

## ROLUL ALIMENTAȚIEI ÎN TRATAMENTUL DERMATITEI HERPETIFORME

DANA VIOLETA MIHAI\*

București

### Rezumat

Dermatita herpetiformă (DH) reprezintă un exemplu unic al frecvenței existenței a unei boli celiace (CD) „silenzioase” din punct de vedere gastroenterologic, însă active din punct de vedere dermatologic.

Unicul tratament confirmat, pentru pacienții cu CD și/sau DH, îl reprezintă dieta fără gluten (GFD) pe toată durata vieții. Complanța la GFD este esențială pentru menținerea creșterii și dezvoltării, a stării generale, fertilității, densității osoase, precum și a unui risc scăzut de deficite nutriționale și neoplazii.

Lucrarea de față prezintă o sinteză a cunoștințelor actuale legate de conținutul în gluten al diverselor cereale și produse alimentare, metode de determinare a acestuia, probleme legate de variațiile răspunsului la GFD, precum și pozițiile diferitelor asociații de studiu al bolii celiace (AFDIAG - Europa, CSA - SUA) referitor la includerea sau excluderea din GFD a diverselor alimente.

**Cuvinte-cheie:** dermatita herpetiformă (DH); dieta fără gluten (GFD); gliadină; prolamine.

### Summary

Dermatitis herpetiformis (DH) is an unique example of the frequent coexistence of gastroenterologically „silent” CD with dermatological activity.

The single confirmed therapy, for patients with CD and/or DH, is lifelong gluten-free diet (GFD). Adherence to GFD is crucial for maintaining growth and development, the general state of health, fertility, bone density, and for minimizing the risks of nutritional deficits and certain forms of cancer.

The present paper reviews the current knowledge in issues including the gluten contents of various foods and cereals, methods of gluten determination, variations in the response to GFD, and the positions of several CD associations (AFDIAG - Europe, CSA - USA) on the inclusion/exclusion of various foods in GFD.

**Keywords:** dermatitis herpetiformis (DH); gluten-free diet (GFD); gliadin; prolamins.

DermatoVenerol. (Buc.), 52: 93-103

### I. Generalități

Prima mențiune în literatură a dermatitei herpetiforme (DH) datează din 1884 și aparține lui Duhring. Conexiunea cu proteinele din grâu a fost făcută pentru prima oară în 1941 (Dicke, Olanda).

Boala este caracterizată prin apariția de plăci urticariene și bule mici în special pe suprafețele de extensie (coate, fese, genunchi), însă pot fi

afectate și alte regiuni. Eruptia are tendința la persistență: numai 10-15% din pacienți au prezentat remisiuni spontane pe o perioadă de urmărire cu durata de 25 ani. Caracteristica bolii este prezența depozitelor de IgA în dermul superior al tegumentului intact, diagnosticul neputând fi pus în absența acestor depozite.

Două treimi dintre pacienții cu DH prezintă o enteropatie a intestinului subțire, cu atrofie vilozitară, identică cu cea din boala celiacă (CD).

\* Institutul Clinic Fundeni, București,

Simptome digestive manifeste, sugestive de CD, sunt întâlnite la mai puțin de 10% dintre pacienții cu DH, însă enteropatia glutenică este prezentă în toate cazurile. Chiar și la pacienții încadrați în treimea restantă se evidențiază o sensibilitate intestinală la gluten, sub forma unui accentuat infiltrat inflamator intraepitelial. După provocările glutenice, atrofia vilozitară se instalează chiar și la acești pacienți cu arhitectură vilozitară normală în prealabil.

DH și CD sunt strict asociate cu alelele HLA clasa a II-a A1\*0501 și B1\*02, care codifică heterodimerul HLA-DQ2. CD segregă în familiile pacienților cu DH, ceea ce sugerează un fond genetic comun [12, 14]. Prezența gemenilor monoziгоți, dintre care unul este afectat de DH și celălalt de CD, arată că factorii de mediu și nu cei genetici, par a fi responsabili de instalarea erupției din DH.

CD clinic silențioasă, însă activă din punct de vedere imunologic, ar putea produce autoanticorpi de tip IgA [10] care să reacționeze și cu țesutul conjunctiv intradermic. În producerea acestor autoanticorpi este incriminat și posibilul rol al unui adenovirus uman [9, 11, 22]. Care este însă antigenul IgA depozitate și care este rolul acestuia în formarea bulelor din DH, sunt întrebări ce rămân a fi elucidate.

Tratamentul inițial al erupției se face cu unul din următoarele trei medicamente: dapsonă, sulfapiridină sau sulfametoxipiridazină. Totuși, erupția se remite și după restricționarea glutenului. Cu toate acestea, trebuie să se sublinieze faptul că durata de timp medie pentru a obține o reducere semnificativă a necesarului de medicamente este de 6 luni, și pot trece chiar mai mult de 2 ani până când medicamentele devin nenesare pentru controlul erupției. În mod caracteristic, erupția recidivează la reintroducerea glutenului în alimentație.

Astfel, DH reprezintă un exemplu unic al frecvenței existențe a unei CD „silențioase” din punct de vedere gastroenterologic, însă active din punct de vedere dermatologic.

## II. Dieta fără gluten (GFD)

Ingestia unor mici cantități de gluten de către indivizii cu intoleranță la gluten poate conduce la modificări morfologice la nivel intestinal, ce pot crește riscul de instalare a limfomului intestinal, a

altor forme de cancer și a demineralizării osoase. CD și DH sunt principalele maladii tratate cu ajutorul dietei fără gluten (GFD, gluten-free diet).

Conform nivelului actual de cunoștințe, absența completă a glutenului din alimentație permite indivizilor cu intoleranță la gluten să aibă mai multe șanse de a evita pericolele grave pentru sănătate pe termen lung. În scopul protejării pacienților cu CD și/sau DH, toate Asociațiile de studiu al CD din lume recomandă în continuare cu putere reconsiderarea limitei de 200 ppm gluten în alimentele așa-zis „fără gluten”, propusă în trecut, și înlocuirea acesteia cu absența completă din alimentație a oricăror urme de grâu, orz, secară, ovăz, triticales sau părți ale acestora.

Date recente arată că prevalența CD este mult mai mare decât se credea anterior [2], și că sechelele acesteia sunt mai grave, chiar dacă mulți pacienți nu acuză simptome manifeste. Mai jos vor fi trecute în revistă mai multe cercetări recente privind importanța unei GFD stricte la persoanele cu intoleranță la gluten.

Troncone et al. [34], într-un studiu referitor la efectul unor mici cantități de gliadină la copiii cu CD, a semnalat creșteri semnificative ale numărului de limfocite intraepiteliale și scăderea lungimii vililor mucoasei, ambele semne precoce ale leziunilor intestinale. Ei au concluzionat că ingestia cronică a unor mici cantități de gluten provoacă leziuni ale mucoasei intestinale, direct proporționale cu dozele ingerate. Rezultate similare au fost consemnate și de Lovik et al [26], care au constatat prezența de modificări morfologice ale mucoasei intestinale la adolescenții cu forme asimptomatice de CD, care ingerau mici cantități de gluten.

S-a arătat că incidența limfomului intestinal este mai mare la pacienții cu CD. Totuși, această incidență scade după aderarea la GFD. Lewis și Reunala [30] au condus un studiu retrospectiv pe 487 pacienți cu DH, consemnând apariția unui limfom la 8 dintre aceștia, incidența așteptată fiind de 0,21. Toate limfoamele au apărut la pacienți a căror DH fusese controlată fără GFD, sau care fuseseră tratați prin GFD timp de mai puțin de 5 ani. Aceste rezultate sugerează rolul protector al GFD față de instalarea limfomului intestinal la pacienții cu DH și susțin încă o dată

necesitatea ca pacienții să adere la o GFD strictă pe toată durata vieții.

Kasarda [18] a consemnat că pacienții cu DH au devenit asimptomatici după aderarea la o GFD strictă timp de 6 luni. Totuși, indivizii care au consumat gluten, în cantități mai mari sau mai mici, au prezentat rareori ameliorări morfologice la nivelul mucoasei intestinale. Reunala [30], studiind de asemenea pacienții cu DH, au arătat că un aport zilnic de gluten (la nivelul actualmente recomandat, de 0,3%, în alimentele „fără gluten”) a provocat apariția de erupții active. După inițierea, la acești pacienți, a unei diete complet lipsite de gluten, erupția s-a redus la 9 din 10 pacienți, permițând de asemenea și reducerea posologiei de dapsone cu 30-50%.

Demineralizarea osoasă severă a fost de asemenea consemnată ca fiind o altă gravă complicație a CD și DH netratate – chiar și la pacienții adulți cu CD asimptomatică [23]. Non-complianța la GFD crește atât incidența neoplaziilor, cât și pe cea a osteopatiilor, confirmând astfel necesitatea eliminării glutenului. Marsh [23] a subliniat nevoia de a trata și de a preveni osteopatiile severe, asociate cu intoleranța la gluten, printr-un diagnostic precoce și o GFD strictă.

Este evident că GFD strictă este necesară și pentru a scădea riscul de instalare a unor cardiopatii grave, potențial prevenibile, la indivizii cu intoleranță la gluten [23].

### III. Glutenul din cereale

Semințele de cereale sunt constituite din amidon, un polizaharid, și dintr-un amestec complex de proteine.

Glutenul este masa de proteine restantă după extracția amidonului din grâu. Ulterior, utilizarea acestui termen a fost extinsă la toate gramineele

(orz, secară, ovăz, porumb, orez, sorg, trestie de zahăr, teff, rași) pentru a desemna masa de proteine prezentă în semințele acestora.

Glutenul este cel care conferă făinii calitățile elastice indispensabile pentru fabricarea pâinii; practic glutenul este cel care face pâinea să crească. Din acest motiv, speciile de grâu bogate în gluten au fost progresiv selecționate de om în cursul evoluției.

Este vorba deci de un amestec dintr-un număr mare de proteine, încadrate în două familii: prolaminele și gluteninele.

#### Proteinele de stocare din cereale

Peste 70% din proteinele consumate de specia umană sunt derivate din proteinele de stocare din semințele de leguminoase și cereale [20]. Conținutul de proteine al semințelor de leguminoase variază între 20 și 40%, în timp ce în cereale el reprezintă 7-15% din greutatea uscată a seminței. Proteinele de stocare din semințe se acumulează în cotiledonul și embrionul plantelor dicotiledonate, și, respectiv, în endospermul plantelor monocotiledonate. Aceste proteine sunt depozitate în organite specializate, atașate membranei, numite corpi proteici. În leguminoase, proteinele de stocare predominante sunt globuline solubile în săruri, care sunt grupate în două clase, 7S și 11S, în timp ce proteinele de stocare majore ale cerealelor sunt prolaminele, solubile în alcool. Excepție fac ovăzul și orezul, în care proteinele de stocare majore sunt de tip globulinic. Din cauza abundenței acestor proteine în natură, ele sunt în mare parte responsabile de calitatea nutritivă a alimentației umane [19]. Deficitul anumitor aminoacizi esențiali în proteinele din semințe poate, totuși, limita calitatea nutritivă a acestora la animalele monogastrice. În general, proteinele de stocare din cereale sunt deficitare în lizină, treonină și

Tablul I. Prolaminele din diverse cereale și ponderea lor în cadrul masei proteice totale

Cereală	Prolamine	% prolamine din totalul proteinelor
Grâu	$\alpha$ -gliadina (gliadina)	69
Secară	Secalina	30-50
Ovăz	Avenina	16
Orz	Hordeina	46-52
Mei	Panicina	40
Porumb	Zenina	55
Orez	Orzenina	5
Sorg	Cafirina	52

triptofan, iar prolaminele conțin glutamină și prolină în cantități mari, însă numai urme de cisteină și metionină. Majoritatea proteinelor de stocare din semințe sunt codificate de familii multigenice. Aparent, prolaminele au evoluat dintr-o unică genă ancestrală și, în mod similar, proteinele 7S și 11S din leguminoase au evoluat dintr-o proteină ancestrală comună [13]. Sinteza proteinelor de stocare din semințe este controlată în principal la nivelul transcripției, dar poate fi supusă și unor controale post-transcripționale. Transcripția genelor ce codifică proteinele de stocare din semințe este strict reglată spațial și temporal.

### Gramineele

Denumirea științifică a *grâului* din care se face făina pentru pâine este *Triticum aestivum* (*Triticum* reprezintă genul, iar *aestivum* – specia).

Toate speciile aparținând genului *Triticum*, fără excepție (inclusiv cele prezentate ca fiind sărace în gluten, chiar fără gluten) conțin prolamine de tipul  $\alpha$ -gliadinei. Este în special cazul speciilor spelta (*Triticum spelta*), grâului polonez sau kamut (*Triticum polonicum*) și einkorn (*Triticum monococum*). Aceștia li se adaugă triticalul, care este un hibrid de grâu și seară realizat prin inginerie genetică.

Componentele „toxice” în CD și DH sunt unele dintre prolamine, prezente în cantități importante în toate speciile de grâu, orz, seară și tritical (hibrid de biosinteză între grâu și seară).

31 L-G-Q-Q-Q-P-F-P-P-Q-Q-P-Y-P-Q-P-Q-P-F 49  
 31 L-G-Q-Q-Q-P-F-P-P-Q-Q-P-Y 43  
 44 P-Q-P-Q-P-F-P-S-Q-Q-P-Y 55

Fig. 1. Peptide  $\alpha$ -gliadinice (sintetice) a căror activitate în CD și DH a fost demonstrată *in vitro* și *in vivo* [8, 10]

P = PROLINĂ	L = LEUCINĂ
Q = GLUTAMINĂ	Y = TIROZINĂ
F = FENILALANINĂ	G = GLICINĂ

*Secara* (*Secale cereale*) și *orzul* (*Hordeum vulgare*), chiar dacă sunt mai îndepărtate din punct de vedere genetic de *Triticum aestivum* decât spelta sau kamut, conțin proteine cu structuri apropiate de cea a  $\alpha$ -gliadinei (secalina pentru seara, hordeina pentru orz), cu o toxicitate indiscutabilă.

Toxicitatea *ovăzului* în CD și DH a fost evocată în același timp cu cea a grâului, orzului și secarei, de către pediaterul olandez Dicke, în anii 1950. Actualmente pare însă dovedit faptul că ovăzul nu se află la originea nici unei reacții intestinale. Acest lucru este de altfel în acord cu faptul că ovăzul este genetic mai apropiat de porumb și de orez (cereale sănătoase pentru bolnavii de CD și DH) decât de grâu.

Totuși, din cauza fenomenului de rotație a culturilor (culturi de grâu și ovăz, în alternanță, pe aceleași terenuri), din cauza utilizării aceluși materiale la recoltare și stocare, este imposibil să se garanteze absența contaminării ovăzului cu grâu, chiar dacă aceasta este probabil minimă.

Pe de altă parte, conform anumitor studii, prolaminele din ovăz (avenine) s-ar putea afla la originea unei activări anormale a unor celule imunitare (limfocitele T) prezente în mucoasa intestinală, la pacienții cu CD și/sau DH.

Aceasta conduce la excluderea ovăzului din GFD de către majoritatea asociațiilor pentru studiul CD (vezi Tabelul II). Unele dintre acestea sunt mai puțin prudente și propun ca această cereală să nu fie exclusă decât la debutul regimului, pentru a fi apoi reintrodusă secundar, de la caz la caz.

### Alte graminee

#### Porumbul și orezul

Absența toxicității acestora în CD și DH este demonstrată și admisă de toți autorii. Produsele derivate din aceste cereale (făinuri..., etc.) constituie excelente soluții de substituție.

#### Mei, sorg, iarba lui Iov, ragi, teff, trestie de zahăr

Din punct de vedere genetic, aceste cereale sunt mai apropiate de orez și porumb decât de grâu. Din acest motiv, se consideră că ele nu prezintă toxicitate pentru pacienții cu CD și/sau DH. Totuși, acest lucru nu poate fi demonstrat cu claritate decât prin studii controlate. De asemenea, există și un risc, cel puțin teoretic, de contaminare cu grâu a acestor cereale. Utilizarea acestora la bolnavii cu CD și/sau DH rămâne deci mai mult o chestiune de opțiune decât un fapt demonstrat științific. Astfel, majoritatea asociațiilor științifice din domeniu nu se pronunță în favoarea autorizării fără rezerve a utilizării lor în regimul FG.

### **Toxicitatea altor vegetale**

Unii autori, și în special *Celiac Sprue Association* din SUA, evocă o anume toxicitate a quinoa, hriștii și amarantului, care totuși nu fac parte din familia gramineelor. O altă vegetală implicată este și rapița, din semințele căreia se extrage și un ulei comestibil, comercializat sub denumirea de ulei canola.

Argumentele invocate sunt numeroasele relatări ale unor cazuri de „intoleranță” la pacienții cu CD, precum și lipsa unor studii științifice referitoare la aceste vegetale. Din aceste motive de precauție, este recomandată evitarea lor.

Problema este că regimul FG este deja extrem de restrictiv, iar interzicerea quinoa și a hriștii, care pot constitui excelenți înlocuitori ai făinii de grâu, trebuie să fie motivată.

La fel ca în lumea animală, și în regnul vegetal există foarte importante diferențe genetice. Două plante cu flori pot semăna, pe plan genetic, la fel de mult ca și o omidă cu un mistreț.

Astfel, hrișca, quinoa, amarantul și rapița aparțin subclasei dicotiledonate, deci unor familii foarte îndepărtate genetic de cea a grâului (subclasa monocotiledonate).

Reacțiile de intoleranță descrise la aceste vegetale sunt desigur autentice și numeroase, însă fără legătură cu CD în sine. De fapt, orice proteină vegetală sau animală se poate afla la originea unor manifestări de intoleranță alergică (laptele de vacă, arahidele, etc.). Mai mult, există numeroase intoleranțe digestive cu mecanisme non-alergice. De exemplu, hrișca poate fi, ca agent fotosensibilizant, responsabilă de instalarea unor erupții cutanate după expunerea la soare. În plus, ea conține cantități importante de acid oxalic (la fel ca și quinoa, amarantul, spanacul sau măcrișul), ce poate provoca diaree, motiv pentru care aceste vegetale sunt de evitat la copiii mici.

Pare deci abuziv să se interzică în bloc bolnavilor cu CD și/sau DH anumite alimente, sub pretextul că acestea pot sta la originea unor manifestări de intoleranță la unii dintre ei (cum de altfel este cazul și în populația generală), ale căror mecanisme fiziopatologice nu au legătură cu CD.

### **Toxicitatea produselor derivate din grâu, orz și secară**

Produsele derivate ce conțin proteine integrale din aceste cereale sunt toxice pentru

bolnavii cu CD și/sau DH: făină, uruială, tărâțe, etc. [8].

Problema devine mai complexă în cazul produselor derivate non-proteice, sau care conțin proteine hidrolizate sau parțial hidrolizate.

### **Produsele derivate non-proteice: amidonul și dextrinele**

*Amidonul* este, ca structură chimică, un polizaharid și nu conține, în sens strict, gluten. Este posibil, totuși, ca amidonurile alimentare provenite din grâu să conțină, provenite din contaminări, (mici) cantități din această proteină, ceea ce conduce asociațiile americană și canadiană să îl excludă din regimul FG, contrar anumitor asociații europene și a numeroși medici. Atitudinea asociației franceze este însă identică cu poziția asociației americane, și anume AFDIAG exclude formal amidonul din grâu din regimul FG.

Această problemă este și mai mult complicată de limitele metodei de dozare actualmente utilizată pentru determinarea cantitativă a conținutului de gluten din amidonul din grâu și din alte alimente [21]. Metodele de testare, folosite pentru analiza glutenului, trebuie să fie foarte sensibile și precise pentru a determina în mod corect toate cele patru fracțiuni proteice [23] cu efecte toxice la pacienții cu CD. Aceste metode trebuie să determine în mod exact conținutul de prolamine toxice din ovăz (avenină), orz (hordeină), secară (secalină) și grâu (gliadină).

Actualele teste ELISA subestimează conținutul real de gliadină din amidonul din grâu și alte alimente ce conțin grâu [17]. Este nevoie de mai multe informații cu privire la acuratețea metodelor ELISA pentru a determina nivelurile de prolamine toxice din secară, orz și ovăz. Skerritt și colaboratorii [21] au pus la punct un test de detectare a prolaminelor în cereale, bazat pe principiul anticorpilor monoclonali. Anticorpul au detectat prolamine cel mai intens în pâinea din grâu, făina dură de grâu, și orz, urmat de secară și apoi de ovăz; în orez, detecția a avut un nivel slab. Autorii afirmă că selectivitatea testului pare adecvată pentru un test de detectare a prolaminelor toxice pentru pacienții cu CD. Sensibilitatea (raportată a fi de aproximativ 1 în 10000 părți) pare adecvată pentru evaluarea

conținutului de gluten din alimentele FG. Pe viitor, dezvoltarea acestor metode va fi de ajutor în clarificarea semnificației clinice a nivelurilor scăzute de prolamine pentru pacienții cu CD.

Skerritt et al. [21] au semnalat că nivelurile proteinelor în amidonul din grâu bine spălat sunt între 0,2-0,3%, și că proteinele de contaminare din amidonul din grâu ar putea prezenta o anumită toxicitate pentru indivizii cu CD. Astfel, recursul la produsele ce conțin amidon din grâu, ca bază pentru manufacturarea alimentelor FG, rămâne foarte îndoielnic.

**Dextrinele** sunt amidonuri parțial hidrolizate. Toate amidonurile, inclusiv cel din grâu, pot fi utilizate la fabricarea acestora. Există deci un risc teoretic de contaminare a dextrinelor cu gluten sau cu fragmente peptidice de gluten. Acest fapt conduce anumiți autori să excludă dextrinele din regimul FG.

**Maltodextrinele**, utilizate ca aditivi în industria alimentară, sunt obținute prin același proces de fabricație.

AFDIAG nu exclude nici dextrinele, nici maltodextrinele, din regimul FG; CSA americană, cu toate că este în general extrem de prudentă, are aceeași atitudine (în Statele Unite, maltodextrinele sunt fabricate exclusiv din amidon de porumb; în Europa însă acest lucru nu poate fi garantat).

**Produsele derivate fabricate prin hidroliza proteinelor din grâu, orz și secară**

**Malțul și aromele și extractele din malț**

Malțul de orz este fabricat din orzul germinat, uscat și apoi măcinat în făină.

Chiar dacă, în cursul procesului de germinare, proteinele din orz sunt supuse acțiunii enzimelor proteolitice, pot rămâne prolamine toxice. În unanimitate, autorii exclud acest malț din regimul FG.

Aromele de malț sunt obținute prin spălarea cu apă de malț: prolaminele fiind peptide mici (10-12 aminoacizi), acest proces de fabricație nu poate garanta absența contaminării acestor molecule aromatice cu aceste peptide. Totuși, prolaminele din gluten nu sunt probabil prezente decât sub formă de urme în aromele de malț și, prin extrapolare, în preparatele alimentare ce conțin arome.

Unele asociații (AFDIAG) autorizează aceste arome, altele le exclud (CSA americană). În lipsa unor studii precise, un grad de incertitudine rămâne: urme de prolamine din gluten pot fi prezente în aromele de malț, însă toxicitatea lor, în aceste doze, este improbabilă. Fără a interzice formal aceste arome, este necesară avertizarea pacienților cu privire la potențialele riscuri.

**Proteinele vegetale și plantele parțial hidrolizate (utilizate ca excipienți)**

Dacă acești excipienți conțin grâu, orz, secară și, conform multor autori, chiar ovăz, majoritatea asociațiilor le exclud din regimul FG. Structura prolaminelor, peptide de dimensiuni mici (aproximativ 12 aminoacizi) poate fi perfect conservată după hidroliza parțială a glutenului.

**Toxicitatea ovăzului**

Până de curând (1995) ovăzul a fost complet exclus din GFD, împreună cu grâul, orzul și secara. Încadrarea ovăzului printre cerealele ce conțin gluten a fost făcută pe baza secvenței sale de aminoacizi și pe baza relațiilor pacienților cu CD, privind problemele apărute la introducerea ovăzului în GFD.

După cum s-a definit anterior, glutenul este compus din două grupuri de proteine. Primele sunt gliadinele, care sunt solubile în soluții alcoolice, iar cel de-al doilea grup este reprezentat de glutenine, care nu sunt solubile în soluții alcoolice, ci în unele soluții de săruri.

Gliadinele se separă în alfa, beta și gama gliadine, ce conțin legături disulfidice intramoleculare. Acestea leagă între ele diferitele părți ale lanțurilor polipeptidice. Omega-gliadinele nu conțin legături disulfidice, ceea ce înseamnă că ele nu conțin cisteină (sau probabil metionină) în structura lor primară. Astfel, alfa, beta și gama-gliadinele sunt definite ca toxice pentru bolnavii cu CD, în timp ce omega-gliadinele sunt considerate non-toxice.

Există două secvențe de aminoacizi care s-au dovedit a fi toxice în alfa, beta și gama-gliadine: Pro-Ser-Ser-Gln și Gln-Gln-Gln-Pro. [Pro=prolină, Gln=glutamină, Ser=serină]. Omega-gliadinele nu conțin aceste secvențe.

Tabelul II prezintă similaritățile între secvențele de aminoacizi ale unor cereale și cea a adenovirusului intestinal uman tip 12 [9, 11].

Tabelul II. Asemănări între secvențele de aminoacizi ale unor cereale și ale adenovirusului intestinal uman tip 12

Prolamine	Secvență de aminoacizi
Alfa, beta și gama gliadine (grâu, toxice)	-Pro-Ser-Gln-Gln-...-Gln-Gln-Gln-Pro-
Gluteline IIMW (grâu, toxice)	-Pro-Ser-Gln-Gln-...
Gluteline LMW (grâu, toxice)	-Pro-Ser-Gln-Gln-...-Gln-Gln-Gln-Pro-
Avenină (ovăz, toxică)	-Gln-Gln-Gln-Pro
Secalină (secară, toxică)	-Pro-Gln-Gln-Gln-
Gama hordeină (orz, toxică)	-Pro-Ser-Val-Gln-
Zeină (porumb, netoxică)	-Gln-Gln-Gln-Gln-
Ad 12 E1b (virus, toxic)	-Pro-Ser-Gln-Cys-

Notă: orezul nu conține nici o secvență similară de aminoacizi.

[Pro=prolină, Gln=glutamină, Ser=serină, Val=valină, Cys=cisteină.]

Proteina din ovăz, avenina, se află în aceeași categorie a prolaminelor ca și gliadina din grâu, zeina din porumb, secalina din secară și hordeina din orz. Aceste proteine au caracteristici generale comune, și anume: sunt insolubile în apă și alcool absolut; sunt solubile în alcool 70%; sunt bogate în prolină și azot aminat; și sunt prezente în semințele de cereale. Zeina din porumb este netoxică și nu conține secvențele aminoacidice similare din alte proteine reactive sau toxice din cereale, legate de nevoile specifice ale GFD clinice. În mod asemănător, nici orizenina din orz nu conține secvențele aminoacidice toxice pentru pacienții cu CD și/sau DH.

Totuși, începând din 1995, mai multe studii, în special europene, au raportat că ovăzul pare a fi sigur și bine tolerat la pacienții cu CD și/sau DH, în special adulți și adolescenți [4]. Collin și Reunala [31] au investigat 11 pacienți cu DH aflați în remisiune sub GFD, și care au primit 50 g ovăz zilnic, timp de 6 luni. Au fost urmărite simptomatologia clinică, anticorpii EmA-IgA, au fost efectuate biopsii tegumentare și de intestin subțire (urmărindu-se arhitectura vilozitară, densitatea limfocitelor intraepiteliale CD3+, alfabeta+ și gamadelta+). Toate acestea au rămas neschimbate pe toată perioada în care pacienții au consumat ovăz, nesemnălându-se acutizări ale erupției din DH în urma consumului de ovăz, comparativ cu grupul-martor. De asemenea, Hardman et al. [28] au investigat 10 pacienți cu DH, aflați sub GFD în medie de 15,8 ani, care controla atât erupția, cât și enteropatia. Pacienții au adăugat în dietă ovăz necontaminat cu gluten timp de 12 săptămâni (consum zilnic, în medie 65 g). Nici unul dintre acești pacienți nu a acuzat efecte adverse. Depozitele de IgA dermice nu au prezentat modificări semnificative, testele serologice au rămas negative, arhitectura

vilozitară a rămas normală, la fel ca și numărul de limfocite intraepiteliale din intestin și înălțimea medie a enterocitelor. Autorii au concluzionat că pacienții cu DH pot include cantități moderate de ovăz în GFD, fără efecte nocive pentru tegument sau intestin.

În 1999, Hallert et al. [25] au sintetizat rapoartele publicate, la care au adăugat și propria lor experiență legată de includerea ovăzului în GFD. Concluzia lor a fost că ovăzul, un aliment natural bogat în fibre, ar putea lărgi gama de alimente tolerabile de către pacienții cu CD și/sau DH, chiar dacă, din motive de siguranță, utilizarea sa ar trebui limitată la adulți până apariția de studii mai amănunțite, în special la copiii mai mici de 8 ani.

Toate aceste studii se află însă în dezacord cu mai multe studii americane de chimie alimentară privind prolaminele [1, 6, 15], studii care, pe baza structurii chimice, susțin includerea aveninei în proteinele toxice pentru GFD. Există de asemenea și problema contaminării cu grâu a produselor din ovăz, care nu poate fi niciodată eliminată în întregime. Pe de altă parte, este posibil ca leziunile provocate de ovăz să nu poată fi evidențiate numai prin monitorizarea pacienților în intervalul maxim de 6 luni alocat acestor studii, ele putând avea efecte mai tardive.

Problema (ne)includerii ovăzului în GFD rămâne controversată, cercetătorii din SUA adoptând o atitudine mai prudentă și ezitând să modifice principiile și restricțiile GFD actuale, chiar la acei pacienți cu CD și/sau DH aflați în remisiune. Există actualmente mai multe studii controlate în curs de desfășurare, ale căror rezultate vor arăta dacă ovăzul poate fi inclus în GFD sau nu. La ora actuală, ovăzul nu este recomandat.

#### IV. Metode de evaluare a glutenului din alimentele uzuale

Separarea prolaminelor din cereale se efectuează prin metoda clasică a extracției cu solvenți, iar diferitele gliadine sunt separate prin metode variate, printre care cromatografia și electroforeza. Recent, în mai multe laboratoare (din SUA și alte țări) au fost puse la punct mai multe metode de estimare a gliadinelor în făina de grâu și alte făinuri de cereale, precum și în făinurile fără gluten.

Cu ajutorul unui test RIA (radio immunoassay) pentru estimarea alfa- și beta-gliadinelor în făina de grâu, s-a arătat că conținutul acestor două gliadine variază între 1,2-3,3% din substanța uscată. Pragul de sensibilitate al metodei a fost de 1 mg alfa- sau beta-gliadină. Datele sugerează că pot exista mari variații în conținutul de gluten al diverselor făinuri fără gluten. Cercetări mai amănunțite sugerează că acest sensibil test RIA ar putea fi folosit pentru definirea standardelor de adecvare a produselor FG (fără gluten), pe baza testelor pentru amidonul din grâu, pentru pacienții cu CD. Autorii notează că micile cantități de gliadină, aflate în alimentele așa-zis FG, pot avea o deosebită importanță la pacienții foarte sensibili cu CD, dacă sunt consumate în mod regulat.

Un test ELISA a constatat că conținutul de gliadină al unei coji de pâine este de doar 0,5-40% din conținutul făinii originale! Alte trei tipuri de teste imunochimice au decelat valori de activitate relativă de 5,7 pentru făina de grâu și 0,047 pentru ovăz. Alimentele FG, cu sau fără componente derivate din grâu, au avut valori ale activității relative similare cu cele ale ovăzului și porumbului.

Kaukinen et al. [27] au investigat siguranța alimentelor FG pe bază de amidon de grâu în tratamentul intoleranței la gluten. Studiul lor a cuprins 41 copii și adulți cu CD și 11 adulți cu DH, tratați prin GFD pe o durată medie de 8 ani. Pentru comparație, au fost investigați 35 pacienți cu CD nou diagnosticată, în momentul diagnosticului și la 6 și 24 luni după inițierea GFD, precum și 27 pacienți non-CD, cu simptomatologie de tip dispeptic. Au fost calculate aportul zilnic de gluten din alimentație și aportul de amidon din grâu. Au fost urmărite arhitectura vilozitară a mucoasei intestinului subțire,

limfocitele intraepiteliale CD3+, alfabetă+ și gamadelta+, exprimarea HLA-DR la nivelul mucoasei, precum și anticorpii serici anti-endomisium, anti-reticulină și anti-gliadină. Rezultatele au arătat că produsele FG din amidon din grâu nu lezează integritatea mucoasei în condițiile respectării GFD stricte, și nici nu provoacă o creștere a exprimării HLA-DR la nivelul mucoasei. Autorii au concluzionat în favoarea inofensivității produselor FG din amidon din grâu în tratamentul CD și DH.

Vainio și Varjonen [29] au comparat răspunsul umoral al pacienților cu DH și CD la prolaminele alcool-solubile din grâu, secară, orz, ovăz și porumb prin două metode: imunoblotting și anticorpi monoclonali. Rezultatele, prin ambele metode, au arătat o largă reactivitate a serului pacienților cu polipeptide cu greutate moleculară între 30-68 kD, sugerând legarea anticorpilor monoclonali de secvențe repetitive de glutamină, conținute în polipeptidele gliadinice. În peptidele toxice pentru mucoasa intestinală în CD sunt incluse și secvențe de tipul Pro-Ser-Gln-Gln și Gln-Gln-Gln-Pro. Studiul a indicat că răspunsul umoral al pacienților cu DH și CD poate detecta structuri similare din cereale, inclusiv prolaminele din ovăz, și chiar un polipeptid de 22 kD extras din porumb. Semnificația acestei largi reactivități rămâne însă incertă, fiind necesară caracterizarea detaliată a epitopilor antigenici din diferitele cereale.

Sudhalekshmy et al. [32] au izolat o fracțiune proteică alergenă din glutenul din grâu, prin schimbare de ioni și cromatografie de filtrare în gel. Masa moleculară a acestei proteine s-a dovedit a fi 65 kD, prin electroforeză în gel de dodecilsulfat de sodiu. Teste de tip Western blot au confirmat că această proteină de 65 kD este fracțiunea alergenă majoră ce cauzează DH, precum și faptul că aminoacizii majori din compoziția sa sunt acidul glutamic și prolina.

#### V. Reacții la tratamentul dietetic

Numeroși cercetători au consemnat variații interindividuale ale răspunsului la GFD sau ale provocărilor glutenice. Autori citați de O'Keefe [33] au testat răspunsul copiilor refăcuți după CD, cărora li s-au administrat zilnic doze de 2,25 g gluten din grâu, consemnând, într-o serie de 12 pacienți, reparația simptomelor CD într-un

interval de 1-15 luni. Pe de altă parte, 6 din 10 pacienți supuși testelor de provocare cu ovăz au suferit efecte toxice, sugerând o toxicitate neuniformă a acestor cereale în rândul pacienților. În condițiile nerestricționării aportului de gluten din grâu, s-a constatat, într-o serie de 40 copii, că revenirea mucoasei tratate la stadiul de aplatizare a durat până la 35 luni și, în câteva cazuri, 3-4 ani. Pe un lot de 36 copii, intervalul a fost de 4-35 luni.

În testarea efectelor diverselor cereale la pacienții cu CD tratați, Shewry et al. [7] au constatat că, după o provocare cu orz, chiar dacă toți pacienții au rămas asimptomatici, a existat o scădere dramatică a activității dizaharidazei. După administrarea de secară la 2 pacienți, unul a rămas asimptomatic, însă cu leziuni ale mucoasei, iar la amândoi pacienții s-a constatat scăderea activității dizaharidazei. Autorii au notat de asemenea că gradul de lezare a mucoasei a fost variabil la diferiți pacienți, chiar dacă toți mâncau aceeași cantitate dintr-o anumită cereală. Ei sugerează că există o variabilitate inerentă între pacienții cu CD, ce poate fi responsabilă de larga variabilitate a sensibilității la boală a subiecților aflați sub o dietă ce conține gluten. Variabilitatea răspunsului poate de asemenea explica, măcar parțial, diferența între efectele ovăzului la pacienții cu CD, observată de numeroși autori și cercetători.

După o provocare glutenică, leziunile mucoasei apar de obicei înaintea simptomatologiei digestive. Shewry et al [7] au concluzionat că simptomele intestinale nu sunt utile ca ghid de estimare a efectelor nocive ale cerealelor. Același grup a observat apariția de leziuni histologice la câteva ore după provocare. În altă serie de pacienți, nu s-au observat efecte măsurabile asupra morfologiei mucoasei la 10 pacienți după administrarea de făină din amidon de grâu, însă 4 dintre aceștia prezentau simptome intestinale semnificative. Diferențele între aceste observații pot reflecta fie o variabilitate a răspunsurilor interindividuale, fie efectele diferite ale diferitelor cantități de gluten administrate în cadrul testelor de provocare.

#### **Relația doză-timp în răspunsul la GFD**

Au fost făcute mai multe încercări de a determina nivelul de la care glutenul sau gliadina devin toxice. Autori citați de Kasarda [3] au

efectuat o evaluare dietetică a 38 pacienți cu CD confirmată. Toți primiseră ca prescripție o dietă fără gluten. Pacienții au fost împărțiți în 3 categorii, în funcție de aportul estimat de gluten, și anume: fără gluten, cantități mici de gluten, sau cantități mari (0,5 g/zi) de gluten. Rezultatele au arătat că pacienții din grupul fără gluten erau toți asimptomatici, în timp ce aceia care consumau gluten în cantități mari nu au prezentat ameliorări (sau numai ameliorări ne semnificative) ale structurii mucoasei, chiar dacă starea clinică a tuturor s-a ameliorat în momentul în care au renunțat la dieta obișnuită, cu aproximativ 7 g gluten/zi.

Kasarda și Qualset [16] au testat consumul unei felii de pâine pe zi la 12 copii cu CD și GFD, constatând reapariția simptomelor la toți pacienții, însă după intervale de timp variabile.

Pe baza datelor limitate disponibile, se poate concluziona că un aport de 1-2 mg gliadină pe zi este toxic. După cum este de așteptat, toxicitatea gliadinei este legată atât de doză, cât și de durata de timp a administrării. Ambele aceste aspecte trebuie luate în considerare de către pacienții cu CD și/sau DH, în momentul introducerii în alimentație a unor noi produse, cu noi combinații de ingrediente.

## **VI. Concluzii**

Datele științifice cunoscute, referitoare la CD, proteinele aflate la originea problemei, și cerealele care conțin aceste proteine, se află într-o continuă amplificare și dezvoltare. Chiar dacă mai rămân multe lucruri de făcut, de-a lungul anilor s-au înregistrat progrese constante.

GFD pe toată durata vieții reprezintă tratamentul confirmat pentru pacienții cu CD și/sau DH [24]. Actualmente excluse din GFD sunt atât grâul, orzul și secara, cât și ovăzul. În ultimele decenii, tabloul clinic al CD s-a modificat, ca urmare a îmbunătățirii uneltelor de diagnostic. Studii clinice controlate din ultimii ani arată că unii pacienți pot tolera mici cantități de ovăz în GFD. În consecință, pacienții se pot simți derutați în privința recomandărilor dietetice în boala lor. Complanța la GFD este esențială pentru menținerea creșterii și dezvoltării, a stării generale, fertilității, densității osoase, precum și a unui risc scăzut de deficite nutriționale și neoplazii. Consensul privind

tratamentul dietetic este esențial. Medicul care pune diagnosticul este cel responsabil de inițierea și urmărirea adecvată a GFD, iar tot personalul medical implicat în îngrijirea pacienților trebuie să dea sfaturi clare, precise și necontradictorii în timp.

Dat fiind că efectele nocive ale glutenului din grâu sunt de lungă durată, indiferent de vârsta debutului sau de forma de manifestare a bolii, necesitatea GFD la pacienții cu CD și/sau DH se menține pe durata întregii vieți. Sursele din literatură sunt unanime în a afirma că, nedispunând de mijloace de a prevedea viitoarele răspunsuri la gluten, cea mai sigură strategie terapeutică este ca pacienții cu CD și/sau DH să adere la GFD pe termen indefinit.

Intrat în redacție: 20.04.2007

## Bibliografie

1. Kasarda, D.D., D'Ovidio, R.: Amino acid sequences and the alpha-gliadin gene from spelt wheat (*Spelta*) includes sequences involved in celiac disease. *Cereal Chem* 1999, 76:548-551.
2. Kasarda, D.D.: Celiac Disease. In: Syllabus of the North American Society for Pediatric Gastroenterology & Nutrition, 4th Annual Postgraduate Course, Toronto, Ontario, Canada; 1997, pp. 13-21.
3. Kasarda, D.D.: Gluten and gliadin: precipitating factors in celiac disease. In *Celiac Disease: Proceedings of the 7th International Symposium on Celiac Disease*, Sept. 5-7, 1996, Tampere, Finland.
4. Srinivasan, U., Leonard, N., Jones, E., et al.: Absence of oats toxicity in celiac disease. *British Medical Journal* 1996, 313:1300-1301.
5. Tatham, A.S., Fido, R.J., Moore, C.M., et al.: Characterization of the major prolamins of *tef* (*Eragrostis tef*) and finger millet (*Eleusine coracana*). *J Cereal Sci*, 1996, 24:65-71.
6. Kasarda, D.D.: Defining cereal toxicity in celiac disease. In: *Gastrointestinal Immunology and Gluten-Sensitive Disease*, Feighery, C., and O'Farrelly, F., eds.; Oak Tree Press, Dublin, 1994, pp. 203-220.
7. Shewry, P.R., Tatham, A.S., Kasarda, D.D.: Cereal proteins and celiac disease, pp. 305-348. In: Marsh, M.N. (ed.): *Celiac Disease*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 1992.
8. DeRitis, G., Auricchio, S., Jones, H.W., et al.: *In vitro* (organ culture) studies of the toxicity of specific  $\alpha$ -gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology*, 1988, 94:41-49.
9. Kagnoff, M.F., Patterson, Y.J., Kumar, P.J., et al.: Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *Gut* 1987,28:995-1001.
10. Levenson, S.D., Austin, R.K., Dietler, M.D., et al.: Specificity of antigliadin antibody in celiac disease. *Gastroenterology* 1985,89:1-5.
11. Kagnoff, M.F., Austin, R.K., Hubert, J.J., et al.: Possible role of a human adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *J Exp Med* 1984, 160:1544-1557.
12. Kagnoff, M.F., Austin, R.K., Johnson, H.C.L., et al.: Celiac sprue: correlation with murine T cell responses to wheat gliadin components. *J Immunology* 1982, 82:1296-2693.
13. Kasarda, D.D.: Toxic proteins and peptides in celiac disease – relation to cereal genetics. In: *Food, Nutrition, and Evolution: Food as an Environmental Factor in the Genesis of Human Variability*. Walcher, D., and Kretchmer, N. (eds.), Masson Publishing, USA, NY, 1981, pp. 201-216.
14. Falchuk, S.M., Nelson, D.L., Katz, A.J., et al.: Gluten-sensitive enteropathy: influence of histocompatibility type on gluten sensitivity in vitro. *J Clin Invest* 1980, 66:227-233.
15. Kasarda, D.D.: The relationship of wheat proteins to celiac disease. *Cereal Foods World* 1978, 23:240-244.
16. Kasarda, D.D., Qualset, C.O., Mecham, D.K., et al.: A test of the toxicity of bread made from wheat lacking  $\alpha$ -gliadins coded for the 6A chromosome. In: *Perspectives in Celiac Disease, Proceedings of the 3rd Int. Symposium on Celiac Disease*. McNicholl, B., McCarthy, C.F., and Fottrell, P.F. (eds.), MTP Press Ltd., Lancaster, UK, University Park Press, Baltimore, USA, 1978, pp. 55-61.
17. Bernardin, J.E., Saunders, R.M., Kasarda, D.D.: Absence of carbohydrates in celiac-toxic  $\alpha$ -gliadin. *Cereal Chem*, 1976, 53:612-614.
18. Kasarda, D.D.: Celiac Disease. In: *Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds, Part 2*, Friedman, M. (ed.), Marcel Dekker, New York, 1975, pp. 565-593.
19. Kasarda, D.D., Nimmo, C.C., Bernardin, J.E.: Structural aspects and genetic relationships of gliadins. In: *Celiac Disease, Proceedings of the 2nd International Conference*; Hekkens, W.Th.J.M., and Pena, A.S. (eds.), Stenfert Kroese, Leiden, 1974, pp. 25-36.
20. Krishnan, H., Coe, E.: *Seed Storage Proteins*. USDA Agricultural Research Service, 2002.

21. Skerritt, J., Devery, J., Hill, A.: Gluten Intolerance: Chemistry, Celiac Toxicity, and Detection of Prolamins in Food. *The American Association of Cereal Chemists*, 1990, 35:638-639.
22. Mantzais, G.L., et al.: Cellular Hypersensitivity to a Synthetic Dodecapeptide Derived from Human Adenovirus 12 which resembles a Sequence of A-gliadin in Patients with Celiac Disease. *Scand J Gastroenterol*, 1991, 26:393-398.
23. Marsh, M.N.: Celiac Sprue: Gluten, MHC, and Intestinal Immunopathy. *N Engl J Med*, 1991, 102:333.
24. Rottmann, L.: Rationale for Gluten-Free Foods, *Lifeline*, 1995, XIII, 3, pp. 1-2.
25. Hallert, C., Olsson, M., Storsrud, S., et al.: oats can be included in gluten-free diet. *Lakartidningen*, 1999, 96(30-31):3339-40.
26. Lovik, A., Fluge, D., Dybdahl, J.H., et al.: Dietary treatment of celiac disease. *Tidsskr Nor Laegeforen*, 1999, 119(13):1888-91.
27. Kaukinen, K., Collin, P., Holm, K., et al.: Wheat starch-containing gluten-free flour products in the treatment of celiac disease and dermatitis herpetiformis – a long-term study. *Scand J Gastroenterol*, 1999, 34(2): 163-9.
28. Hardman, C.M., Garioch, J.J., Leonard, J.N., et al.: Absence of toxicity of oats in patients with dermatitis herpetiformis. *N Engl J Med*, 1997, 337(26):1884-7.
29. Vainio, E., Varjonen, E.: Antibody response against wheat, rye, barley, oats and corn: comparison between gluten-sensitive patients and monoclonal antigliadin antibodies. *Int Arch Allergy Immunol*, 1995, 106(2):134-8.
30. Reunala, T.: Dermatitis herpetiformis – celiac disease of the skin. *Ann Med* 1998, 30(5):416-8.
31. Reunala, T., Collin, P., Holm, K., et al.: Tolerance to oats in dermatitis herpetiformis. *Gut*, 1998, 43(4):490-3.
32. Sudhalekshmy, R., Augusti, K.T., Vijayadharan, M., et al.: Purification of an allergenic protein fraction from wheat grain. *Indian J Biochem Biophys*, 1998, 35(3):189-92.
33. O'Keefe, S.J.: Nutrition and gastrointestinal disease. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 1996, 22052-9.
34. Troncone, R., Greco, L., Auricchio, S.: Gluten-sensitive enteropathy. *Pediatr Clin North Am*, 1996, 43(2):355-73.