

# I RISULTATI DELLA RICERCA SCIENTIFICA

**Conclusi altri progetti di ricerca triennale finanziata con i fondi 5x1000, con ottimi risultati e benefici futuri per le persone affette da celiachia**

Di **Giuseppe Di Fabio**  
PRESIDENTE AIC

Ogni giorno lavoriamo per finanziare e sostenere la migliore ricerca scientifica su celiachia e dermatite erpetiforme. Le sfide lanciate e i traguardi raggiunti sono possibili grazie alla generosità di migliaia di italiani, perché la ricerca è prima di tutto un patrimonio collettivo. La nostra priorità è e rimane quella di assicurare continuità alla ricerca su queste malattie.

La diffusione di ogni nuova scoperta è determinante per il progresso scientifico. Se un ricercatore nel corso del suo progetto ottiene dati attendibili, gli articoli che ne descrivono i risultati sono pubblicati sulle riviste scientifiche internazionali e serviranno ad altri ricercatori per i propri studi e per portare ulteriormente avanti conoscenza, innovazione, originalità.

Un contributo alla ricerca riconosciuto dalla comunità internazionale è una conferma dell'accuratezza delle scelte di AIC nella distribuzione dei fondi, con concrete e

importanti ricadute su diagnosi e qualità di vita dei pazienti. I risultati contenuti nelle migliori pubblicazioni sono anche divulgati al pubblico, tramite i canali istituzionali di AIC e alla collaborazione dei media: in questo modo condividiamo i frutti del lavoro dei ricercatori con tutti coloro che lo hanno reso possibile dimostrandoci la loro fiducia attraverso la sottoscrizione del 5x1000, prezioso istituto che diventa circolo virtuoso. Una sottoscrizione che dal contribuente, senza oneri a proprio carico, ritorna a beneficio della collettività attraverso la ricerca operata dalle migliori energie che la nostra Italia dispone.

## **I nostri giovani, il nostro futuro**

Si sono da poco conclusi altri tre progetti di ricerca triennali finanziati con i Bandi Fellowship ai giovani ricercatori, il cui obiettivo è far crescere una nuova generazione di scienziati e medici che si dedichino alla ricerca sulla celiachia nel nostro Paese, sostenendo un percorso che prevede esperienze formative presso grandi istituti di ricerca in Italia, consentendo loro di "crescere" e confrontarsi con la migliore ricerca nel mondo. Da sempre apriamo bandi per sostenere su tutto il territorio nazionale i migliori progetti di ricerca scientifica su celiachia e dermatite erpetiforme e i gruppi di ricerca più meritevoli. La selezione dei progetti si avvale di un metodo rigoroso, allineato agli standard di valutazione internazionali, che premia il merito e le potenzialità di ogni singolo progetto di arrivare a una cura. Una commissione scientifica internazionale valuta i progetti adottando il processo di revisione tra pari (*peer review*) mutuato da quello delle più rigorose agenzie di finanziamento della ricerca nel mondo. I revisori internazionali coinvolti nella selezione dei progetti hanno il compito di individuare i più promettenti e di valutarne nel tempo i risultati, offrendo così la possibilità di verificare e misurare al meglio la capacità di AIC di impiegare i fondi. Tutte le fasi della partecipazione ai bandi e il processo di valutazione *peer review* sono gestite tramite una piattaforma web sviluppata appositamente, che garantisce efficienza all'intero processo. ♦





## I BANDI FELLOWSHIP GRANT CONCLUSI

Di **Luisa Novellino**  
UFFICIO SCIENTIFICO

L'obiettivo dei Bandi Fellowship è fornire ai giovani uno strumento per iniziare la carriera scientifica sulla celiachia, mediante un Programma Triennale concordato con un tutor (Capo Laboratorio) presso un Istituto di ricerca non profit pubblico o privato, che preveda:

- uno studio scientifico triennale incentrato su celiachia o dermatite erpetiforme;
- un percorso di formazione triennale del giovane ricercatore (competenze tecniche e scientifiche, meeting, seminari, congressi internazionali e nazionali).

La formula del finanziamento (Grant) è quella del cofinanziamento in cui la borsa di studio triennale del giovane ricercatore è finanziata da AIC insieme ad un contributo una tantum per i reagenti e i consumabili necessari allo svolgimento del progetto di ricerca triennale. L'istituto e il capo laboratorio provvedono con i propri fondi non-profit a coprire le altre voci di costo del progetto (missioni per la partecipazione a convegni e la presentazione dei risultati della ricerca, costi di pubblicazione sulle riviste internazionali, ecc.).

### Priorità di ricerca

- Individuazione di nuovi meccanismi patogenici
- Imminenza di individuazione di nuove cure ovvero di sviluppo delle terapie esistenti
- Meccanismi biologici e fisiopatologici della patologia
- Interazioni tra fattori di rischio ambientali, profili genetici e biomarcatori, incluso studi sui componenti tossici del glutine
- Innovazione delle metodologie cliniche
- Miglioramento della qualità di vita e dell'efficienza diagnostica e terapeutica, incluso innovazione di prodotti alimentari per celiaci e miglioramento di qualità e sicurezza dell'alimentazione senza glutine.

### I principali criteri di valutazione

- Priorità rispetto alla cura e alla qualità di vita dei pazienti
- Valore scientifico e fattibilità
- Chiarezza degli obiettivi del progetto
- Impatto sul progresso nella comprensione della patologia e del suo trattamento
- Innovazione e originalità

### Per approfondire

Per saperne di più sulla ricerca scientifica finanziata con i fondi 5 per mille e sui risultati e le pubblicazioni, segui questo link:  
<https://www.celiachia.it/ricerca/bandi-di-ricerca-fc/>

I risultati nostri e dei nostri ricercatori per la comunità scientifica internazionale (pagina in inglese):  
<https://www.celiachia.it/ricerca/fc-call/>

Qui trovate maggiori dettagli sui tre progetti:  
<https://www.celiachia.it/ricerca/bandi-di-ricerca>  
e quindi selezionate **bandi fellowship 2018** dal menu grigio di destra



## EFFETTI CELLULARI E MOLECOLARI DELLE ESORFINE DERIVATE DAL GLUTINE SUL PROCESSO TUMORIGENICO: UNO STUDIO PILOTA IN VITRO

### Scheda del progetto

**Area Scientifica:** Oncologia  
**Tipologia e Durata del Progetto:** Grant (Finanziamento)  
 Fellowship Triennale  
**Ricercatore Titolare:** Federico Manai,  
 Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "L. Spallanzani", Università di Pavia, Pavia  
**Tutor (Capo Laboratorio):** Prof. Sergio Comincini



#### Cosa si è voluto studiare e perché?

Le esorfine del glutine sono piccoli peptidi rilasciati dalla digestione enzimatica del glutine nel tratto gastro-intestinale. È stato dimostrato che questi peptidi sono in grado di entrare nel circolo sanguigno e di legarsi ai recettori per gli oppioidi, portando alla loro attivazione. Considerando queste loro proprietà e il fatto che la stimolazione di questi recettori è associata all'attivazione di processi cellulari che promuovono la proliferazione e la percezione del dolore, è stato ipotizzato negli ultimi anni che le esorfine del glutine possano svolgere un ruolo nell'insorgenza della celiachia asintomatica. I soggetti affetti da questa forma della malattia non

sperimentano alcun sintomo nonostante la presenza dei danni caratteristici a livello intestinale.

Come è noto, la celiachia non trattata e stati di infiammazione cronica intestinale sono associati a due complicanze della malattia, il linfoma a cellule T associato ad enteropatia e il carcinoma dell'intestino tenue. Un numero sempre maggiore di studi ha dimostrato l'associazione tra i processi cellulari regolati dall'attivazione dei recettori per gli oppioidi e il cancro. Considerando queste premesse, così come l'assenza nella letteratura scientifica di studi volti a chiarire il ruolo delle esorfine del glutine nell'insorgenza della celiachia, questo studio ha voluto investigare l'effetto di questi peptidi in modelli cellulari di epitelio intestinale e linfociti T.

Inoltre, visto il ruolo sempre più centrale delle cellule enteriche gliali nella corretta fisiologia intestinale, si è studiata anche la loro risposta alle esorfine del glutine. Le cellule enteriche gliali, infatti, costituiscono, insieme ai neuroni enterici, il sistema nervoso enterico e partecipano alla regolazione di numerosi processi fisiologici e patologici. Il loro ruolo in patologie intestinali come il morbo di Crohn e la colite ulcerativa è maggiormente noto rispetto a quello nella celiachia, di cui è presente un solo lavoro nella letteratura scientifica.

#### Quali risultati e quali conclusioni?

Lo studio ha dimostrato che, nel modello di linfociti studiato, le esorfine del glutine non esercitano alcun effetto citotossico anche quando testate ad alte concentra-

---

---



zioni, portando all'attivazione di proteine implicate nella proliferazione cellulare e nella resistenza alla morte cellulare (un meccanismo che l'organismo usa per distruggere quelle cellule che si trasformano).

Una di queste esorfine, nota come B5, si è rivelata essere la più potente nello svolgere queste attività biologiche, come già noto nella letteratura scientifica. Questa esorfina è stata quindi testata nel modello di epitelio intestinale, dove si è visto indurre un aumento della vitalità e una diminuzione di proteine implicate nella corretta fisiologia delle cellule dell'epitelio intestinale.

Considerando questi risultati è possibile ipotizzare che le esorfine del glutine giochino un ruolo nell'insorgenza della celiachia, promuovendo l'attivazione dei linfociti T, i maggiori responsabili del danno intestinale, e un'alterazione nella corretta funzionalità delle cellule epiteliali intestinali.

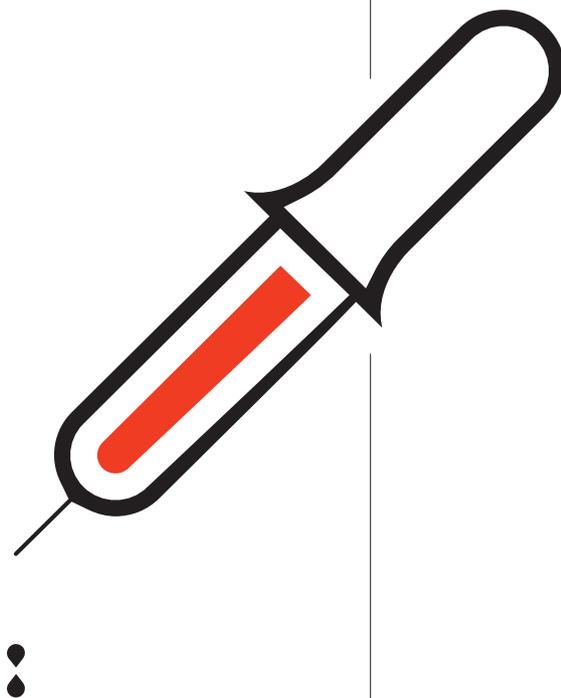
#### **Quali prospettive e quali benefici per i pazienti celiaci?**

Questo studio suggerisce per la prima volta un possibile coinvolgimento delle esorfine del glutine nell'insorgenza della celiachia, aumentando così le conoscenze riguardo i meccanismi fisiopatologici della malattia, rafforzando l'ipotesi di un loro ruolo nelle forme asintomatiche. Prospettive future potrebbero riguardare lo studio di mutazioni nei geni codificanti per i recettori per gli oppioidi in soggetti affetti da celiachia asintomatica. Particolari mutazioni, infatti, potrebbero portare a un maggior legame delle esorfine del

glutine con questi recettori, promuovendo la loro attività biologica. L'eventuale dimostrazione di questa ipotesi potrebbe contribuire all'identificazione di un nuovo sistema per differenziare la diagnosi dei pazienti celiaci, con possibili ricadute di maggiore efficienza sul piano clinico.

#### **Eventuali sviluppi futuri del progetto**

Nel futuro si studierà l'effetto delle esorfine del glutine in modelli sempre più complessi e aderenti alla condizione in vivo (e.g., linee cellulari primarie, organoidi...) al fine di validare quanto osservato nei modelli cellulari utilizzati in questo studio.





## ADERENZA ALLA DIETA SENZA GLUTINE, SVILUPPO DI UNA NUOVA METODICA DI LABORATORIO PER IL MONITORAGGIO DELLE URINE

### Scheda del progetto

**Area Scientifica:** Epidemiologia  
**Tipologia e Durata del Progetto:** Grant (Finanziamento) Fellowship Triennale  
**Ricercatore Titolare:** Albino Coglianese, Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria “Scuola Medica Salernitana”, Università di Salerno  
**Tutor (Capo Laboratorio):** Prof.ssa Viviana Izzo



#### Cosa si è voluto studiare e perché?

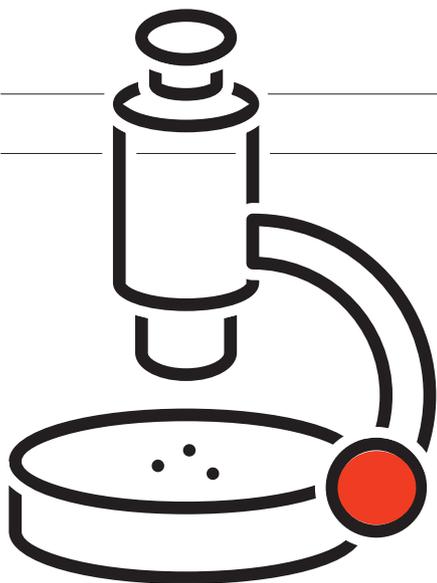
La stretta aderenza ad una dieta senza glutine (DSG) è l'unica terapia disponibile per i pazienti con Malattia Celiaca (MC), e va eseguita con rigore per tutta la vita. Tuttavia, secondo diversi rapporti, la trasgressione nella dieta è relativamente frequente (32,6-55,4%) nel paziente celiaco. Una parte della popolazione celiaca (5-10%) non risponde ad una DSG e circa l'1-2% dei pazienti, principalmente adulti, può sviluppare celiachia refrattaria (RCD) nonostante una rigida DSG. Inoltre, non esiste un metodo efficace per escludere la possibilità che i sintomi di RCD non siano dovuti a un'ipersensibilità a tracce di glutine presenti accidentalmente in cibi dichiarati

gluten-free (GF) o associate a involontaria ingestione di glutine, spesso utilizzato come additivo alimentare, oppure presente nella filiera di produzione. Da tutto questo emerge la necessità di individuare e quantificare correttamente biomarcatori che consentano il monitoraggio a breve termine della conformità alla DSG. Ad oggi, i metodi disponibili per monitorare l'aderenza alla DSG in pazienti con MC non sono abbastanza sensibili da rilevare trasgressioni alimentari occasionali, che possono comunque causare danni alla mucosa intestinale. In molti casi, l'aderenza ad una DSG è valutata mediante misure soggettive e inaffidabili, come i questionari.

Alcuni lipidi fenolici, nello specifico l'acido 3,5-diidrossibenzoico (DHBA) e l'acido 3-(3,5-diidrossifenil)-propanoico (DHP-PA) principali metaboliti degli Alchilresorcinoli (AR), sono stati proposti come biomarcatori per l'assunzione di grano sia integrale che raffinato. Livelli elevati di questi lipidi fenolici sono stati rilevati nel siero e nelle urine dei pazienti celiaci, con una sostanziale diminuzione in seguito alla DSG. Pertanto, l'obiettivo principale del progetto proposto è stato quello di convalidare un metodo analitico per la rilevazione simultanea di questi due biomarcatori nelle urine, correlandoli all'aderenza alla DSG.

#### Quali risultati e quali conclusioni?

In una prima fase del progetto è stato necessario validare il metodo analitico seguendo le più recenti linee guida sulla validazione dei metodi bioanalitici. Le procedure di validazione mirano a verificare che il metodo fornisca effettivamente risultati affidabili, se correttamente eseguito. Queste proce-



ture consentono di valutare l'intervallo di concentrazione in cui i biomarcatori sono presenti nelle urine, le condizioni di applicabilità del metodo e di verificare se le misure che verranno effettuate nelle analisi di routine forniranno una concentrazione dei biomarcatori sufficientemente vicina al valore reale. Il metodo da noi sviluppato si è rivelato sensibile e specifico e ci ha permesso di poter passare alla successiva fase di valutazione preclinica. In questa fase abbiamo analizzato campioni di urina raccolti da tre volontari sani sottoposti a un periodo di dieta priva di glutine. Più precisamente nei primi tre giorni è stata seguita una dieta priva di glutine, il terzo giorno sono stati assunti 100 grammi di pane bianco. Successivamente, dopo un ulteriore giorno di dieta priva di glutine, è stata ripristinata una regolare dieta a base di glutine. I livelli di metaboliti sono stati osservati quotidianamente mediante l'analisi delle urine mattutine. Nei campioni analizzati è stato osservato un trend caratteristico dei biomarcatori di interesse in relazione alla presenza e/o assenza di glutine nel regime alimentare seguito. Queste evidenze, sebbene siano state ottenute su un numero limitato di analisi, supportano il potenziale utilizzo di DHBA e DHPPA come biomarcatori sensibili per verificare anche modeste assunzioni di glutine.

#### **Quali prospettive e quali benefici per i pazienti celiaci?**

Il paziente celiaco necessita di metodologie di laboratorio specifiche e sensibili che possano aiutare, mediante il prelievo estemporaneo di un campione di urina, una corretta gestione del regime alimen-

tare adottato ed evidenziare le eventuali ingestioni accidentali, che possono avere ripercussioni importanti in termini di salute, con conseguenti ricadute sulla qualità di vita del paziente stesso. La valutazione preliminare sui volontari sani ha mostrato un buon potenziale di questi biomarcatori nell'evidenziare anche piccole variazioni nell'assunzione di glutine. Quantificare i livelli di potenziali marcatori di esposizione al glutine potrebbe rappresentare uno strumento promettente per aiutare i pazienti affetti da MC a tenere sotto controllo la loro dieta e i medici a comprendere le cause di eventuali eventi avversi, favorendo così la collaborazione del paziente. Ovviamente è opportuno estendere lo studio ad un numero maggiore di pazienti (vero e proprio studio clinico) in modo da definire meglio i tempi di metabolizzazione ed escrezione dei metaboliti e valutare al contempo l'effettiva variabilità intra- ed interindividuale.

#### **Eventuali sviluppi futuri del progetto**

Seppur completa nella sua validazione analitica, la metodica sviluppata necessita di una validazione clinica su un maggior numero di soggetti, che ne individui la sensibilità e la specificità diagnostiche. Il metodo si è rivelato statisticamente significativo. Sarà necessario uno studio clinico, su pazienti celiaci e con opportuni gruppi di controllo di volontari sani, sottoposti o meno a dieta priva di glutine, per indagare ulteriormente il potenziale dei biomarcatori in correlazione con l'assunzione di glutine e per definire un possibile livello "soglia", al di sotto del quale la presenza di biomarcatori può essere considerata in linea con una DSG terapeuticamente valida.



## STUDIO DELLA INTERAZIONE TRA MASTOCITI E *CANDIDA ALBICANS* NELLO SVILUPPO DELLA CELIACHIA

### Scheda del progetto

**Area Scientifica:** Infiammazione

**Tipologia e Durata del Progetto:**

Grant (Finanziamento)

Fellowship Triennale

**Ricercatore Titolare:**

Giorgia Renga,

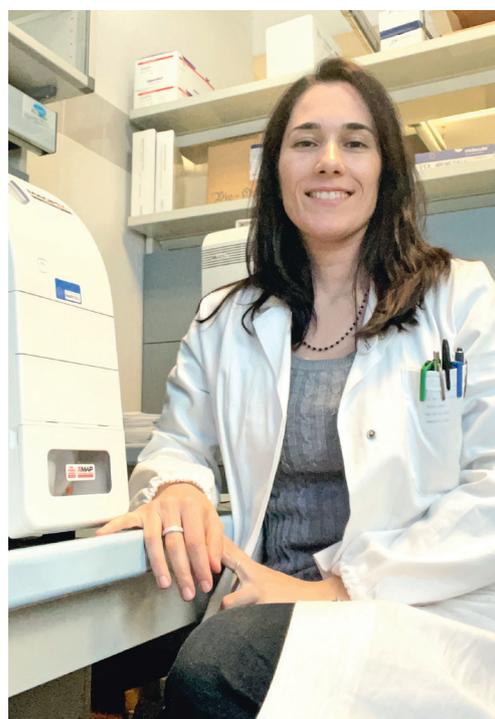
Dipartimento di Medicina e

Chirurgia,

Università degli Studi di Perugia

**Tutor (Capo Laboratorio):**

Prof.ssa Luigina Romani



### Cosa si è voluto studiare e perché?

*Candida albicans* è un fungo che vive come commensale in equilibrio con altri microorganismi e che colonizza abitualmente le mucose umane senza provocare danno all'ospite.

Il fungo è caratterizzato da una morfologia variabile, in cui si passa dalla forma sferica di lievito alla forma filamentosa di ifa. La forma ifale è considerata la forma patogena di *Candida* perché in grado di penetrare l'epitelio e causare danni. Tutte le condizioni che portano alla modifica del microambiente mucosale, quali antibiotici, disregolazioni metaboliche o immunologiche, sono in grado di favorire la transizione da lievito ad ifa aumentando la patogenicità del fungo.

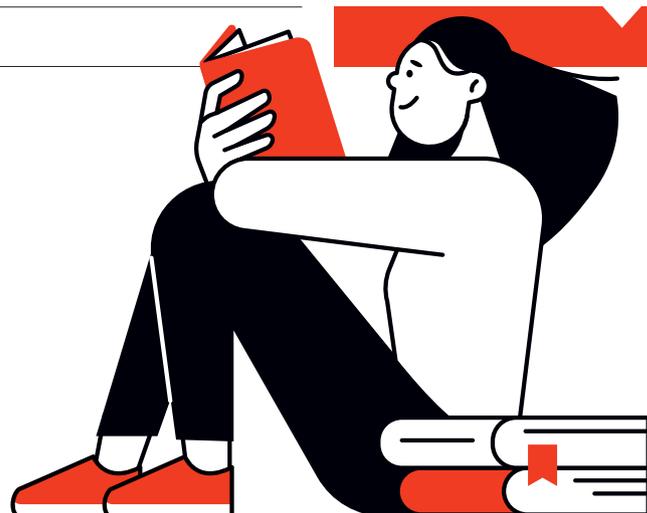
Nonostante *Candida* possa contribuire allo sviluppo di alcune patologie intestinali e potenzialmente favorire la comparsa di intolleranze alimentari ed allergie, il suo ruolo nella celiachia non è stato ancora approfondito. Da un lato, la presenza nella celiachia di un microambiente infiammatorio, costituito da un microbiota alterato ed altrettanta alterata permeabilità intestinale, favorisce la virulenza del fungo. Dall'altro, la scoperta, nel 2003, dell'elevata omologia tra la proteina HWP-1, localizzata sulla superficie della forma ifale di *Candida*, e alcune proteine del glutine responsabili della risposta infiammatoria nella celiachia, ha condotto alcuni scienziati ad ipotizzare che *Candida* possa contribuire alla patogenesi di celiachia.

Recentemente abbiamo dimostrato l'esistenza di una stretta interazione tra *Candida* e particolari tipi cellulari del sistema immunitario chiamati mastociti. I mastociti sono coinvolti in diverse patologie gastroenteriche perché, rilasciando il contenuto dei granuli al loro interno in condizioni infiammatorie, sono in grado di aumentare la permeabilità intestinale ed indurre infiammazione.

Gli obiettivi principali di questo progetto sono stati quelli di comprendere se e come l'interazione tra *Candida* e mastociti potesse influenzare lo sviluppo della celiachia e come contrastarla ai fini terapeutici.

### Quali risultati e quali conclusioni?

Nella prima parte del progetto abbiamo dimostrato che le proteine del glutine rendono *Candida albicans* molto più pericolosa, in quanto non solo favoriscono la transizione lievito-ifa, ma determinano ife più lunghe ed aumentano il numero di proteine HWP-



l sulla superficie del fungo. Il glutine è così capace di modificare la morfologia di *Candida* ed influenzarne le sue caratteristiche. L'aumentata virulenza di *Candida* in presenza di glutine è stata osservata anche in cellule intestinali umane che, a fronte del danno, rilasciano nell'ambiente maggiori quantità di IL-15, citochina responsabile di danno epiteliale.

I risultati ottenuti in vitro sono stati confermati da studi in vivo in topi trattati per via orale con il glutine dopo dieta gluten-free e successivamente infettati con *Candida*. I risultati ottenuti hanno mostrato come *Candida* sia stata in grado di aumentare il danno tissutale nei topi celiaci incrementando la produzione di citochine infiammatorie.

Andando a valutare il possibile coinvolgimento dei mastociti, si è osservato che in presenza di *Candida* aumentava la quantità di MCPT-1, molecola capace di aumentare la permeabilità intestinale, e di IL-9, citochina prodotta dagli stessi mastociti per richiamarne altri nel sito danneggiato. Questi risultati hanno dimostrato che l'asse *Candida*-mastociti amplifica ulteriormente la risposta infiammatoria tipica della celiachia.

Nell'ultima parte del progetto abbiamo valutato l'effetto dell'uso di trattamenti volti a bloccare i mastociti infiammatori ed abbiamo visto che due molecole (l'anticorpo che blocca IL-9 e 3-IAld) sono state capaci di ridurre l'infiammazione e migliorare il danno intestinale. In particolare, 3-IAld è stata capace di ridurre la transizione lievito-ifa di *Candida*, inibire l'attività infiammatoria dei mastociti e aumentare la quantità di batteri protettivi in modo da rinforzare la barriera intestinale.

### **Quali prospettive e quali benefici per i pazienti celiaci?**

Il nostro studio ha dimostrato come *Candida albicans*, microrganismo commensale normalmente innocuo per il nostro intestino, possa rivelarsi una minaccia in ambiente infiammatorio come quello della celiachia. La presenza di un microbiota intestinale alterato e di cellule dell'immunità come i mastociti, capaci di rilasciare grandi quantità di molecole infiammatorie, creano le condizioni favorevoli all'incremento della virulenza del fungo, contribuendo così ad amplificare la patologia infiammatoria intestinale.

L'utilizzo di farmaci "intelligenti" che vadano non solo ad agire sul fungo, come gli antifungini, ma anche sull'ambiente infiammatorio circostante, ripristinando la corretta composizione microbica e rafforzando l'epitelio intestinale, possono fornire indicazione per nuove strategie terapeutiche.

### **Eventuali sviluppi futuri del progetto**

Poiché i dati ottenuti in questo progetto sono stati condotti in modelli cellulari in vitro e murini in vivo, lo sviluppo logico ed auspicabile del progetto sarebbe quello di estendere i dati ottenuti direttamente nel soggetto celiaco. Da qualche anno il mondo della ricerca sta cercando di sviluppare in laboratorio dei "mini-organismi" capaci di mimare anatomia e funzionalità degli organi umani. Sarebbe molto interessante utilizzare le biopsie di soggetti celiaci per generare organoidi intestinali utili a definire il comportamento di mastociti e *Candida* nel paziente, nonché una possibile stratificazione dei pazienti sulla base del loro microambiente intestinale.