

# DIETA SENZA GLUTINE E MICROBIOTA NEL PAZIENTE CELIACO E NEL SOGGETTO SANO

Gian Marco Giorgetti<sup>1</sup>, Sergio Riso<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unità Operativa Semplice Dipartimentale Nutrizione Clinica, ASL Roma 2

<sup>2</sup> Struttura Complessa Scienza dell'Alimentazione e Dietetica, A.O.U. "Maggiore della Carità", Novara

## ABSTRACT

Lo studio del microbiota negli ultimi anni ha dimostrato come questo "organo", composto da quasi un chilo tra batteri, virus e miceti, rivesta un ruolo fondamentale in molte patologie metaboliche e gastroenterostinali. In una patologia come la celiachia lo studio delle modifiche del microbiota costituisce un passo fondamentale per nuove conoscenze e strategie. Nelle persone che non sono ancora celiache, ma che hanno una predisposizione genetica (aplotipo DQ2 e DQ8), il microbiota ha caratteristiche diverse dal soggetto normale. In chi ha invece sviluppato la celiachia, la popolazione microbica intestinale è ulteriormente diversificata, con un incremento di batteri pro-infiammatori. Attraverso una dieta aglutinata il microbiota torna alla tipologia riscontrabile nei soggetti con la sola predisposizione genetica e se la dieta senza glutine è indispensabile nei pazienti celiaci viceversa la "moda" di intraprendere diete di esclusione in assenza di motivazione clinica dovrebbe essere abbandonata per il rischio di risvolti non ancora conosciuti o potenzialmente non favorevoli.

## INTRODUZIONE

Il microbiota può essere considerato come un "organo funzionale" dal momento che è simile tra gli individui e che la maggior parte delle persone ha la stessa quantità di geni batterici coinvolti nelle varie vie metaboliche. Come tutti i nostri organi il microbiota svolge importanti funzioni e il suo corretto funzionamento, da cui dipende il nostro stato di salute, è in relazione

diretta con il mantenimento dell'equilibrio tra i microbi che lo compongono (condizione di eubiosi). I fattori che possono portare a uno squilibrio dell'ecosistema intestinale (disbiosi) sono molteplici: la dieta, le malattie infettive, l'incontro con i patogeni, i farmaci e lo stile di vita. Studi recenti hanno riconosciuto il ruolo fondamentale del microbiota nella patogenesi di molte patologie, tra cui la celiachia.

La malattia celiaca è una condizione immunomediata scatenata dall'ingestione del glutine e che, in soggetti geneticamente predisposti, causa una infiammazione dell'intestino tenue e una atrofia dei villi intestinali con conseguente malassorbimento di nutrienti e sintomi extraintestinali. In particolare, nei soggetti predisposti, l'ingestione del glutine determina l'attivazione dei linfociti T tissutali, che riconoscono i peptidi derivanti dalla digestione enzimatica della gliadina.

La gliadina deamidata dalla transglutaminasi tissutale si lega alle molecole DQ2/DQ8 delle cellule presentanti l'antigene e attiva i linfociti T CD4 situati nella lamina propria della mucosa intestinale. I CD4 attivati raggiungono la sottomucosa intestinale, dove stimolano la produzione di citochine pro-infiammatorie (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ ) le quali, a loro volta, determinano apoptosi e distacco cellulare degli enterociti, iperproliferazione linfocitaria e atrofia dei villi.

Di recente è stato individuato un ulteriore fattore direttamente coinvolto nella eziopatogenesi della malattia celiaca (MC), trattasi della mutazione del gene che codifica per una proteina di adesione inter-

cellulare, la zonulina, ad azione regolatrice sulle giunzioni strette degli enterociti. La forma mutata di tale proteina si lega a uno specifico recettore sull'epitelio intestinale e innesca una cascata di reazioni biochimiche che determinano una riduzione dell'adesione tra gli enterociti e un aumento della permeabilità della barriera intestinale (*leaky-gut syndrome*). Di conseguenza, alcune molecole e/o sostanze, che in condizioni fisiologiche verrebbero confinate sul versante luminale dell'epitelio intestinale, riescono invece ad attraversarlo scatenando una serie di reazioni auto-immunitarie nei tessuti. Il fatto che il 30% della popolazione mondiale risulti portatrice dei geni di suscettibilità per la celiachia e che soltanto il 2-5% di questi individui ne sia realmente affetto suggerisce tuttavia l'esistenza di altri fattori in grado di contribuire all'insorgenza della malattia, come ad esempio la disbiosi intestinale. In effetti, si è visto come ognuno di noi abbia un microbiota specifico, definito enterotipo umano individuale, che dipende dal nostro background (allattamento naturale o artificiale, uso di antibiotici, stile di vita, luogo dove si è vissuto come città o campagna, ecc.). Tuttavia, nelle persone che non sono ancora celiache, ma che hanno una predisposizione alla celiachia (aplotipo DQ2 e DQ8), il microbiota avrebbe caratteristiche diverse rispetto al paziente normale. In chi, invece, ha già sviluppato la malattia, il microbiota cambia ulteriormente con un aumento di batteri pro-infiammatori. Pertanto, sulla base di queste osservazioni, sono state avanzate nuove suggestive proposte rispetto ai modelli di patogenesi della MC, in particolare sul ruolo svolto dal microbiota intestinale. Uno specifico corredo genetico dell'ospite e fattori ambientali potrebbero promuovere la colonizzazione di patobionti e ridurre i simbionti, determinando conseguentemente una disbiosi. Tale disbiosi può contribuire a interrompere l'omeostasi immunologica e l'integrità intestinale, contribuendo così alla patogenesi della MC. In tal senso, il microbiota potrebbe essere responsabile di attività proteolitica (capace di generare peptidi tossici e immunogenici glutine-relati) oppure influenzare l'integrità della barriera intestinale o avere proprietà immunomodulanti mediante una fitta rete di fattori pro- e antinfiammatori.

Studi in vitro dimostrerebbero come varie specie di *Bifidobacterium* siano capaci di impedire la formazione di peptidi tossici della gliadina durante la digestione <sup>1</sup> e di ridurre la disfunzione della barriera intestinale e delle giunzioni intercellulari <sup>2,3</sup>. Al contrario, *Escherichia coli* e *Shigella* contribuiscono ad aumentare la traslocazione dei peptidi di gliadina nelle anse intestinali <sup>2</sup>. Tali risultati suggeriscono che la composizione del microbiota intestinale è in grado di influenzare la tolleranza al glutine da parte dell'ospite.

L'importanza dell'eubiosi nel garantire la tolleranza al glutine e ridurre gli effetti pro-infiammatori è stata dimostrata mediante studi in vivo nei topi *germ-free*, cioè privati completamente dei normali batteri residenti nell'organismo. Infatti, questi animali, nutriti per circa due mesi con una dieta contenente glutine, hanno sviluppato un moderato danno a livello del piccolo intestino (atrofia dei villi) e hanno presentato un numero elevato di linfociti intraepiteliali. Inoltre, utilizzando topi *germ-free* portatori della variante DQ8, si è osservato lo sviluppo di una patologia indotta da glutine molto più severa <sup>4,5</sup>. Al contrario se questi topi venivano colonizzati con una flora batterica che includeva *Proteobacteria* (*Helicobacter* e *Escherichia coli*) sviluppavano una patologia glutine-mediata e se trattati precocemente dopo la nascita con antibiotici, responsabili di una sovracrescita di *Proteobacteria*, sviluppavano una forma severa di MC <sup>5,6</sup>. Questi modelli animali dimostrano che le risposte al glutine sono molto diverse in base alla composizione del microbiota intestinale.

Altri studi supportano la relazione tra lo sviluppo di MC e le abitudini alimentari. Un recente lavoro svedese ha riscontrato una incidenza di MC quattro volte superiore tra i nati nel decennio 1985-95 rispetto ai nati negli anni precedenti e nel biennio 1996-97. Tale incremento si associava a cambiamenti delle linee guida nutrizionali (introduzione del glutine dopo 6 mesi anziché 4 e incremento del consumo medio di glutine sotto i 2 anni), riscontrando nel bambino con diagnosi di MC una elevata presenza di ceppi batterici "Rod-shaped" nel piccolo intestino e una relativa riduzione di *Lactobacilli* e Bifidobatteri <sup>6,7</sup>.

Nei pazienti celiaci si riscontra, frequente-

mente, la persistenza dei sintomi gastrointestinali specifici della malattia, nonostante la *gluten-free diet* (GFD). Questo dato è in contrasto con le spiegazioni cliniche che mettono in relazione lo stato di infiammazione indotto dal glutine con la sintomatologia gastrointestinale del celiaco. Studi sul microbiota hanno evidenziato come in numerosi pazienti celiaci continui ad albergare un microbiota alterato nonostante la dieta priva di glutine e che proprio tali pazienti lamentano più di altri disturbi gastroenterici <sup>8</sup>. Lavori di Di Cagno et al. confermano la riduzione di *Bifidobacteri* e l'aumento di *Bacteroides* ed *Enterobacteria* nei pazienti celiaci benché a dieta senza glutine. L'insieme di questi dati suggerisce che il microbiota possa rivestire un ruolo nell'eziopatogenesi della malattia celiaca, attraverso i seguenti meccanismi:

- 1) modulazione della digestione dei peptidi del glutine, con formazione di peptidi sia tossici che digeribili, di diverso significato a seconda della specie;
- 2) regolazione della permeabilità intestinale, attraverso il rilascio di zonulina;
- 3) promozione della regolazione dell'immunità intestinale, tramite l'attivazione di peptidi antinfiammatori.

Il cambiamento non significativo tra pazienti celiaci con malattia attiva rispetto a quelli a GFD, potrebbe essere spiegato dal fatto che con la dieta aglutinata si ha una riduzione dell'intake polisaccaridico di fruttani, a effetto prebiotico e quindi di crescita nei confronti di specie microbiche benefiche.

Tuttavia, se è vero che la disbiosi intestinale incide sull'eziologia della MC e sulla persistenza dei sintomi gastrointestinali in alcuni pazienti celiaci, una migliore caratterizzazione qualitativa e quantitativa del "microbiota celiaco" renderebbe possibile lo sviluppo di strategie terapeutiche e approcci nutrizionali mirati alla modificazione della composizione del microbiota intestinale.

L'alimentazione e/o l'eventuale integrazione di pre- e probiotici potrebbe favorire il recupero della tolleranza al glutine, costituendo un vero e proprio approccio terapeutico per la celiachia. È stato dimostrato che l'assunzione di probiotici favori-

rebbe il ripristino dell'omeostasi del microbiota intestinale in quel 30% di pazienti celiaci in cui la dieta GFD riduce ma non risolve i sintomi IBS-like (dispepsia, diarrea, dolore addominale). Due studi italiani rivelano che due tipi di probiotici (composizioni multiceppo rispettivamente di 8 e 5 ceppi probiotici) siano in grado di colonizzare l'intestino <sup>9,10</sup>, idrolizzare alcuni frammenti della gliadina del glutine <sup>9</sup> e ridurre i sintomi IBS-like secondo il punteggio della scala GSRS <sup>10</sup>.

L'idrolisi della gliadina potrebbe servire anche a ridurre la secrezione anomala di zonulina che, come già detto, costituisce un fattore di rischio aggiuntivo per lo sviluppo della MC. La riduzione dei peptidi "tossici" derivanti dalla digestione enzimatica del glutine contribuirebbe dunque ad aumentare la tollerabilità al glutine e a migliorare la qualità della vita del soggetto. Uno studio <sup>11</sup> condotto in 64 individui (26 pazienti celiaci con dieta contenente glutine, 18 con GFD e 20 soggetti sani) ha valutato se una specifica composizione della flora batterica intestinale si potesse associare ai sintomi gastrointestinali della malattia celiaca e se due specifici ceppi di Bifidobatteri fossero in grado di migliorare il quadro clinico. Tale ricerca ha confermato: 1) il ruolo attivo del microbiota intestinale nell'instaurarsi dei fenomeni pro-infiammatori tipici della MC; 2) l'effetto benefico esercitato da due specie di bifidobatteri (*Bifidobacterium Longum* ES1 e *Bifidobacterium bifidum* ES2) nel quadro infiammatorio causato dal glutine.

Ma quali sono gli effetti della dieta senza glutine sul microbiota di un soggetto sano?

Molti pazienti correlano alcuni disturbi gastrointestinali al tipo di alimento assunto, ritenendolo responsabile di aumentata produzione di gas, distensione addominale, ipersensibilità viscerale e alterazioni della motilità. Negli ultimi anni hanno suscitato forte interesse le diete a basso contenuto di carboidrati polialcoli scarsamente assorbibili (FOS, oligosaccaridi, polialcoli). Tali carboidrati, ritrovati anche nel glutine, vengono fermentati dai batteri intestinali con conseguente produzione di gas e aumento di secrezioni fluide nel lume intestinale. Per descrivere questi carboidrati a catena corta, scarsamente assorbibili

li, è stato coniato l'acronimo FODMAP (fermentabili oligosaccaridi, disaccaridi, monosaccaridi e polioli). Diversi studi hanno dimostrato come una dieta povera di FODMAP possa migliorare i sintomi gastrointestinali nei pazienti con sindrome del colon irritabile. Tuttavia, tali approcci dietetici, dovrebbero essere considerati con cautela a causa dei potenziali effetti negativi sul microbioma intestinale e sui livelli plasmatici di calcio.

Pazienti controllati a 4 settimane con dieta FODMAP, rispetto a una dieta normale, presentavano una riduzione della concentrazione di *Bifidobatteri*, *Faecalibacterium Prausnitzii* e *Clostridium* e livelli invariati di *Bacteroides*, *Prevotella*, *Eubacterium rectale*, *Clostridium coccooides*, *Lactobacillus* e *Enterococcus*. Interessante osservare che anche i pazienti con sensibilità al glutine non celiaca sembravano beneficiare di una dieta FODMAP, con un miglioramento dei sintomi gastrointestinali. Tuttavia, in questi pazienti, si è osservato una riduzione di *Bifidobatteri* e un aumento di *Lachnospiraceae*. Evidenze, quindi, sembrerebbero suggerire che una dieta LOW-FODMAP possa provocare marcati cambiamenti sulla composizione del microbiota. Ulteriori studi sono comunque necessari per comprendere se queste alterazioni siano dannose per i pazienti non celiaci e se questi effetti persistono per un tempo prolungato.

Lea B.S Hausen della *Technical University of Denmark* ha pubblicato su *Nature*<sup>12</sup> un interessante studio su 60 volontari sani, suddivisi rispettivamente nei gruppi a basso o elevato apporto di glutine (2 g/die vs 18 g/die) per 8 settimane. Dopo un periodo di *washout* di 6 settimane con dieta normale (contenente in media 12 g/die di glutine) sono stati invertiti i gruppi per pari durata di tempo. Con una dieta povera in glutine si sono registrate variazioni della composizione del microbiota, quali una diminuzione delle specie appartenenti a *Bifidobacterium*, *Eubacterium Halli*, *Anacrostipes hadrus*, *Blautia wexlerae* e un aumento di alcune specie di *Lachnospiraceae* e *Clostridioides*. Inoltre, dal punto di vista della funzionalità batterica, la dieta povera di glutine ha

comportato una netta diminuzione delle vie metaboliche associate alla degradazione e/o assimilazione dei carboidrati.

In ultimo, i ricercatori hanno analizzato l'impatto di una riduzione del glutine sul sistema immunitario. Si è osservata una riduzione del rilascio di IL-1 $\beta$  (citochina prodotta in risposta a infezioni batteriche) rispetto ai pazienti sani che mangiavano glutine, suggerendo una diminuzione selettiva della risposta infiammatoria. Di contro, non si è osservato alcun cambiamento nei marcatori di permeabilità e di infiammazione intestinale (calprotectina fecale, citrullina).

In conclusione, una dieta a scarso contenuto di glutine seguita da individui sani comporta una modifica nella composizione e funzionalità del microbiota intestinale, una alterazione del processo di fermentazione con diminuzione dei gas intestinali e infine un parziale effetto sul sistema immunitario. Aspetto, quest'ultimo, certamente meritevole di approfondimenti in studi futuri.

#### Conflitto di interessi

Gli Autori dichiarano nessun conflitto di interesse.

#### Bibliografia

- 1 Laparra JM, Sanz Y. Bifidobacteria inhibit the inflammatory response induced by gliadins in intestinal epithelial cells via modifications of toxic peptide generation during digestion. *J Cell Biochem* 2010;109:801-7. <https://doi.org/10.1002/jcb.22459>
- 2 Cinova J, De Palma G, Stepankova R, et al. Role of intestinal bacteria in gliadin-induced changes in intestinal mucosa: study in germ-free rats. *PLoS One* 2011;6:e16169. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016169>
- 3 Lindfors K, Blomqvist T, Juuti-Uusitalo K, et al. Live probiotic *Bifidobacterium lactis* bacteria inhibit the toxic effects induced by wheat gliadin in epithelial cell culture. *Clin Exp Immunol* 2008;152:552-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03635.x>
- 4 Štěpánková R, Tlaskalová-Hogenová

H, Sinkora J, et al. Changes in jejunal mucosa after long-term feeding of germ-free rats with gluten. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:551-7. <https://doi.org/10.3109/00365529609009127>

- 5 Galipeau HJ, Rulli NE, Jury J, et al. Sensitization to gliadin induces moderate enteropathy and insulinitis in nonobese Diabetic-DQ8 mice. *J Immunol* 2011;187:4338-46. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100854>
- 6 Ivarsson A, Persson LA, Nyström L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr* 2000;89:165-71. <https://doi.org/10.1080/080352500750028771>
- 7 Ou G, Hedberg M, Hörstedt P, et al. Proximal small intestinal microbiota and identification of rod-shaped bacteria associated with childhood celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2009;104:3058-67. <https://doi.org/10.1038/ajg.2009.524>
- 8 Wacklin P, Kaukinen K, Tuovinen E, et al. The duodenal microbiota composition of adult celiac disease patients is associated with the clinical manifestation of the disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:934-41. <https://doi.org/10.1097/MIB.0b013e31828029a9>
- 9 De Angelis M, Rizzello CG, Fasano A, et al. VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin polypeptides responsible for Celiac Sprue. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762:80-93. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2005.09.008>
- 10 Francavilla R, Piccolo M, Francavilla A, et al. Clinical and microbiological effect of a multispecies probiotic supplementation in celiac patients with persistent ibs-type symptoms: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *J Clin Gastroenterol* 2019;53:e117-25. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001023>
- 11 Medina M, De Palma G, Ribes-Koninckx C, et al. *Bifidobacterium* strains suppress in vitro the pro-inflammatory milieu triggered by the large intestinal microbiota of celiac patients. *J Inflamm (Lond)* 2008;5:19. <https://doi.org/10.1186/1476-9255-5-19>
- 12 Hansen LBS, Roager HM, Søndertoft NB, et al. A low-gluten diet induces changes in the intestinal microbiome of healthy Danish adults. *Nat Commun* 2018;9:4630. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07019-x>