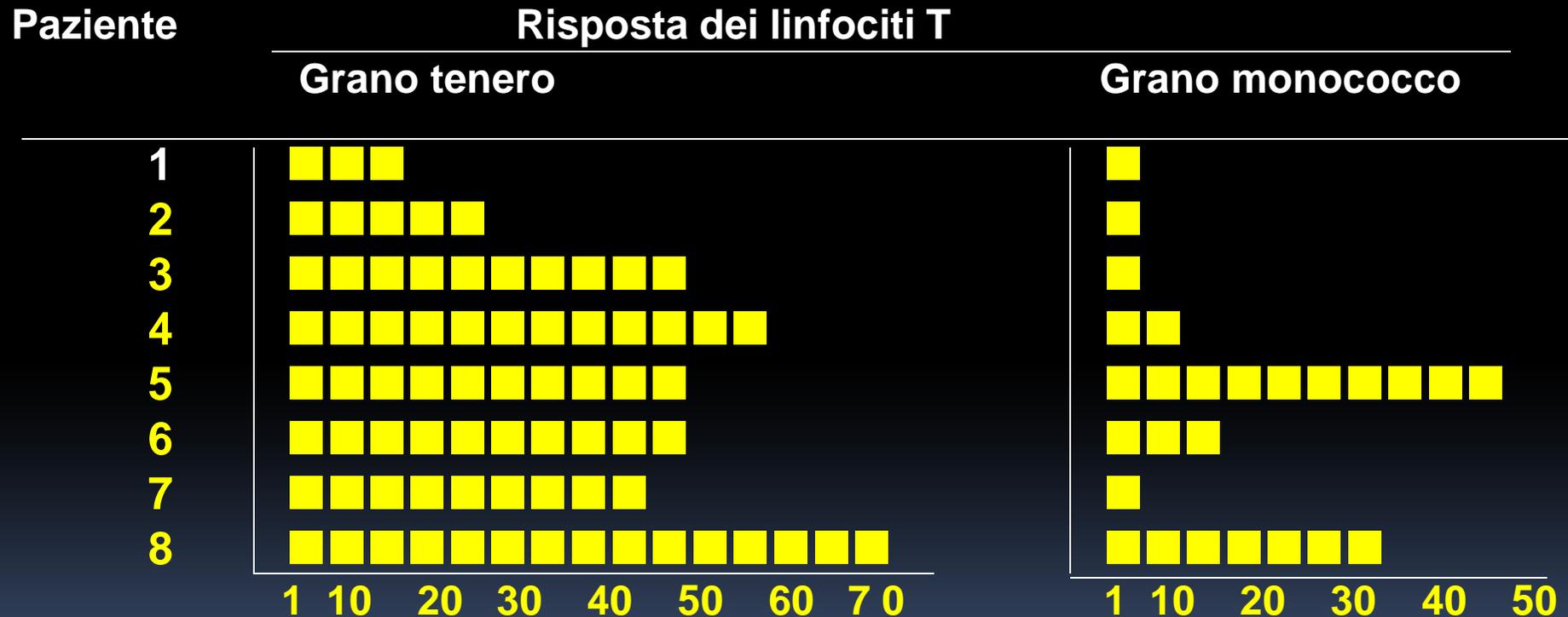
Environmental factors of celiac disease: Cytotoxicity of hulled wheat species *Triticum monococcum*, *T. turgidum* ssp. *dicoccum* and *T. aestivum* ssp. *spelta*

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

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

**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),**



Wheat	Protein %	Unsaturated lipids %	Resistant Starch %	Bread volume ml
Monococcum	18,3	3,4	2,3	500-780
Common	11,2	1,9	7,0	700-850
Difference (%)	+ 63	+79	-67	-8 /-41

Wheat	Lutein ppm	Vitamine E ppm	Zinc ppm	Iron ppm	Phosphorus ppm
Monococcum	7,5	75,5	62,0	57,3	4800
Common	1,1	50,2	31,1	32,2	2800
Difference (%)	+582	+50,4	+99,3	+77,9	+71,4

Il grano monococco



Monococcum and carasau bread (Sardinian flat bread)



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

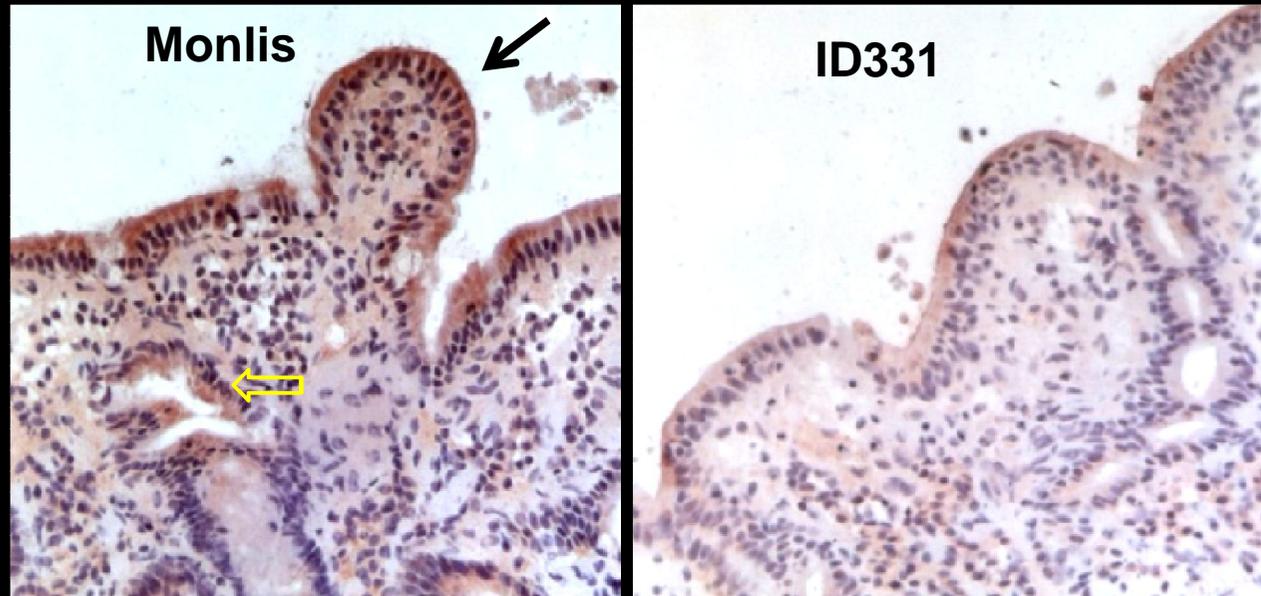
Immunogenicity of monococcum wheat in celiac patients

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.

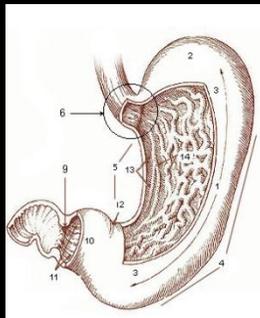
Monococcum wheat cv. ID331 does not induce IL-15 production in celiac intestinal mucosa



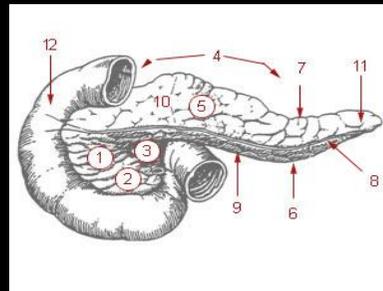
Production of IL-15 in the intestinal mucosa of celiac patients after exposition to gliadins from monococcum wheat cv. Monlis is evident in both villi (black arrow) and crypts (yellow arrow). This does not occur with gliadins from monococcum wheat cv. ID331.

Comparative analysis of digestibility of wheat bread protein (*T. vulgare*) and einkorn protein (*T. monococcum*) by immunological and proteomic approaches

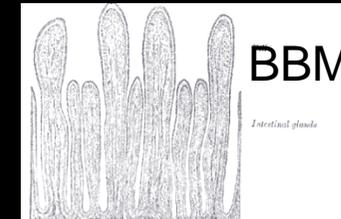
Gianfranco Mamone¹, Alessandra Camarca¹, Luigia Di Stasio¹, Pasquale Ferranti^{1,2}, Norberto Pogna³, Riccardo Troncone⁴, Salvatore Auricchio⁴, Carmen Gianfrani^{1,4}.



Pepsina (P)



Tripsina (T)
Chimotripsina (C)
Carbossipeptidasi (C)
Elastasi (E)



Amminopeptidasi
Carbossipeptidasi
Peptidil-dipeptidasi
Enteropeptidasi
Endopeptidasi

A number of peptides from *T. monococcum* gliadins corresponding to, or including, known immunogenic sequences were degraded during the PTCCE-BBM treatment. In contrast, many peptides from *T. aestivum* gliadins (including the multiepitope 33-mer) remained unaffected. Our results demonstrated that gliadin proteins in *T. monococcum* are sufficiently different from those of common wheat to determine a lower toxicity in CD patients.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

