

CERTEZZE, DIFFICOLTÀ E DUBBI NELLA DIAGNOSI DI CELIACHIA

LIBRO degli ABSTRACTS

5° CONVEGNO NAZIONALE AIC
3° WORKSHOP RICERCA FC

4 NOVEMBRE 2016



promosso da



con il patrocinio di



LIBRO degli ABSTRACTS

**5° CONVEGNO NAZIONALE AIC
3° WORKSHOP RICERCA FC**

INDICE

Locandina p. 5

PREFAZIONE *M. Silano* p. 7

I SESSIONE. 5° CONVEGNO NAZIONALE AIC: CERTENZE, DIFFICOLTÀ E DUBBI NELLA DIAGNOSI DI CELIACHIA

Tavola Rotonda
"Celiachia potenziale: approccio clinico, diagnosi e biopsia,
follow up e dieta"
*Elena Lionetti e Renata Auricchio (nel bambino),
Umberto Volta e Federico Biagi (nell'adulto)*
Moderatore: R. Troncone p. 11

Casi clinici difficili: presentazione di 7 casi clinici difficili dal territorio
Introduzione e moderazione: G.R. Corazza p. 14

Raccomandazioni Cliniche Donna e Celiachia
G. Guariso, M. Silano p. 23

II SESSIONE. 3° WORKSHOP RICERCA FC

MODERATORI: O. LOVELLO, M. SILANO

Progress and Final Scientific Reports Grant FC

Final Report Grant annuale 014_FC_2014: G. Del Pozzo p. 23

Progress Report Grant biennale 007_FC_2014: L. Sacchetti p. 24

Progress Report Grant triennale 017_FC_2014: M. Caproni p. 26

Progress Report Grant triennale 013_FC_2014: A. Carroccio p. 27

Progress Report Grant biennale 016_FC_2015: R. Ciccocioppo p. 29

PROGRAMMA

- 09.00 > 10.00** Registrazione dei partecipanti
10.00 > 10.10 Introduzione ai lavori
Giuseppe Di Fabio - Presidente AIC
10.10 > 10.20 Saluti Autorità
Giuseppe Ruocco - Direttore Generale del Ministero della Salute

I SESSIONE

5° CONVEGNO NAZIONALE AIC: CERTEZZE, DIFFICOLTÀ E DUBBI NELLA DIAGNOSI DI CELIACHIA

- 10.20 > 11.20** Tavola Rotonda "Celiachia Potenziale:
approccio clinico, diagnosi e biopsia, follow up e dieta"
*Elena Lionetti e Renata Auricchio (nel bambino),
Umberto Volta e Federico Biagi (nell'adulto)*
Moderatore: Riccardo Troncone
11.20 > 11.35 Discussione
11.35 > 13.05 Casi clinici difficili: presentazione di 7 casi clinici difficili dal territorio*
Introduzione e Moderazione Gino Roberto Corazza
13.05 > 13.30 Discussione
13.30 > 14.30 Lunch
14.30 > 14.50 Raccomandazioni Cliniche • Donna e Celiachia
Graziella Guariso e Marco Silano

II SESSIONE

3° WORKSHOP RICERCA FC

MODERATORI: MARCO SILANO E ORNELLA LOVELLO

- 14.50 > 15.05** Open Day Bando FC 2017
Ivana Losa
15.05 > 15.15 Discussione

Progress and Final Scientific Reports Grant FC

- 15.15 > 15.40** Progress Report Grant biennale 007_FC_2014
Lucia Sacchetti
15.40 > 16.05 Final Report Grant annuale 014_FC_2014
Giovanna Del Pozzo
16.05 > 16.30 Progress Report Grant triennale 017_FC_2014
Marzia Caproni
16.30 > 16.55 Progress Report Grant triennale 013_FC_2014
Antonio Carroccio
16.55 > 17.20 Progress Report Grant biennale 016_FC_2015
Rachele Ciccocioppo
17.20 > 17.30 Remarks finali e conclusioni
Ornella Lovello • Pres. Fondazione Celiachia
17.30 > 18.00 Questionario di valutazione dell'apprendimento

*Relazione con sessione di domande in televoto e successiva discussione

DIRETTORE SCIENTIFICO

Marco Silano

Coordinatore del Board del Comitato Scientifico AIC • Direttore del Reparto Alimentazione, Nutrizione e Salute - Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare - Istituto Superiore di Sanità • Roma

MODERATORI E RELATORI

Renata Auricchio

Dip. di Pediatria e Laboratorio Europeo per lo Studio delle Malattie indotte da Alimenti, Università degli Studi Federico II • Napoli

Federico Biagi

Dip. Medicina Interna e Gastroenterologia, Policlinico San Matteo • Pavia

Marzia Caproni

Dip. Medicina Interna, Azienda Sanitaria Firenze • Firenze

Antonio Carroccio

Dip. Biomedico di Medicina Interna e Specialistica, Università di Palermo • Palermo

Rachele Ciccocioppo

Dip. Medicina Interna e Gastroenterologia, Policlinico San Matteo • Pavia

Gino Roberto Corazza

Dip. Medicina Interna e Gastroenterologia, Policlinico San Matteo • Pavia

Giovanna Del Pozzo

Istituto di Genetica e Biofisica "Adriano Buzzati Traverso", CNR • Napoli

Giuseppe Di Fabio

Presidente Associazione Italiana Celiachia

Graziella Guariso

Università degli Studi di Padova • Padova

Elena Lionetti

Clinica Pediatrica, Università Politecnica delle Marche • Ancona

Ivana Losa

Vice Presidente Fondazione Celiachia

Ornella Lovello

Presidente Fondazione Celiachia

Lucia Sacchetti

Genetica Medica, CEINGE - Biotecnologie Avanzate - S.C.A R.L. • Napoli

Marco Silano

Direttore del Reparto Alimentazione, Nutrizione e Salute - Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità • Roma

Riccardo Troncone

Dip. di Scienze Mediche Traslazionali, Università degli Studi Federico II • Napoli

Umberto Volta

Dip. di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Bologna • Bologna

PREFAZIONE

LA CELIACHIA POTENZIALE NEL QUADRO ATTUALE DI CERTEZZE, DIFFICOLTÀ E DUBBI NELLA DIAGNOSI DI CELIACHIA

*Marco Silano - Coordinatore Board del Comitato Scientifico AIC
Reparto Alimentazione, Nutrizione e Salute, Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e
Sicurezza Alimentare - Istituto Superiore di Sanità - Roma*

Questa è la quinta edizione del convegno nazionale sulla celiachia e rete medico-scientifica organizzato dall'Associazione Italiana Celiachia. La scorsa edizione è stata dedicata alla diagnosi di celiachia, in seguito alla pubblicazione in Gazzetta Ufficiale n. 191/2015 del nuovo protocollo per la diagnosi e il follow-up della celiachia, in aggiornamento alle Linee Guida per la Diagnosi e il Follow-up della Celiachia pubblicate in Gazzetta Ufficiale in data 7 Febbraio 2008. Il protocollo contiene due flow chart, una per la diagnosi della celiachia in età pediatrica e una per l'età adulta. La prossima pubblicazione del DPCM sui nuovi Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) e le indubbie difficoltà che ancora incontrano i pazienti prima che venga posta la diagnosi di celiachia rendono il tema della diagnosi, o meglio delle difficoltà della diagnosi, l'argomento protagonista del Convegno AIC 2016.

In questa occasione si parlerà di celiachia potenziale, una forma clinica che pone seri dubbi sia di diagnosi sia di trattamento del paziente, il quale potrebbe non sviluppare mai una celiachia florida. E si parlerà di casi clinici che hanno posto difficoltà diagnostiche: i referenti scientifici delle AIC Territoriali sono stati invitati a presentare casi clinici difficili di celiachia o dermatite erpetiforme. Alcuni sono stati selezionati per la presentazione orale e relativa discussione in televoto. Quest'anno il Convegno assumerà una nuova formula in cui il 5° Convegno Nazionale AIC e il 3° Workshop Ricerca di Fondazione Celiachia costituiscono le sessioni mattutina e pomeridiana di un unico evento aperto a tutta la comunità scientifica italiana. Nella Sessione del 3° Workshop Ricerca FC sono presentati i report scientifici (progress o finali) degli studi finanziati dalla Fondazione mediante Bandi di Ricerca: i ricercatori titolari degli studi finanziati espongono i risultati preliminari o lo studio terminato alla comunità scientifica, offrendo un momento unico di apertura e di rete.

I SESSIONE. 5° CONVEGNO NAZIONALE AIC: CERTEZZE, DIFFICOLTÀ E DUBBI NELLA DIAGNOSI DI CELIACHIA

Moderatore

Marco Silano - Coordinatore Board del Comitato Scientifico AIC; Reparto Alimentazione, Nutrizione e Salute, Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare - Istituto Superiore di Sanità - Roma

Tavola Rotonda “CELIACHIA POTENZIALE: APPROCCIO CLINICO, DIAGNOSI E BIOPSIA, FOLLOW UP E DIETA”

Moderatore R. Troncone

Renata Auricchio *Dip. di Pediatria, Università degli Studi Federico II, Napoli*
Federico Biagi *Clinica Medica 1, Fondazione Policlinico San Matteo, Università di Pavia*
Elena Lionetti¹ *Clinica Pediatrica, Università Politecnica delle Marche, Ancona*
Umberto Volta¹ *Dip. di Scienze Med. e Chir., Università degli Studi di Bologna, Bologna*

¹ *Board del Comitato Scientifico AIC*

Prevalenza e storia naturale della malattia celiaca potenziale nei pazienti adulti

Federico Biagi, Annalisa Schieppati, Simona Agazzi, Gino Roberto Corazza - Centro per la Malattia Celiaca, Medicina I, IRCCS Policlinico San Matteo, Università degli Studi di Pavia

La malattia celiaca potenziale (MCP) è una particolare forma di malattia celiaca (MC) caratterizzata da anticorpi anti-transglutaminasi tissutale/anti-endomisio positivi e da una mucosa duodenale architetticamente preservata, nonostante una dieta contenente glutine [1]. Essa tende ad evolvere in una franca MC, anche se le modalità di questa evoluzione non sono ancora state completamente comprese [2]. Pertanto non è ancora del tutto chiaro se in questi pazienti sia meglio iniziare una dieta priva di glutine fin dalla diagnosi di MCP o se non sia invece preferibile iniziare un follow-up endoscopico per iniziare la dieta solo nel momento in cui venga documentato lo sviluppo di una franca atrofia. In un nostro recente lavoro abbiamo studiato la prevalenza e la storia naturale dei pazienti adulti affetti da malattia celiaca potenziale [3]. Le caratteristiche cliniche di 47 pazienti afferenti la nostra clinica tra settembre 1999 e ottobre 2011 sono state raccolte in modo retrospettivo. Per ogni paziente con MCP sono stati selezionati come controlli due pazienti adulti affetti da malattia celiaca atrofica, appaiati per sesso ed età. Abbiamo effettuato un confronto tra sintomi, patologie associate, familiarità e parametri bioumorali.

La prevalenza della MCP tra i pazienti celiaci adulti diagnosticati direttamente nel nostro centro è intorno al 20%. Non abbiamo trovato differenze statisticamente significative per quanto riguarda l'età alla diagnosi di malattia celiaca, i principali parametri biumorali, la prevalenza dei sintomi alla diagnosi, le patologie associate e la familiarità per malattia celiaca.

La dieta aglutinata è stata iniziata subito dopo la diagnosi in 23 pazienti; 14 degli altri pazienti hanno mantenuto il glutine nella dieta e iniziato un follow-up endoscopico. L'evoluzione in franca atrofia è stata riscontrata in 5 pazienti dopo una media di 12 ± 8 mesi dalla diagnosi iniziale.

Conclusioni: la MCP è una forma di malattia celiaca non così rara come si poteva pensare. Non essendo emerse differenze per quanto riguarda l'età alla diagnosi e le caratteristiche cliniche tra pazienti con malattia celiaca potenziale e malattia celiaca attiva, si potrebbe speculare che la MCP non sia un prodromo della MC, ma che essa costituisca un'entità patologica a sé stante che solo successivamente può evolvere in MC attiva.

Bibliografia

1. Ludvigsson JF et al, *Gut* 2013;62:43-52.
2. Tosco A et al, *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:320-5
3. Biagi F et al, *Scand J Gastroenterol* 2013;48: 537-42

Malattia Celiaca Potenziale dell'Adulto: l'Esperienza del Centro per la Diagnosi ed il Follow-up Celiachia dell'Università di Bologna dal 2004 al 2013

Umberto Volta *Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche dell'Università di Bologna, Board European Society for the Study of Coeliac Disease (ESSCD), Board Associazione Italiana Celiachia (AIC)*

La malattia celiaca potenziale (MCP) è una variante clinica della celiachia caratterizzata dalla positività della sierologia e della genetica in pazienti con mucosa duodenale normale o con incremento dei linfociti intraepiteliali senza atrofia dei villi intestinali. Pur essendo ben definiti i suoi criteri diagnostici, la MCP rimane un'area grigia con molti aspetti ancora non chiariti con particolare riguardo alla sua prevalenza, presentazione clinica, evoluzione e indicazione al trattamento dietetico. Uno studio prospettico di coorte, condotto presso il Centro per la Diagnosi e Follow-up Celiachia dell'Università di Bologna dal 2004 al 2013, ha identificato 77 casi di MCP dell'adulto (59 donne, età mediana 33 anni, range 14-66 anni) (1). I criteri diagnostici di MCP erano: 1) positività per anticorpi antiendomisio (EmA) (marker specifico di celiachia) con o senza anticorpi antitransglutaminasi (tTGA) IgA (nei casi con deficit di IgA positività per EmA/tTGA di classe IgG); 2) positività per HLA-DQ2 e/o -DQ8; 3) biopsia duodenale con istologia di grado 0-1 secondo la classificazione di Marsh-Oberhuber. La prevalenza della MCP dell'adulto è risultata pari al 10.5% delle diagnosi complessive di celiachia nei 10 anni dello studio. Dei 77 casi di MCP, 61 (79%) erano sintomatici e i rimanenti 16 asintomatici. Dei 61 casi sintomatici, 10 (16%) avevano una presentazione classica (diarrea e

calo ponderale), mentre i restanti 51 mostravano un fenotipo non classico caratterizzato da anemia (più frequentemente sideropenica), osteopenia, stomatite aftosa, sintomi da intestino irritabile, reflusso gastroesofageo e aborti ricorrenti. Nessuna differenza significativa è emersa fra forme sintomatiche e asintomatiche per sierologia, istologia duodenale, familiarità per celiachia. EmA e tTGA IgA erano positivi in tutti i casi di MCP eccetto un caso con deficit di IgA, positivo per EmA e tTGA IgG. La quasi totalità dei pazienti erano HLA-DQ2 positivi (solo tre casi con HLA-DQ8). La lesione Marsh 1 era presente nel 75% delle forme sintomatiche e nel 69% di quelle asintomatiche. Un storia familiare di celiachia era ugualmente presente nei due sottogruppi con una prevalenza complessiva del 18%. L'associazione con la patologia autoimmune e con autoanticorpi antinucleo risultava significativamente più frequente nella MCP sintomatica rispetto alla MCP asintomatica. Pur non esistendo linee guida per il trattamento della MCP, alcuni lavori (2, 3) suggeriscono trial di dieta senza glutine (GFD) nei casi sintomatici e dieta libera nei casi asintomatici con frequente follow-up clinico, sierologico e istologico. Basandoci su tali dati, i 61 casi di MCP hanno iniziato una GFD con successivo follow-up per valutarne la risposta sul piano clinico/sierologico, mentre i 16 casi con MCP asintomatica sono rimasti a dieta libera con follow-up clinico/sierologico e istologico rispettivamente ogni 6 mesi e 2 anni. Abbiamo osservato un significativo miglioramento clinico con negativizzazione della sierologia nei pazienti con MCP sintomatica dopo GFD, con l'unica eccezione di lieve persistenza di sintomi riferibili a intestino irritabile e reflusso gastroesofageo in circa il 10% dei casi. Dei 16 casi di MCP asintomatica lasciati a dieta libera con un follow-up da 1 a 10 anni (media 3 anni) solo 1 caso (6%) sviluppava diarrea e anemia con incremento dei titoli anticorpali e con riscontro di atrofia dei villi alla biopsia duodenale. I rimanenti 15 casi rimanevano del tutto asintomatici, 4 presentavano negativizzazione degli EmA e tTGA (entrambi positivi a basso titolo) e le successive biopsie duodenali non evidenziavano comparsa di atrofia dei villi. Il riscontro dei depositi intestinali di IgA verso la transglutaminasi tissutale (TG2) è stato indicato come un possibile marcatore in grado di predire l'evoluzione della MCP verso la celiachia franca con atrofia dei villi. Depositi intestinali di classe IgA verso la TG2 sono stati osservati in 12 dei 20 casi di MCP testati e dei 6 pazienti positivi, lasciati a dieta libera, nessuno ha mostrato segni di evoluzione verso una celiachia franca.

In conclusione, il nostro studio dimostra che: 1) la MCP sintomatica dovrebbe essere trattata con GFD dal momento che l'eliminazione del glutine si associa ad un significativo miglioramento dei sintomi intestinali ed extraintestinali; 2) la MCP asintomatica dovrebbe essere lasciata a dieta libera con un frequente follow-up clinico, sierologico ed istologico dal momento che solo una minima parte di questi pazienti sviluppano un'atrofia dei villi continuando ad assumere glutine.

Futuri obiettivi della ricerca scientifica sono: 1) l'identificazione di marcatori predittivi di evoluzione della MCP verso la celiachia franca con atrofia dei villi; 2) la definizione dei rischi per la salute e la qualità di vita nei casi di MCP lasciati a dieta libera; 3) lo studio dei meccanismi immunoregolatori nella MCP vs la celiachia franca; 4) le differenze genetiche nella MCP vs celiachia franca; 5) il ruolo dell'autoimmunità associata nella MCP.

Bibliografia

1. Volta U et al. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:686-693

2. Kurppa K et al. *Gastroenterology* 2009;136:816-823

3. Auricchio R et al. *Am J Gastroenterol* 2014;109:913-921

Celiachia potenziale: approccio clinico, diagnosi e biopsia, follow-up e dieta

Elena Lionetti *Università Politecnica delle Marche, Ancona; Board Comitato Scientifico AIC*

La malattia celiaca (MC) potenziale è caratterizzata dalla presenza di sierologia positiva per la MC e mucosa duodenale normale o minimamente alterata (Marsh 0-1 secondo la classificazione di Marsh).¹ La storia naturale di questa condizione non è ad oggi nota e ci sono controversie sulla necessità di effettuare una dieta senza glutine e sulla possibilità che evolva nel tempo in una MC conclamata. Abbiamo recentemente valutato la prevalenza e la storia della MC potenziale in una coorte di bambini a rischio familiare di malattia, seguiti dalla nascita fino a 10 anni di età in un trial prospettico multicentrico di intervento nutrizionale supportato dall'Associazione Italiana Celiachia, il cui scopo principale era quello di verificare il ruolo dell'epoca di introduzione del glutine sul rischio di MC (CELIPREV).^{2,3} I neonati con un parente di primo grado affetto da MC sono stati reclutati tra il 2003 e il 2008 su tutto il territorio nazionale e sono stati assegnati in modo casuale a introdurre il glutine a 6 (gruppo A) o 12 mesi (gruppo B). La sierologia per la MC è stata valutata a 15 mesi insieme agli aplotipi HLA e a 2, 3, 5, 8 e 10 anni di età. Le biopsie intestinali sono state eseguite nei casi positivi. In base all'esito dell'esame istologico i bambini sono stati classificati come affetti da MC conclamata e avviati alla dieta senza glutine o da MC potenziale che hanno proseguito una dieta libera con glutine. I bambini con MC potenziale sono stati controllati ogni 6 mesi per i primi 2 anni e successivamente una volta/anno con il dosaggio degli anticorpi per la MC e in caso di persistente positività veniva ripetuta la biopsia duodenale. I fattori discriminanti tra MC conclamata e potenziale sono stati valutati tramite un'analisi di data mining. Su 707 partecipanti, 553 avevano un genotipo HLA predisponente. Di questi, 26 (4.7%) bambini avevano una MC potenziale (Marsh 0: 15 bambini; Marsh 1: 11 bambini). Tutti erano positivi agli anticorpi anti-transglutaminasi e agli anti-endomisio (tranne un caso AGA IgG positivo con deficit di IgA), asintomatici e non presentavano altre patologie autoimmuni. Dopo 8 anni di follow-up dopo la prima biopsia, 20/26 (77%) presentavano una negativizzazione degli anticorpi per la MC, 1 (3.8%) avevano livelli di anticorpi fluttuanti con persistente Marsh 0,3 (11.5%)

avevano iniziato una dieta priva di glutine per scelta dei genitori. In due bambini (7.7%) è stata ripetuta la biopsia (1 caso per persistente positività e 1 per anticorpi fluttuanti) e presentavano uno score di Marsh 3 e sono stati riclassificati come celiaci conclamati. I fattori predittivi di MC potenziale erano l'assenza di sintomi, il livello di tTG < a 11 volte il valore di normalità, l'età inferiore a 24 mesi e la durata dell'allattamento materno superiore a 8 mesi. Il follow-up a lungo termine su un ampio numero di bambini ci fornirà ulteriori informazioni sulla storia naturale di questa condizione.

In conclusione, la prevalenza di MC potenziale nei bambini a rischio familiare di MC è elevata e la percentuale di negativizzazione degli anticorpi della celiachia è alta. Pertanto, nei bambini asintomatici con una sierologia positiva, la decisione di effettuare la biopsia intestinale dovrebbe essere preceduta da un periodo di follow-up con ripetizione dei test sierologici.

Bibliografia

1. Fasano A, Catassi C, Celiac disease. *N Engl J Med* 2012; 367:2419-26.
2. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Tonutti E, Amarrì S, et al. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med* 2014; 371(14):1295-303.
3. Lionetti E, Castellaneta S, Pulvirenti A, Tonutti E, Francavilla R, Fasano A, et al. Prevalence and natural history of potential celiac disease in at-family-risk infants prospectively investigated from birth. *J Pediatr* 2012; 161(5):908-14.

Celiachia Potenziale nell'età pediatrica

Renata Auricchio *Dip. di Pediatria, Università degli Studi Federico II, Napoli*

La celiachia potenziale rappresenta circa il 10% delle diagnosi che vengono effettuate presso il nostro Centro. Nella maggior parte dei casi, sono bambini asintomatici appartenenti a categorie a rischio (familiari di primo grado e soggetti con altre patologie autoimmunitarie, diabete di tipo 1 o tiroidite di Hashimoto).

Ancora oggi non c'è unanime accordo sulla gestione dietoterapeutica di questi pazienti, scopo del nostro studio è stato quello di approfondire la storia naturale di questa condizione e cercare di identificare fattori di rischio che possano predire al momento della diagnosi la successiva evoluzione verso forme più classiche di celiachia (sviluppo dell'atrofia dei villi).

Nella nostra coorte di circa 300 bambini, una piccola quota è stata messa a dieta senza glutine al momento della diagnosi per la presenza di sintomi suggestivi di celiachia o per scelta dei genitori, mentre circa 200 pazienti, in quanto asintomatici, sono stati lasciati a dieta libera e seguiti periodicamente con controlli clinici e sierologici semestrali e rivalutazione istologica circa ogni due-tre anni.

I dati principali di questo studio hanno evidenziato che circa un terzo di questi soggetti a dieta libera si negativizzano in corso di follow-up, mentre circa il 64% dei soggetti con anticorpi persistentemente positivi o fluttuanti sviluppa un'atrofia dei villi nel corso del follow-up.

Cercando di identificare fattori di rischio evidenziabili già al momento della diagnosi, abbiamo trovato che la classe di rischio genetico (in particolare la

condizione di omozigosi per il DQ2) e il grado di infiammazione della mucosa duodenale (grado 1 di Marsh) sembrano correlare maggiormente con lo sviluppo del danno intestinale.

Rimangono ad oggi ancora molti quesiti aperti nella gestione clinica di questi piccoli pazienti, tra cui la reale necessità di una dieta senza glutine e la possibilità di identificare con maggiore precisione il sottogruppo che svilupperà l'atrofia dei villi già al momento della diagnosi, per rispondere ai quali dovranno essere effettuati studi multicentrici e randomizzati.

Casi clinici difficili: presentazione di 7 casi clinici difficili dal territorio

Introduzione e moderazione: G.R. Corazza

Caso 1

Federico Biagi, Annalisa Schieppati - Centro per la Malattia Celiaca, IRCCS Policlinico San Matteo, Università degli Studi di Pavia

Anamnesi

Nel 9/2016 un uomo di 39 anni veniva ricoverato per indagare un quadro di enteropatia atrofica con anticorpi per malattia celiaca negativi, HLA DQ2/DQ8 negativo che non aveva presentato risposta istologica né clinica a otto anni di dieta aglutinata e a quattro di terapia steroidea. Franchi sintomi di malassorbimento erano insorti nel 2006. L'anamnesi patologica remota era muta e non vi erano familiarità per patologie gastroenteriche, o autoimmuni.

Ipotesi diagnostica iniziale - approccio clinico – accertamenti eseguiti

Durante il ricovero si confermava una grave atrofia della mucosa duodenale con infiltrato linfocitario fenotipicamente policlonale. Il test al D-xilosio confermava il malassorbimento intestinale, ma anticorpi anti-enterociti, sierologia per HIV/CMV/EBV, esame coproculturale e coproparassitologico, breath test al glucosio, pannello autoimmunitario completo risultavano negativi. Da segnalare solo deficit parziale di IgM, deficit di vitamina B12 e incremento della calprotectina fecale. Una colonscopia non mostrava lesioni macroscopiche né istologiche rilevanti ma una videocapsula endoscopica documentava fini erosioni fino all'ileo prossimale.

Risultato del percorso di diagnosi

L'assenza di genetica compatibile e la mancata risposta alla dieta aglutinata consentono l'esclusione della malattia celiaca e delle sue complicanze. La sostanziale negatività degli altri esami effettuati e la storia clinica non suggestiva consentono l'esclusione di altre rare cause di atrofia dei villi intestinali quali l'enteropatia autoimmune, la sprue ipogammaglobulinemica, l'enteropatia da olmesartan, alcune forme infettive (giardiasi, enteropatia da HIV), l'enteropatia attinica, la graft versus host disease.

Conclusioni

Questo caso potrebbe rientrare nell'ambito di una nuova categoria di enteropatie non celiache con HLA incompatibile e meritevoli di migliore inquadramento.

Caso 2

Angela Calvi, Marco Crocco - IRCCS Giannina Gaslini, Genova

Anamnesi

Bambina nata da gravidanza normodecorsa, senza familiarità per patologie autoimmuni, cardiovascolari ed ematologiche. Accrescimento staturponderale regolare fino a 20 mesi di vita quando si assiste a comparsa di diarrea, astenia e perdita di peso.

Dopo 2 settimane dalla comparsa dei sintomi, ricovero presso Pediatria ospedaliera, dove viene dimessa con diagnosi di gastroenterite acuta, con disidratazione moderata e anemia.

Per persistere dei sintomi, secondo ricovero presso ospedale pediatrico, dove per riscontro di anemia sideropenica, IgA anti-TG 19.1UA/ml, EMA+, AGA-Ig 21.815.8UA/ml, veniva posto il sospetto di celiachia e programmata EGDS dopo un mese.

Agli esami pre-anestesia si evidenziava importante anemia con piastrinosi e alterazioni della coagulazione tale da necessitare trasfusione di plasma e posizionamento di CVC in vena femorale sin. Ripetuti gli esami AGA-IgA 15.8UA/ml, EMA+, IgAanti-TG 192.5UA/ml, veniva prescritta dieta aglutinata. La degenza è stata complicata da trombosi venosa profonda in sede di CVC, alterazioni metaboliche-idroelettriche e peggioramento delle addominalgie. La famiglia decideva accesso presso la nostra unità operativa.

Ipotesi diagnostica iniziale - approccio clinico – accertamenti eseguiti

All'arrivo la bambina era sofferente ed emaciata, irritabile, astenica, pianto inconsolabile con alterazioni della marcia e del ritmo sonno-veglia, alvo chiuso con addome enormemente espanso e contrazione di difesa.

Il quadro anamnestico, clinico e biochimico ci induceva a sospettare una crisi celiaca complicata da manifestazioni multiorgano.

Veniva richiesto screening trombofilico e studio funzione piastrinica, ecodoppler AAll, eco-addome. Per riscontro ecografico di invaginazione intestinale veniva eseguito Rx-clisma opaco, risoluzione dell'invaginazione alla TC addome dei giorni successivi.

Impostata terapia con Betametasona 0.1mg/kg/die, infusione idroelettrica, proseguita EBPM, integrazione multivitaminica, dieta aglutinata, riabilitazione motoria e supporto informativo al nucleo familiare.

Risultato del percorso di diagnosi

Veniva confermato il quadro di crisi celiaca complicata da sindrome da refeeding, trombosi venosa profonda, invaginazione ileo-ileale, deficit multivitaminico, alterazioni coagulative e metaboliche-idroelettiche, grave osteoporosi e distrofia muscolare con manifestazioni neurologiche.

Conclusioni

La crisi celiaca è una complicanza urgente e potenzialmente fatale della celiachia, una gastroenterite infettiva è spesso il trigger precipitante il precario equilibrio clinico nonché potenziale fattore di ritardo diagnostico. La misdiagnosi ha aggravato l'interessamento multisistemico, con ritardo nel trattamento delle molteplici complicanze che hanno caratterizzato questo caso clinico. Sebbene rara, la crisi celiaca deve essere prontamente riconosciuta e l'iter diagnostico accelerato dalla necessità del rapido avvio della dieta aglutinata e della terapia medica di supporto indispensabile nella fase acuta di questa emergenza medica.

Caso 3

Mauro Congia - Ospedale Pediatrico Microcitemico A. Cao, Azienda Ospedaliera Brotzu, Cagliari

Anamnesi

MM, 2 anni e 3 mesi, diarrea protratta da 34 giorni preceduta da episodio infettivo della durata di 8 giorni con febbre e diarrea. Madre affetta da tiroidite autoimmune. Ci viene inviata dal PLS perché per il persistere della diarrea vennero eseguiti anche esami di screening per celiachia risultati positivi (AGA IgA 3,7 U/ml (< 7 U/ml normali); AGA IgG 40,1 U/ml (> 10 U/ml positivo); ATTG IgA > 128 U/ml (>10 U/ml positivo).

Ipotesi diagnostica iniziale - approccio clinico – accertamenti eseguiti

Malattia celiaca (Diarrea, TTG>10 VN). Vennero richiesti gli EMA come test di conferma, la tipizzazione HLA per il rischio genetico di celiachia e come ulteriore conferma un nuovo dosaggio dell'ATTG.

Risultato del percorso di diagnosi

Venne confermato un titolo elevato (>10 VN) dell'ATTG anche se in calo (80 U/ml), l'EMA risultava positivo (++++), come pure la suscettibilità genetica (DQ2 positivo). Poiché il sintomo diarrea dopo 34 giorni era scomparso si decise di eseguire la EGDS. La biopsia mostrò un Marsh 0 (celiachia latente) e dopo diversi mesi sia la TTG che l'EMA si negativizzarono. Sia l'EMA che la TTG sono a distanza di oramai 3 anni persistentemente negativi.

Conclusioni

Per circa 5 settimane tutti i nuovi criteri ESPGHAN erano soddisfatti per poter effettuare la diagnosi di malattia celiaca senza eseguire la biopsia duodenale. Pertanto la descrizione di questo caso suggerisce una condotta di estrema prudenza (ripetere più volte la TTG e gli EMA, lasciar passare un tempo sufficientemente lungo di 30-40 giorni tra i diversi dosaggi, effettuare in tutti i casi la tipizzazione HLA-DQB1 e soprattutto tenere conto della persistenza della sintomatologia) prima di effettuare una diagnosi di malattia celiaca senza eseguire la biopsia.

Pubblicazioni:

Prudence is necessary in the application of the new ESPGHAN criteria for celiac disease omitting duodenal biopsy: a case report. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2014 Jun;26(6):679-80

Caso 4

Pietro Di Stefano - P.O. S.A. Abate Trapani - Responsabile centro HUB M.C area pediatrica, Trapani

Anamnesi

J., 5 mesi, giunge per grave distrofia. Peso alla nascita 3,660 kg. È stata allattata con latte adattato presentando fino al terzo mese crescita regolare (peso 5,400 kg). Svezzamento a 3 mesi. Da allora arresto della crescita ponderale prima e perdita di peso dopo, associati ad alvo diarroico con feci poltacee maleodoranti. Nel sospetto di APLV il pediatra aveva prescritto un idrolisato proteico che ha assunto per due mesi senza beneficio.

Ipotesi diagnostica iniziale - approccio clinico – accertamenti eseguiti

E.O.: peso: 4,700 kg; cute e mucose rosee. Attività cardiorespiratoria regolare. Addome trattabile; OI nei limiti. F.A. puntiforme. Grave distrofia con glutei a borsa di tabacco. Tono e trofismo muscolare ridotti.

Esami ematochimici: EGA: ph 7,3; HCO₃:22;Gr4.680.000 Hb12 PLT 447.000 Gb11.550 n37% l52% got/gpt 55/45 azotemia16 creatinina 0,1glicemia76 Na135 k 4 Cl 106 Ca4 P5 Mg2 Prot. 6 lgG526 IgA 76 IgM 58 IgE25 Col.tot 83 tg: 102 ammoniemia 21 ormoni tiroidei nella norma; es. urine ed urinocoltura negativi.

Ha effettuato rx torace ed eco addome entrambi con esito di normalità. All'ecocardio piccolo fop con minimo shunt sx>dx.

Ha eseguito test del sudore e rast latte e frazioni con esito negativo. Ha eseguito markers per celiachia che hanno evidenziato AGA IgA>200 e AGA IgG:135,5 con EMA e Transglutaminasi negativi. Predisposizione genetica per celiachia (HLA DQ2). Non è stata eseguita la biopsia per il rifiuto dei genitori.

Risultato del percorso di diagnosi

J. è stata messa a dieta priva di glutine. Per la prima settimana il peso si è mantenuto stabile e l'alvo diarroico con feci maleodoranti e untuose.

Conclusioni

Abbiamo seguito J. in DH. A 7 mesi ricovero finalizzato alla reintroduzione del latte vaccino adattato. All'ultimo controllo (9 mesi) J. pesa 8 kg.

Caso 5

Paolo Usai, Arianna Cingolani, Danilo Paduano – A.O.U. Monserrato (CA)

Anamnesi

Donna di 44 anni lamenta la comparsa nel mese di Gennaio 2014 di marcata astenia, perdita dell'appetito, calo ponderale di circa 7-8 kg in 6 mesi, seguiti da comparsa di edemi agli arti inferiori, distensione addominale, febbre serotina. Non dolore addominale, non variazioni dell'alvo. Gli es. ematochimici mostrano anemia sideropenica di recente insorgenza, piastrinosi e ipoalbuminemia.

Ipotesi diagnostica iniziale - approccio clinico – accertamenti eseguiti

Marzo 2014: consulenza Gastroenterologica dove vengono richiesti esami ematochimici tra cui screening per celiachia, SOF, Calprotectina fecale, ricerca mutazione JAK 2.

Giugno 2014: l'EGDS mostra gastroduodenopatia eritemato-congestizia. Esame Istologico: malattia celiaca con totale atrofia dei villi (gr B2). Inizia dieta aglutinata. Colonscopia nella norma. Ecografia per anse intestinali: nella norma. Tra il luglio e il dicembre 2014, nonostante la dieta priva di glutine, si rileva peggioramento della sintomatologia e delle alterazioni biochimiche.

Gli esami ematici confermano l'anemia sideropenica per la quale si inizia

trattamento con ferro per OS, l'importante trombocitosi (ora a 980000) e l'ipoalbuminemia per la quale si introduce supplementazione con albumina umana EV.

La paziente effettua in questi mesi diversi controlli e indagini volti a escludere patologie concomitanti e individuare possibili eteroplasie di origine linfatica che possono associarsi con la celiachia.

Indagine TAC torace e addome che mostra alcune linfadenopatie sia in sede mediastinica che mesenterica di dubbia natura (alcuni superiori a 2 cm di diametro).

Vengono indagate patologie a eziologia infettiva che mostrano negatività per i virus epatotropici maggiori, per l'HIV, per il virus di Epstein Barr e per TORCH. Per la persistente trombocitosi si esegue Mielobiopsia che esclude problematiche ematologiche all'infuori di importante espansione della linea megacariocitaria. Si consiglia l'introduzione profilattica di cardioaspirina.

Esami ematici mostrano lieve ipertransaminasemia. Fino a 8 evacuazioni/die di feci semiformate con sangue frammisto.

Vengono eseguite una entero RM con reperti nei limiti di norma e una ecografia dell'addome anch'essa nella norma che evidenzia le linfadenopatie precedentemente rilevate.

Al fine di ottenere campioni biotici per Indagine Immunoistochimica esegue nuova EGDS a 5 mesi dalla precedente che mostra un quadro patologico sostanzialmente invariato. Esame Istologico: malattia celiaca con atrofia totale dei villi (gr B2- tipo 3c). Persistono anemia e piastrinosi. Permeabilità intestinale alterata con L/M escreto 0.38%. Presso il nostro centro tuttavia non è stato possibile effettuare lo studio immunoistochimico.

Effettua, inoltre, un esame con videocapsula che mostra una superficie intestinale disomogenea, con aree bernoccolute ad acciottolato romano alternate ad aree di mucosa appiattita e pallida, con petecchie ed erosioni.

Per tutti i dati finora descritti la condizione che si viene a instaurare è quella di una malattia celiaca non responsiva alla dieta senza glutine. Viene a questo punto introdotta una terapia con prednisone con miglioramento del quadro clinico sintomatologico.

Nel Dicembre 2014 per la persistenza della sintomatologia la paziente viene ricoverata presso altro centro per approfondimento. Esami ematochimici mostrano un'importante leucocitosi neutrofila, anemia sideropenica, CALF e SOF positivo. La gastroduodenoscopia effettuata a 5 mesi dalla diagnosi di celiachia conferma il quadro patologico sia dal punto di vista macroscopico che microscopico. L'esame immunoistochimico sui campioni biotici mostra Linfociti a distribuzione disomogenea superiori a 40/100 e CD8 negativi.

L'indagine immunofenotipica al citofluorimetro mostra che più del 50% dei linfociti intraepiteliali presentano fenotipo aberrante con perdita del CD3 di superficie.

Viene effettuata una enteroTc che rileva diverse adenopatie mesenteriche di significato reattivo.

Lo studio genetico mostra due eterodimeri di suscettibilità per celiachia.

Per escludere il sospetto di trombocitemia essenziale vengono valutate le mutazioni di Jak2 e le altre alterazioni genetiche tipiche di questa patologia risultate tutte negative.

Dimessa con diagnosi: m. celiaca slow responder con piastrinosi e linfoadenomegalie mesenterico reattive.

Al controllo di fine dicembre la paziente riferisce successivamente alla interruzione della terapia steroidea insorgenza di alvo diarroico, meteorismo e tensione addominale associata alla recrudescenza dell'astenia.

La calprotectina risulta essere elevata. Per tali motivi la paziente riferisce reintroduce, su propria iniziativa, terapia steroidea con Prednisone 40 mg/die con miglioramento della condizione clinica.

Gennaio 2015: quantiferon negativo, persiste lieve ipertransaminasemia.

Da gennaio 2015 si osserva miglioramento per quanto riguarda la sintomatologia intestinale, l'alvo diarroico e l'astenia.

Successivamente la paziente presentava periodi di remissione alternati a periodi di recrudescenza in concomitanza della riduzione del Prednisone al di sotto di 15 mg/die. Dal punto di vista ematochimico si rileva risoluzione della anemia sideropenica, marcata leucocitosi neutrofilica iatrogena, riduzione della CALF e normalizzazione dei livelli di albumina.

Persistenza degli Ab anti transglutaminasi, ma con un titolo molto ridotto.

La nostra paziente sembra rientrare nel quadro clinico della celiachia refrattaria.

Dopo 18 mesi dalla diagnosi di celiachia la paziente esegue una nuova gastroscopia con esame istologico che conferma sia dal punto di vista macroscopico che microscopico il quadro di celiachia refrattaria.

Dicembre 2015: intrapresa terapia con azatioprina. Tuttavia, a un mese dall'introduzione, osserviamo agli esami ematici di controllo un significativo rialzo degli enzimi di colestasi e necrosi epatica e pancreatica che rendono necessaria l'interruzione di tale terapia.

Entero RMN Marzo 2016: nella norma.

Viene ripresa terapia con prednisone. Durante lo scalaggio, alla dose di 2.5 mg si presentano edemi degli arti inferiori e ipoalbuminemia. Viene aumentato il dosaggio dello steroide a 25 mg con risoluzione del quadro.

Risultato del percorso di diagnosi

Malattia Celiaca refrattaria.

Conclusioni

L'esordio della Malattia Celiaca in età adulta con successiva modificazione e peggioramento del pattern clinico nonostante dieta aglutinata rigida deve far sospettare una Malattia Celiaca complicata. Esclusa la presenza di patologia neoplastica sospettare che si tratti di Malattia Celiaca Refrattaria.

Caso 6

Paolo Usai-Satta - Az. Osp. G. Brotzu, Gastroenterologia, Cagliari

Anamnesi

Maschio, 63 anni; NIDDM

Diarrea, anemia sideropenica, calo ponderale severo, astenia.

Ipotesi diagnostica iniziale - approccio clinico – accertamenti eseguiti

Anticorpi EMA e tGA negativi, IgA totali nella norma.

Colonscopia con biopsie multiple negativa.

EGDscopia: atrofia totale dei villi, IEL > 40, ipertrofia delle cripte (Marsh 3c).

Ipotesi diagnostica: Malattia celiaca sieronegativa – inizia dieta aglutinata.

Risultato del percorso di diagnosi

Dopo 3-4 mesi il paziente continua a perdere peso, ha sempre diarrea, sideropenia, peggiorano gli indici nutrizionali proteici.

Esegue HLA (rischio intermedio celiachia).

Rivalutazione istologica: escluso Whipple, normale fenotipo delle T-cells.

Entero-TC ed enteroscopia con videocapsula ndr. (fatta eccezione per l'assenza dei villi).

Anticorpi antienterociti negativi.

Conclusioni

Malattia celiaca sieronegativa refrattaria di tipo I? Enteropatia autoimmune sieronegativa? Altro?

Caso 7

Chiara Zanchi, Tarcisio Not - IRCCS Burlo Garofalo, Trieste

Anamnesi

Marco, bimbo di 9 anni, giunge alla nostra osservazione per il riscontro di elevati livelli di anticorpi antitransglutaminasi IgA (Ac anti tTg108 U/ml), nel sospetto di celiachia. Marco è sempre stato bene, la sua curva staturponderale è nella norma. Non vengono riferiti sintomi gastrointestinali. Il dosaggio degli ac anti-tTg era stato effettuato nell'ambito dello screening familiare che il piccolo eseguiva annualmente dall'età di 2 anni, in quanto figlio di madre celiaca, e portatore di HLA predisponente (HLADQ2). I precedenti controlli erano risultati sempre negativi. Quest'ultimo, però, era stato eseguito durante un episodio di faringotonsillite febbrile (aggiunto ad altri esami prescritti dal pediatra per la malattia acuta in corso).

Ipotesi diagnostica iniziale - approccio clinico – accertamenti eseguiti

La prima ipotesi è stata ovviamente quella di celiachia ed è quindi stato programmato il day-hospital per eseguire la EGDS con biopsia in sedazione.

Risultato del percorso di diagnosi

Il giorno del day-hospital gli ac anti-tTg sono risultati negativi (3 U/ml) e gli EMA assenti. La biopsia è risultata nella norma (Marsh 0). Assenti depositi intestinali degli anticorpi anti-tTg. A posteriori sono stati eseguiti gli EMA sul campione eseguito in corso di episodio infettivo, che sono risultati assenti.

Conclusioni

La diagnosi di celiachia è stata quindi negata. Attualmente Marco sta bene e continua ad eseguire lo screening annualmente. Questo caso ci ha confermato la possibilità che, in caso di alcune infezioni acute, gli ac anti-tTg possono essere prodotti ad alte concentrazioni, in maniera aspecifica e non glutine dipendente. Gli EMA sono invece più specifici e non condizionati dalla presenza di una malattia infettiva.

Raccomandazioni Cliniche Donna e Celiachia

Graziella Guariso - Università degli Studi di Padova, Padova; Board del Comitato Scientifico AIC

Marco Silano - Reparto di Alimentazione, Nutrizione e Salute, Istituto Superiore Sanità, Roma; Board del Comitato Scientifico AIC

Il progetto donna è un'iniziativa del Board dell'Associazione Italiana Celiachia, lanciata nel 2015. Si è avvertita la necessità di dare particolare rilievo alla diagnosi di celiachia nella donna perché, secondo i dati epidemiologici al momento disponibili, la maggior parte delle persone affette da celiachia è di genere femminile (rapporto femmine/maschi: 2.5/1), ma soprattutto perché la celiachia non diagnosticata, e quindi non trattata, determina nella donna una serie di complicanze particolarmente gravi e che impattano sulla qualità di vita. Queste sono: l'anemia cui la donna è fisiologicamente più predisposta; osteopenia e osteoporosi che, sommate alla rarefazione ossea durante la menopausa, possono comportare fratture spontanee frequenti; infertilità, poliabortività spontanea, menarca tardivo e/o menopausa precoce e infine le patologie ostetriche. Dopo una prima iniziativa destinata alla popolazione generale, nel 2016 il Board scientifico dell'AIC ha indirizzato una campagna di informazione alla classe medica, in particolar modo agli specialisti coinvolti maggiormente nella diagnosi delle condizioni sopra elencate: ematologi, endocrinologi e ginecologi affinché siano in grado di riconoscere nella loro pratica quotidiana i segni e i sintomi che sono spie di una celiachia non trattata ed effettuare quindi il test di primo livello per la diagnosi di questa condizione: il dosaggio degli anticorpi anti-transglutaminasi. Inoltre è cruciale che nell'iter diagnostico, qualora ci sia il fondato sospetto di celiachia, la paziente non venga subito messa a dieta senza glutine, ma venga inviata a un Centro di Riferimento per la diagnosi di celiachia per la presa in cura del caso.

II SESSIONE

3° WORKSHOP RICERCA FC

Progress and Final Scientific Reports Grant FC

Moderatori:

Ornella Lovello – Presidente Fondazione Celiachia

Marco Silano - Coordinatore Board del Comitato Scientifico AIC; Reparto Alimentazione, Nutrizione e Salute, Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare - Istituto Superiore di Sanità - Roma

Final Report del Grant Annuale 014_FC_2014

Analisi dell'espressione dei geni HLA associati alla celiachia e implicazioni nella risposta CD4 antigene-specifica

Giovanna Del Pozzo - Istituto di Genetica e Biofisica "Adriano Buzzati Traverso," CNR, Napoli

Lo studio si proponeva di approfondire alcuni aspetti molecolari e funzionali dell'associazione dei geni HLA di classe II alla malattia celiaca. Circa il 95% degli individui affetti da celiachia presenta nel proprio corredo cromosomico i geni DQA1*05 e DQB1*02, definiti "predisponenti o di rischio", che possono essere in duplice (omozigosi) o singola (eterozigosi) copia. Questi geni portano alla sintesi della molecola HLA-DQ2.5 che è espressa sulla superficie delle cellule "presentanti", quali i linfociti B, le cellule dendritiche e i monociti. La molecola HLA-DQ2.5 ha un ruolo fondamentale nella celiachia perché lega i peptidi antigenici del glutine e stimola la reazione immunitaria da parte dei linfociti T CD4. Questi linfociti, una volta attivati, cominciano a proliferare e infiltrano la mucosa dell'intestino tenue determinando il danno dell'organo. In letteratura è descritto un effetto legato al "numero di geni di rischio" e quindi i soggetti omozigoti per i geni DQA1*05 e DQB1*02 dovrebbero avere sempre un rischio più alto di ammalarsi rispetto agli eterozigoti, in quanto stimolerebbero una reazione infiammatoria più elevata nei confronti del glutine introdotto con la dieta. Tuttavia questo modello non riesce da solo a spiegare alcune incongruenze nel raggruppamento dei pazienti nelle varie classi di rischio.

Il nostro studio si è posto l'obiettivo di 1) confrontare l'intensità della risposta immunitaria da parte dei linfociti CD4, indotta dalle cellule presentanti di pazienti omozigoti con quella indotta dalle cellule di soggetti eterozigoti per i geni HLA predisponenti; 2) misurare l'effettiva espressione sulla superficie delle cellule delle molecole DQ α 1*05 e DQ β 1*02 e la quantità dei corrispondenti RNA che ne determinano la sintesi.

I risultati hanno dimostrato che i linfociti CD4 sono stati attivati in maniera paragonabile, cioè hanno indotto una risposta immunitaria simile, misurata attraverso la produzione di IFN γ e il test di proliferazione, indipendentemente dal fatto che la cellula presentante fosse omozigote o eterozigote per i geni di rischio. Questo risultato è stato spiegato in quanto le cellule presentanti esprimevano una quantità paragonabile di proteine DQ α 1*05 e DQ β 1*02 che formano l'eterodimero DQ2.5 e quindi l'intensità della risposta immunitaria è determinata dalla quantità di antigene. In conseguenza di questo risultato abbiamo misurato l'RNA prodotto dai geni di rischio DQA1*05 e DQB1*02 e dimostrato che questi messaggeri sono espressi dalle cellule presentanti omozigoti ed eterozigoti in concentrazione simile. In altri termini i geni DQA1*05 e DQB1*02, nell'aplotipo DQ2DR3, cioè quando sono sullo stesso cromosoma, producono una quantità di RNA maggiore rispetto agli alleli sull'altro cromosoma e non associati alla celiachia.

In conclusione i nostri risultati rappresentano un completamento della teoria comunemente accettata del "dosaggio dei geni HLA," cioè affinché si instauri lo stato patologico non è importante solo la presenza di una o due copie di geni di rischio DQA1*05 e DQB1*02, ma anche la loro espressione, cioè la quantità di RNA e proteine che essi producono. L'estensione dello studio a pazienti con una configurazione diversa dei geni HLA di rischio e la comprensione dei meccanismi molecolari che ne determinano la regolazione dell'espressione rappresenterà l'obiettivo successivo del nostro studio. Inoltre la valutazione dei risultati molecolari rispetto ai dati clinici che definiscono le diverse classi di rischio apre nuove prospettive applicative e diagnostiche.

Bibliografia

Pisapia L et al. HLA-DQ2.5 genes associated to celiac disease risk are preferentially expressed respect to non-predisposing HLA genes: implication for anti-gluten T cell response. J of Autoimmunity. 2016. Jun;70:63-72.

Progress Report del Grant Biennale 007_FC_2014

Studio del microbioma intestinale nella patogenesi della celiachia dell'adulto
Lucia Sacchetti - Genetica Medica, CEINGE - BIOTECNOLOGIE AVANZATE - S.C.A R.L., Napoli

La malattia celiaca (CD) è un disordine cronico, immuno-mediato causato da fattori ambientali (principalmente glutine) e fattori genetici (HLA DQ2/DQ8). Comunque, l'ampia variabilità nell'insorgenza della malattia, spesso anni dopo l'introduzione del glutine nella dieta, suggerisce che possono essere coinvolti altri fattori patogenetici e, tra questi, lo squilibrio nel microbioma intestinale. Tuttavia, i dati sinora raccolti sul ruolo del micro bioma intestinale sono scarsi e non sono conclusivi, in particolare perché ottenuti in campioni biologici differenti (i.e. feci o mucosa duodenale) e impiegando metodologie a bassa risoluzione. La nostra ipotesi è che nella CD ci sia una disbiosi

intestinale e che essa concorra a compromettere la funzione epiteliale, rappresentando così un altro fattore scatenante la malattia in aggiunta al glutine e alla genetica.

Abbiamo pertanto arruolato oltre 40 soggetti adulti appartenenti a tre diversi gruppi: celiaci in fase attiva, a dieta senza glutine (GFD) e controlli. La presenza/assenza della CD in tutti i soggetti era confermata dall'esame istologico della biopsia duodenale e nessuno di essi aveva assunto farmaci (antibiotici, inibitori di pompa protonica, probiotici, etc.) da almeno due mesi. Dopo l'adesione allo studio da parte di ciascun soggetto, raccolta del consenso informato e autorizzazione del Comitato Etico, un prelievo bioptico, non utilizzato per l'iter diagnostico, veniva raccolto sterilmente e immediatamente congelato a -80°C, e/o conservato in mezzo di trasporto e immediatamente coltivato per gli esperimenti microbiologici in vitro. Dopo estrazione del DNA dalle biopsie, la regione 16S dell'rRNA veniva amplificata (amplicone di 548 bp comprendente le regioni variabili V4-V6) e sequenziata (next-generation-sequencing). Le sequenze ottenute erano poi analizzate con il tool bioinformatico QIIME v.1.9.1. Sono stati identificati 20 differenti phyla batterici, ma solo i Proteobacteria, Fusobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria erano presenti con un'abbondanza relativa >1%. Nel microbioma intestinale dei celiaci attivi i phyla Proteobacteria e Bacteroidetes erano maggiormente rappresentati, mentre i Firmicutes e gli Actinobacteria quelli meno presenti. In ogni phylum sono stati poi identificati classe, ordine, famiglia e genere. All'interno della classe dei Betaproteobacteria, molto rappresentata nel microbioma dei CD attivi, l'ordine Neisseriales ($p=0.009$), la famiglia Neisseriaceae ($p=0.01$) e il genere Neisseria ($p=0.03$) erano significativamente più abbondanti rispetto agli altri due gruppi di soggetti. Lo studio microbiologico culturale effettuato sui prelievi bioptici, insieme alla spettrometria di massa, ha poi consentito di isolare e identificare la specie batterica *Neisseria flavescens* (Nf) come la specie CD-associata. Lo studio del genoma completo di tale specie ha evidenziato alcune diversità a livello dei geni di acquisizione del ferro rispetto alla Nf isolata dall'orofaringe di soggetti controllo. Infine, la Nf CD-associata ha mostrato possedere proprietà infiammatorie quando messa a contatto con espianti di mucosa duodenale ex-vivo di soggetti controllo o con cellule dendritiche sia murine che umane. Proprietà evidenziata dall'aumento significativo di diverse citochine infiammatorie nei surnatanti delle cellule trattate rispetto a quelle non trattate. In conclusione, una notevole disbiosi e la presenza di un ceppo di NF con peculiari caratteristiche caratterizzano il micro bioma duodenale dei CD attivi e suggeriscono che il microbiota CD-associato può contribuire al quadro infiammatorio della celiachia nell'adulto.

Bibliografia

Am J Gastroenterol advance online publication, 5 April 2016; doi:10.1038/ajg.2016.95

Progress Report del Grant Triennale 017_FC_2014

Dermatite erpetiforme e celiachia: il ruolo dell'IL-17 nella patogenesi della lesioni cutanee

Marzia Caproni - Dip. Medicina Interna, Azienda Sanitaria Firenze, Firenze

La dermatite erpetiforme (DE) è la manifestazione cutanea specifica della malattia celiaca (MC). In entrambe le malattie l'interazione tra fattori genetici predisponenti (HLA-DQ2/DQ8) e fattori ambientali scatenanti (esposizione intestinale al glutine, infezioni virali) è in grado di determinare il danno a livello tissutale attraverso la produzione di autoanticorpi e linfociti T specifici.[1]

Un ruolo centrale nella patogenesi della DE sembra essere svolto dalla presenza di immunocomplessi IgA circolanti legati alla transglutaminasi 3 (TG3), come avviene per la transglutaminasi 2 (TG2) nella MC. Tuttavia sono necessari ulteriori studi per valutare se la TG3 possa essere considerato come il principale antigene bersaglio e anche per definire meglio il fenotipo della risposta immunitaria coinvolta nella patogenesi della DE.[2]

L'obiettivo della prima fase dello studio è stato quello di indagare, ex vivo, la distribuzione dei diversi subset di cellule T (cioè Th1, Th2, Th17) nel sangue periferico, nella cute e nell'intestino dei pazienti affetti da DE e capire perché solo un gruppo di pazienti affetti da MC sviluppi la DE.

Sono stati arruolati nello studio 7 pazienti affetti da DE e MC; sulle cellule mononucleate (MNC) provenienti dalle linee policlonali, ottenute da 7 campioni di sangue periferico, da 4 frammenti cutanei e da 3 biopsie intestinali, sono state effettuate valutazioni mediante analisi multiparametrica con citometria a flusso per definire il repertorio TCR $\alpha\beta/\gamma\delta$, l'espressione di CCR6, CXCR3, CRTH2 da parte delle cellule TCD4 + e TCD8 + e la produzione di INF- γ , IL-17, IL-4 e TNF- α .

I risultati ottenuti non hanno riportato significative differenze nell'espressione del recettore TCR $\alpha\beta$ nei tre tessuti analizzati, invece TCR $\gamma\delta$ risulta maggiormente espresso dalle cellule mononucleate ottenute dalla cute rispetto al sangue periferico e all'intestino. Abbiamo anche valutato l'espressione dei recettori delle chemochine CCR6+ (Th17 marker), CXCR3 (Th1 marker) e il recettore per la prostaglandina D2 CRTH2 (Th2 marker). Il recettore delle chemochine CCR6+ CD4+ risulta maggiormente espresso dalle cellule mononucleate ottenute dalla cute e dall'intestino rispetto a quelle prelevate dal sangue periferico, invece CXCR3 è maggiormente espresso dalle cellule mononucleate prelevate dall'intestino rispetto a quelle ottenute dal sangue periferico e dalla cute. Le linee policlonali ottenute dopo adeguata stimolazione (PMA/ionomicina) sono state valutate anche per la produzione di citochine. Le cellule CD4+ ottenute dall'intestino, ma soprattutto dalla cute, erano maggiormente capaci di produrre IL-17 rispetto a quelle ottenute dal sangue periferico. Al contrario, le cellule TCD8+ prelevate dalla cute rilasciavano più TNF- α rispetto a quelle ottenute dal sangue periferico e dall'intestino.

CONCLUSIONI: Questi risultati suggeriscono che l'incremento dell'IL-17 nella cute dei pazienti affetti da DE potrebbe essere relativo alla sua produzione da parte delle cellule CD4+ Th17 o allo sviluppo di altri sottotipi di cellule CD4+ come i linfociti $\gamma\delta$. [3] Perciò, i risultati mostrano come l'IL-17 svolga un ruolo fondamentale nella patogenesi della DE. [4]

Bibliografia

[1] M. Caproni, E. Antiga, L. Melani, P. Fabbri, and Italian Group for Cutaneous Immunopathology, "Guidelines for the diagnosis and treatment of dermatitis herpetiformis.," *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, vol. 23, no. 6, pp. 633–8, Jun. 2009.

[2] A. Görög, K. Németh, K. Kolev, J. J. Zone, B. Mayer, P. Silló, P. Bognár, and S. Kárpáti, "Circulating Transglutaminase 3-Immunglobulin A Immune Complexes in Dermatitis Herpetiformis," 2016.

[3] D. Su, M. Shen, X. Li, and L. Sun, "Roles of $\gamma\delta$ T cells in the pathogenesis of autoimmune diseases.," *Clin. Dev. Immunol.*, vol. 2013, p. 985753, 2013.

[4] A. Zebrowska, M. Wagrowska-Danilewicz, M. Danilewicz, O. Stasikowska-Kanicka, A. Cynkier, A. Sysa-Jedrzejowska, and E. Waszczykowska, "IL-17 expression in dermatitis herpetiformis and bullous pemphigoid.," *Mediators Inflamm.*, vol. 2013, p. 967987, 2013.

Progress Report del Grant Triennale 013_FC_2014

Sensibilità al frumento non celiaca (NCWS), valutata con challenge in doppio cieco (DBPC): rischio di malnutrizione, osteoporosi e malattie autoimmuni associate

Antonio Carroccio - Dip. Biomedico di Medicina Interna e Specialistica, Università di Palermo, Palermo

Nell'ambito del progetto finanziato da FC, abbiamo ad oggi portato a termine tre studi.

In tutti i tre studi, il reclutamento dei pazienti è stato eseguito presso due Unità di Medicina Interna: DiBIMIS del Policlinico di Palermo e Medicina dell'Ospedale Giovanni Paolo II di Sciacca. La diagnosi di NCWS è stata sempre posta mediante DBPC challenge contro placebo.

Il primo studio ha riguardato la frequenza e la severità del deficit minerale osseo in pazienti con NCWS (1). In uno studio prospettico, osservazionale, sono stati inclusi 75 pazienti con NCWS (63 F e 12 M; età mediana 36 anni) che presentavano sintomi IBS-like. I gruppi di controllo erano costituiti da 65 soggetti con IBS e da 50 pazienti con celiachia. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a densitometria ossea, valutazione del BMI, istologia duodenale, determinazione HLA, e indagine alimentare per valutazione dell'introito di calcio. Una concomitante condizione di allergia alle proteine del latte vaccino (APLV) era presente in 30 pazienti con NCWS. La frequenza di osteopenia e osteoporosi è risultata crescente dal gruppo con IBS al gruppo con NCWS ai pazienti con celiachia ($P < 0.0001$). 35 pazienti con NCWS (46.6%) mostravano osteopenia o osteoporosi. La bassa densità minerale ossea correlava con un basso BMI, con la presenza di APLV e con un basso introito dietetico di calcio. In conclusione lo studio ha dimostrato una elevata frequenza di ridotta densità minerale ossea in soggetti con NCWS.

Il secondo studio ha riguardato la frequenza di malattie autoimmuni (AD) e di anticorpi anti-nucleo (ANA) circolanti in pazienti con NCWS (2). Lo studio ha incluso un disegno retrospettivo con 131 pazienti NCWS (121 F; età 29 anni) e 151 controlli affetti da CD o IBS, e un disegno prospettico con 42 pazienti NCWS (38 F; età 34 anni) e 100 controlli affetti da CD e IBS.

Nel braccio retrospettivo si è osservata una identica frequenza di malattie autoimmuni (29%) nei pazienti con NCWS e nei celiaci (più frequente la tiroidite di Hashimoto, 29 casi), rispetto al 4% osservato nei pazienti con IBS ($P < .001$).

Nel braccio prospettico, 24% dei pazienti NCWS, 20% dei celiaci e 2% degli IBS presentavano AD ($P < .001$). Nello studio retrospettivo gli ANA sierici positivi erano presenti nel 46% degli NCWS, nel 24% dei CD ($P < .001$), e nel 2% degli IBS ($P < .001$). Nello studio prospettico, il 28% degli NCWS risultarono ANA positivi, contro il 7.5% dei soggetti con CD ($P < .02$), ed il 6% dei soggetti con IBS ($P < .005$). La positività degli ANA era associata alla presenza del HLA DQ2/DQ8 ($P < .001$).

Il terzo studio ha contribuito alle conoscenze sulla patogenesi della NCWS. In esso abbiamo valutato la risposta infiammatoria nella mucosa rettale di pazienti con NCWS (3). Sono stati inclusi 26 pazienti NCWS con sintomi da IBS e 8 soggetti di controllo con IBS. Dopo 2 settimane di challenge con frumento, sono state eseguite biopsie rettali e le cellule sono state isolate e caratterizzate. Lo studio ha evidenziato un ricco infiltrato di cellule CD45+, composto in larga parte da linfociti CD3+ e CD3-; questi ultimi mostravano una produzione di interferon (IFN)- γ significativamente maggiore che i controlli con IBS. Circa il 30% dei linfociti produttori di IFN- γ erano T-bet+, CD56-, NKP44-, and CD117-, consentendo di classificarli come "type-1 innate lymphoid cells (ILC1)". ILC1 diminuivano significativamente in 10 pazienti NCWS analizzati dopo 2 settimane di dieta priva di frumento. Questi dati inducono a ritenere che l'immunità innata e le reazioni di tipo Th1 abbiano un ruolo nella patogenesi della NCWS.

Bibliografia

1. Carroccio A et al. Risk of low bone mineral density and low body mass index in patients with non-celiac wheat- sensitivity: a prospective observation study. *BMC Med.* 2014; 28:230.
2. Carroccio A et al. High proportions of people with Non-Celiac Wheat Sensitivity have autoimmune disease or anti-nuclear antibodies. *Gastroenterology.* 2015;149(3):596-603.e1
3. Di Liberto D et al. Predominance of Type 1 Innate Lymphoid Cells in the Rectal Mucosa of Patients With Non-Celiac Wheat Sensitivity: Reversal After a Wheat-Free. *Clin Transl Gastroenterol* 2016; 7: e178. doi: 10.1038/ctg.2016.35

Progress Report Grant biennale 016_FC_2015

Studio della composizione del microbiota nella malattia celiaca dell'adulto

Rachele Ciccocioppo - Unità di Medicina Interna e Gastroenterologia, Policlinico San Matteo, Pavia

Il microbiota intestinale è un complesso ecosistema composto prevalentemente da batteri che hanno un rapporto simbiotico con l'organismo ospite, influenzando lo sviluppo e il mantenimento dell'immunità mucosale e del trofismo epiteliale. Recenti studi hanno evidenziato che una maggiore ricchezza e diversità delle specie commensali sia indice di salute, mentre una loro riduzione è stata trovata in diverse condizioni patologiche, inclusa la malattia celiaca. Poiché in quest'ultima la maggior parte dei dati proviene da casistiche pediatriche, scopo del nostro progetto è quello di valutare la composizione del microbiota intestinale in pazienti celiaci adulti, comprendendo tutto lo spettro di malattia (potenziale, attiva, trattata e complicata) rispetto a soggetti di controllo. In particolare, l'inclusione delle forme potenziali ci consentirà di capire se la eventuale disbiosi anticipa l'enteropatia o ne è una conseguenza, mentre reclutando le forme complicate, sarà possibile capire se vi sia una differenza rispetto a quelle non complicate per una stratificazione dei pazienti. Ovviamente, la presenza del gruppo dei trattati ci consentirà di valutare se la dieta senza glutine sia in grado di ripristinare l'omeostasi microbiologica. Abbiamo, quindi, intrapreso uno studio osservazionale, prevedendo di reclutare un totale di 60 pazienti (10 potenziali, 20 attivi, 20 trattati, 10 complicati) e 20 controlli (dispepsia funzionale), e di ottenere campioni di saliva, mucosa duodenale e feci da ognuno di essi per un'analisi comparativa. I casi reclutati fino al 30.09.2016 sono 34 celiaci (potenziali: 2, attivi: 9, trattati: 17, complicati: 2) e 10 controlli. Per 20 di questi (14 pazienti e 6 controlli) è stata completata l'analisi molecolare. In dettaglio: tutti i campioni sono stati sottoposti a estrazione del DNA utilizzando kit dedicati (Qiagen). Dopo quantizzazione e verifica della qualità, il DNA è stato sottoposto ad amplificazione utilizzando primers universali che si appaiano al gene batterico codificante per l'rRNA ribosomale 16S e, in particolare, alle sue regioni variabili (V3-V4). Dopo pooling, gli ampliconi sono stati sottoposti a deep sequencing su piattaforma Illumina Miseq, nel formato di sequenziamento paired end 300 bp. Le sequenze ottenute sono state sottoposte ad analisi bioinformatica volta a: (i) eliminare le sequenze a bassa qualità (dimensioni e presenza di sequenze chimeriche); (ii) definire, per ogni campione, le OTU (Operational Taxonomic Unit) al livello di omologia del 97%. Infine, la distribuzione dei vari taxa batterici è stata definita, calcolando la prevalenza di reads ("sequenze") di un determinato taxon rispetto al numero di sequenze totali rilevate in quel campione. La distribuzione dei vari taxa è stata calcolata su vari livelli, dal phylum alla specie. Da una prima analisi dei risultati, emergono dati interessanti sul microbioma

salivare che sembrano differenziare i celiaci nel loro complesso dai controlli. Si sta ora procedendo ad un approfondimento di sequenza (analisi delle OTU e della distribuzione delle sotto-popolazioni) e di correlazione statistica con quelli salivari e fecali.

promosso da



con il patrocinio di



Gruppo AIC

Tel. +39 010.844.94.02 • Fax +39 010.844.94.04
Via Caffaro, 10/6 • 16124 Genova (GE) - Italy
www.celiachia.it