

6° CONVEGNO NAZIONALE AIC E 4° WORKSHOP FC

Nutrizione come terapia della celiachia e della dermatite erpetiforme

3 Novembre 2017

Genova - Grand Hotel Savoia

ATTI CONGRESSUALI

INDICE

Programma Scientifico	p. 4
PREFAZIONE. M. Silano	p. 7

I SESSIONE. 6° CONVEGNO NAZIONALE AIC: LA DIETA COME TERAPIA

DELLA CELIACHIA E DELLA DERMATITE ERPETIFORME - Moderatore: M. Silano

Aspetti Dismetabolici della Dieta Senza Glutine – <i>Gabriele Riccardi</i>	p. 8
Compliance, Monitoraggio e QOL della Dieta Senza Glutine – <i>Maria Elena Lionetti</i>	p. 9
Nuove Tecnologie Alimentari del Senza Glutine – <i>Carmen Gianfrani</i>	p. 10
Studio AIC Sulla Qualità degli Alimenti Senza Glutine – <i>Susanna Neuhold</i>	p. 11
Casi Clinici Sulla Terapia Senza Glutine: presentazione di 5 casi clinici dalla Comunità Scientifica <i>Moderatore: Gino Roberto Corazza</i>	
Caso Clinico - <i>Nicola Aronico</i>	p. 13
Caso Clinico - <i>Raffaele Borghini</i>	p. 14
Caso Clinico - <i>Marco Crocco</i>	p. 14
Caso Clinico - <i>Francesca Ferretti</i>	p. 16
Caso Celiachia - <i>Francesco Miconi</i>	p. 17

II SESSIONE. 4° WORKSHOP RICERCA FC - Moderatori: O. Lovello, M. Silano

Grant FC: Progress and Final Scientific Reports

Final Report Investigator Grant triennale FC 046/2013 – <i>Michele Sallese</i>	p. 18
Final Report Investigator Grant triennale FC 053/2013 – <i>Riccardo Troncone</i>	p. 20
Final Report Investigator Grant triennale FC 018/2013 – <i>Andrea Masotti</i>	p. 22
Final Report Investigator Grant biennale FC 007/2014 – <i>Lucia Sacchetti</i>	p. 24
Progress Report Investigator Grant triennale FC 006/2015 – <i>Giovanni Monteleone</i>	p. 25
Progress Report Investigator Grant triennale FC 008/2015 – <i>Carolina Ciacci</i>	p. 27

SESSIONE POSTER

Poster - Una strategia di riduzione della sensibilizzazione per pazienti allergici al frumento:

produzione di linee di frumento con ridotto contenuto di α -gliadine – *Roberta Lupi* p. 28

Poster - Identificazione di marcatori genici e microRNA circolanti associati al processo
autofagico in pazienti pediatrici affetti da celiachia: uno studio pilota – *Mauro Bozzola* p. 29

Poster - Gastrite atrofica autoimmune e malattia celiaca – *Marco Vincenzo Lenti* p. 30

Poster - Valutazione della qualità di vita in bambini e adolescenti con malattia celiaca: esperienza

monocentrica dell'Istituto Gaslini di Genova con il questionario CDDUX – <i>Marco Crocco</i>	p. 31
Poster - Modellizzazione delle isoforme a e b del recettore CXCR3, e studio di binding con i peptidi della gliadina e con il ligando naturale IP10 – <i>Federica Chiappori</i>	p. 33
Poster - The gliadin peptide 31-43 exacerbates kainate neurotoxicity in epilepsy models – <i>Elisabetta Gerace</i>	p. 34
Poster - Prevalenza di osteopenia ed osteoporosi al momento della diagnosi in una serie di pazienti celiaci adulti – <i>Paolo Usai Satta</i>	p. 35
Poster - Allergia al grano e sensibilità alle proteine del grano in una popolazione di pazienti ambulatoriali screenati per malattia celiaca – <i>Italo De Vitis</i>	p. 36
Poster - Valutazione in vitro della sicurezza degli alimenti contenenti orzo deglutinato per gli individui affetti da celiachia – <i>Olimpia Vincentini</i>	p. 37
Poster - Investigator Grant triennale FC 013/2014 – <i>Antonio Carroccio</i>	p. 39
Poster - Investigator Grant triennale FC 017/2014 – <i>Marzia Caproni</i>	p. 40
Poster - Investigator Grant biennale FC 016/2015 – <i>Rachele Ciccocioppo</i>	p. 41
Poster - Fellowship Grant triennale FC 003/2016 – <i>Maria Caterina Rossi</i>	p. 41
Poster - Fellowship Grant triennale FC 004/2016 – <i>Giuseppina Bologna</i>	p. 42
Poster - Fellowship Grant triennale FC 005/2016 – <i>Monia Porpora</i>	p. 42
Poster - Fellowship Grant triennale FC 007/2016 – <i>Federica Ricci</i>	p. 43
Poster - Fellowship Grant triennale FC 009/2016 – <i>Serena Vitale</i>	p. 43
Poster – Caso Clinico Celiachia – <i>Mauro Bozzola</i>	p. 44
Poster – Caso Clinico Celiachia – <i>Ileana Luppino</i>	p. 45
Poster – Caso Clinico Celiachia – <i>Rosario Maggiore</i>	p. 46
Poster – Caso Clinico Celiachia – <i>Anthea Mariani</i>	p. 46
Poster – Caso Clinico Celiachia – <i>Chiara Zanchi</i>	p. 47
Poster – Caso Clinico Celiachia – <i>Marcello Mariani</i>	p. 48

PROGRAMMA SCIENTIFICO

- 09.00 - 10.00** Registrazione dei partecipanti
10.00 - 10.10 Introduzione ai lavori - *Giuseppe Di Fabio*
10.10 - 10.20 Saluti Autorità
10.20 - 10.30 Presentazione del Festival della Scienza 2017 - *Alberto Diaspro*

10.30 - 13.30

6° CONVEGNO NAZIONALE AIC

La dieta come terapia della celiachia e della dermatite erpetiforme

Moderatore: **Marco Silano**

- 10.30 - 10.40** La dieta come terapia della celiachia e della dermatite erpetiforme
Marco Silano
- 10.40 - 11.15** Aspetti Dismetabolici della Dieta Senza Glutine – *segue Discussione*
Gabriele Riccardi
- 11.15- 11.35** Compliance, Monitoraggio e QOL della Dieta Senza Glutine
Maria Elena Lionetti
- 11.35 - 11.55** Nuove Tecnologie Alimentari del Senza Glutine
Carmela Gianfrani
- 11.55 - 12.10** Studio AIC Sulla Qualità degli Alimenti Senza Glutine
Susanna Neuhold
- 12.10 - 12.20** Discussione
- 12.20 - 13.45** Casi Clinici Sulla Terapia Senza Glutine:
presentazione di 5 casi clinici dalla Comunità Scientifica *
Moderatore: **Gino Roberto Corazza**
- Caso Celiachia **Nicola Aronico**
- Caso Celiachia **Raffaele Borghini**
- Caso Celiachia **Marco Crocco**
- Caso Celiachia **Francesca Ferretti**
- Caso Celiachia **Francesco Miconi**
- 13.45 - 14.45** *Lunch e Sessione Poster*

14.45 - 14.50

Presentazione del Bando FC Fellowships 2018 **Ivana Losa**

*Relazione con sessione di domande in televoto e successiva discussione

4° WORKSHOP RICERCA FC

Moderatori: **Marco Silano e Ornella Lovello**

14.50 - 15.00 Introduzione ai lavori **Ornella Lovello**

Progress and Final Scientific Reports - FC Grants

15.00 - 15.30

FINAL Report FC Grant 2013 - Sensibilità al Glutine Non Celiaca - Genetica: Identification of gene-expression profiling to the diagnosis of celiac disease and gluten sensitivity (*Un test genetico per la diagnosi della sensibilità al glutine non celiaca*) - *Segue Discussione*

Michele Sallese

15.30 - 16.00

FINAL Report FC Grant 2013 - Celiachia - Immunologia: Natural history of innate immunity in coeliac disease: triggers, pathways and clinical implications (La risposta immune innata nella malattia celiaca: marcatori, fattori scatenanti, evoluzione e implicazioni cliniche) - *Segue Discussione*

Riccardo Troncone

16.00 - 16.30

FINAL Report FC Grant 2013 - Celiachia - Genetica: Circulating MicroRNA signatures for the identification of new potential diagnostic biomarkers of Celiac Disease and the response to gluten-free diet (Studio dei MicroRNA circolanti per l'identificazione di nuovi biomarkers della Celiachia e della risposta alla dieta priva di glutine) - *Segue Discussione*

Andrea Masotti

16.30 - 17.00

FINAL Report FC Grant 2014 - Celiachia - Genetica: Study of the gut microbiome in the adult celiac disease pathogenesis (Studio del microbioma intestinale nella patogenesi della malattia celiaca nell'adulto) - *Segue Discussione*

Lucia Sacchetti

17.00 - 17.25

PROGRESS Report FC Grant 2015 - Celiachia - Immunologia: Role of mTOR Kinase Cascade in Celiac Disease (Ruolo patogenico della chinasi mTOR nella malattia celiaca) - *Segue Discussione*

Silvia Sedda

17.25 - 17.50

PROGRESS Report FC Grant 2015 - Celiachia - Clinica: Vitamin D and Celiac Disease - VitaCeD (Vitamina D e Celiachia - VitaCeD) - *Segue Discussione*

Carolina Ciacci

17.50 - 18.00 Questionario di valutazione dell'apprendimento

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

Nicola Aronico

Dipartimento Medicina Interna e Terapia Medica
IRCCS Policlinico San Matteo Clinica
Medica I • Pavia

Raffaele Borghini

Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche
Policlinico Umberto I
Sapienza Università di Roma • Roma

Carolina Ciacci

Gastroenterologia
Università di Salerno • Salerno

Gino Roberto Corazza

Dipartimento Medicina Interna e Gastroenterologia
Policlinico San Matteo • Pavia

Marco Crocco

Gastroenterologia
Istituto Giannina Gaslini • Genova

Giuseppe Di Fabio

Presidente Associazione Italiana Celiachia

Alberto Diaspro

Direttore del Dipartimento di Nanofisica - Istituto
Italiano di Tecnologia (IIT)
Dipartimento di Fisica dell'Università
Genova

Francesca Ferretti

Malattie Epato-Metaboliche
Ospedale Bambino Gesù • Roma

Carmela Gianfrani

Ricercatore presso CNR • Napoli

Maria Elena Lionetti

Clinica Pediatrica
Università Politecnica delle Marche
Ancona

Ivana Losa

Vice Presidente Fondazione Celiachia

Ornella Lovello

Presidente Fondazione Celiachia

Andrea Masotti

Laboratorio di Espressione Genica
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù
Roma

Francesco Miconi

Clinica pediatrica
Università degli studi di Perugia • Perugia

Susanna Neuhold

Responsabile Area Food
Associazione Italiana Celiachia • Genova

Gabriele Riccardi

Endocrinologia e Malattie del Metabolismo
Università degli Studi di Napoli Federico II
Napoli

Lucia Sacchetti

Genetica Medica
Ceinge - Biotecnologie Avanzate - S.C.A.R.L.
Napoli

Michele Sallèse

Biochimica
Università degli Studi "Gabriele d'Annunzio"
Chieti

Silvia Sedda

Gastroenterologia
Policlinico Tor Vergata • Roma

Marco Silano

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

Riccardo Troncone

Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali
Università degli Studi Federico II
Napoli

Prefazione

La dieta come terapia della celiachia e della dermatite erpetiforme

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

Arrivato alla sesta edizione, il convegno nazionale sulla celiachia, promosso da Fondazione Celiachia con il patrocinio dell'Associazione Italiana Celiachia e rivolto alla rete medico-scientifica, verte sulla nutrizione come terapia della celiachia e della dermatite erpetiforme. La dieta senza glutine è l'unico trattamento attualmente disponibile per queste condizioni e rappresenta una vera e propria terapia salvavita per i soggetti che ne sono affetti. Va ribadito che la dieta senza glutine non offre nessun vantaggio a chi non è celiaco, come invece testimoniato da attrici famose e sportivi vincenti. Anzi la banalizzazione di questa terapia rappresenta un rischio per le persone celiache. Inoltre, una dieta senza glutine va iniziata solamente dopo aver consultato il medico e non come auto-medica-mento di un'auto-diagnosi di un disturbo glutine – correlato. Durante il convegno saranno trattati diversi aspetti della dieta senza glutine: da quelli nutrizionali alle eventuali conseguenze sul metabolismo, agli aspetti psicologici fino alle modalità di monitoraggio dell'aderenza a questo regime dietetico.

I SESSIONE.
6° CONVEGNO NAZIONALE AIC:
La dieta come terapia della celiachia
e della dermatite erpetiforme

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

Aspetti Dismetabolici della Dieta Senza Glutine

Gabriele Riccardi, Università degli Studi di Napoli Federico II

La dieta senza glutine rimane l'unica terapia efficace per la cura della celiachia. Tuttavia, negli ultimi anni è in notevole crescita il numero di persone non celiache che scelgono di eliminare il glutine dalla propria dieta in base alla convinzione, del tutto fallace, che una dieta priva di glutine apporti maggiori benefici alla salute e aiuti a perdere peso.

Ad oggi, le evidenze dalla letteratura scientifica non supportano il ruolo benefico da alcuni attribuito alle diete prive di glutine nel facilitare la riduzione ponderale e nel ridurre il rischio di malattie cardio-metaboliche nella popolazione generale. I risultati di diversi studi osservazionali circa l'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine hanno evidenziato, infatti, che tale modello alimentare, se non adeguatamente bilanciato, può caratterizzarsi per un eccessivo introito di calorie, zuccheri semplici, proteine e acidi grassi saturi, e un ridotto apporto di fibre, vitamine (folati, vitamina D, vitamina B6 e B12) e minerali (zinc, magnesio, ferro, calcio). Inoltre, diversi studi hanno suggerito che l'indice glicemico di alimenti ricchi in carboidrati potrebbe aumentare in seguito alla rimozione del glutine che, costituendo una maglia avvolgente i granuli di carboidrati, limita la gelatinizzazione dell'amido rallentandone la digestione.

In quest'ottica, la modifica di alcuni ingredienti nella formulazione dei prodotti senza glutine e l'applicazione di differenti tecnologie produttive potrebbero rappresentare una buona strategia per modulare l'indice glicemico e, più in generale, la qualità nutrizionale degli alimenti senza glutine, oltre che a migliorarne le caratteristiche organolettiche. Anche la scelta di cereali alternativi, rispetto a quelli tradizionalmente usati nelle diete prive di glutine (riso e mais) potrebbe rappresentare una valida strategia per migliorare la qualità nutrizionale delle diete senza glutine. Infatti, sia l'avena e il miglio che gli pseudo cereali, quali quinoa, teff, grano saraceno e amaranto sono un'eccellente fonte di proteine, minerali, vitamine e fibre e potrebbero rappresentare una valida alternativa ai cereali senza glutine tradizionalmente utilizzati. Studi condotti in individui sani e ad alto rischio cardiovascolare hanno evidenziato che il consumo di prodotti a base di quinoa, amaranto e grano saraceno riduce la risposta glicemica ed insulinemica postprandiale e migliora il metabolismo lipidico.

Conclusioni e prospettive. L'uso di nuove tecnologie per la produzione di alimenti senza glutine e l'implementazione di strategie per il miglioramento della qualità nutrizionale degli alimenti senza glutine possono contribuire a ridurre il rischio di malattie cronico degenerative nelle persone con celiachia e, più in generale, in tutti quelli che, per motivi diversi, utilizzano tali alimenti.

Bibliografia

1. Newberry C, McKnight L, Sarav M, Pickett-Blakely O. *Going Gluten Free: the History and Nutritional Implications*

of Today's Most Popular Diet. *Curr Gastroenterol Rep* 2017;19:54

2. Kim H, Demyen MF, Mathew J, et al. Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Risk in Gluten-Free Followers Without Celiac Disease in the United States: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2009–2014. *Dig Dis Sci* 2017;62:2440–2448

3. Pellegrini N, Agostoni C. Nutritional aspects of gluten-free products. *J Sci Food Agric* 2015;95: 2380–2385

4. Scazzina F, Dall'Asta M, Pellegrini N, Brighenti F. Glycaemic index of some commercial gluten-free foods. *Eur J Nutr* 2015;54:1021–1026

5. Miranda J, Lasa A, Bustamante MA, Churrua I, Simon E. Nutritional Differences Between a Gluten-free Diet and a Diet Containing Equivalent Products with Gluten. *Plant Foods Hum Nutr* 2014;69:182–187

Compliance, Monitoraggio e QOL della Dieta Senza Glutine

Maria Elena Lionetti, Università Politecnica delle Marche, Ancona

L'unico trattamento attualmente disponibile per la malattia celiaca (MC) è rappresentato dalla esclusione permanente del glutine dalla dieta (gluten-free diet, GFD). Questo trattamento è efficace e porta a una completa *restituito ad integrum* della mucosa intestinale, tuttavia comporta una limitazione delle scelte alimentari influenzando lo stile di vita e la qualità della vita dei pazienti affetti da MC. Nella presente revisione sistematica della letteratura, è stato verificato il tasso di aderenza alla GFD, l'impatto emozionale della dieta sulla vita quotidiana dei pazienti affetti da MC, le attuali metodiche di verifica dell'aderenza alla dieta e le prospettive future.

Una scarsa compliance alla dieta è descritta in una percentuale di pazienti pari a circa il 30-40%. Studi recenti dimostrano che una parte delle difficoltà che i soggetti celiaci sperimentano nell'affrontare la GFD non sono correlate alla qualità del cibo senza glutine, che è migliorata negli ultimi anni, ma potrebbe essere influenzata da altri fattori ambientali quali la scarsa consapevolezza del trattamento della MC nella popolazione e nella ristorazione, scarsa disponibilità di alimenti senza glutine nella maggior parte dei ristoranti e nelle caffetterie, il senso di diversità. Avere una malattia cronica e seguire la GFD può avere un impatto negativo sulla qualità della vita dei soggetti affetti, una dimensione che non è facilmente misurata da questionari psicosociali standardizzati. Un'analisi qualitativa dei dilemmi psicosociali può fornire maggiori informazioni su molti aspetti delle difficoltà che i celiaci devono affrontare, a causa di una scelta di cibo limitata. Il gold standard utilizzato per verificare l'attività di malattia e il grado di aderenza alla GFD è rappresentato dalla biopsia intestinale. Attualmente non abbiamo a disposizione un bio-marcatore capace di verificare con precisione la compliance alla GFD. Attualmente viene utilizzato il dosaggio degli anticorpi anti-transglutaminasi, nonostante sia un test poco sensibile (Sensibilità 39-60%), incapace di rilevare le trasgressioni minori. Tra i nuovi biomarcatori studiati per valutare il grado di attività di malattia a livello della mucosa intestinale in corso di dieta vi sono: la proteina intestinale legante gli acidi grassi (serum intestinal fatty acid binding protein I-FABP), gli alchilresorcinoli plasmatici e i peptidi immunogeni del glutine urinari.

Conclusioni e prospettive. La GFD è un trattamento efficace, ma l'aderenza al trattamento dietetico è scarsa, soprattutto a causa del pesante carico psico-sociale imposto dalla GFD sulla vita quotidiana. Il dosaggio degli anticorpi anti-transglutaminasi ha una bassa sensibilità per verificare l'aderenza alla dieta. Sono in studio nuovi biomarcatori per valutare il grado di attività di malattia a livello della mucosa intestinale in corso di dieta.

Bibliografia

1. Fasano A, Catassi C. Celiac Disease. *N Engl Med* 2012; 367:2419-26
2. Case S. The gluten free diet: how to provide effective education and resources. *Gastroenterology* 2005; 128: S128-S134.
3. Biagetti C, Naspi G, Catassi C. Health-related quality of life in children with celiac disease: a study based on the Critical Incident Technique. *Nutrients* 2013;5:4476-85.
4. Dipper CR, Maitra S, Thomas R, et al. Anti-tissue transglutaminase antibodies in the follow-up of adult coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:236-44.

Nuove Tecnologie Alimentari del Senza Glutine

Carmen Gianfrani, Istituto di Biochimica delle Proteine, CNR Napoli

Lelevato contenuto di glutammina e prolina conferisce alle proteine del glutine una notevole resistenza alla digestione da parte dei succhi gastro-intestinali. Ciò comporta il rilascio a livello della mucosa intestinale di frammenti peptidici del glutine ad alto potenziale infiammatorio. Negli ultimi 20 anni, la ricerca ha fatto grossi passi in avanti nella comprensione dei meccanismi sia cellulari che molecolari attraverso i quali il glutine danneggia la mucosa del piccolo intestino nei soggetti affetti da celiachia. Sono state identificate molte sequenze in grado di stimolare i linfociti T intestinali responsabili dell'infiammazione, in particolare è stato descritto nelle a-gliadine un frammento di 33 aminoacidi in grado di mimare la tossicità dell'intera proteina sui linfociti T isolati dall'intestino celiaco. Frammenti resistenti alla digestione degli enzimi gastrointestinali, e quindi potenzialmente tossici per i celiaci, sono stati recentemente osservati anche nelle γ-gliadine e w-gliadine. Infine, è stato dimostrato che la tossicità del glutine risiede non solo nella presenza di sequenze poco digeribili dagli enzimi gastrointestinali, ma anche nell'essere molto suscettibile alla modifica strutturale da parte dell'enzima transglutaminasi (TG). La conoscenza del meccanismo di azione della tTG ha reso possibile sviluppare un'innovativa tecnologia che, utilizzando una TG microbica ed un aminoacido modificato, la lisina metilata, blocca la capacità del glutine di stimolare la reazione infiammatoria tipica del soggetto celiaco, e quindi di detossificare il glutine.¹ Saggi in vitro con culture di linfociti e di biopsie intestinali hanno dimostrato l'efficacia del procedimento di detossificazione; inoltre, sono in corso sperimentazioni cliniche su volontari celiaci per valutare la sicurezza delle farine trattate prima della loro diffusione commerciale.

Un altro interessante fronte della ricerca sui grani è rivolta alla prevenzione della celiachia in soggetti con alta predisposizione genetica, che prevede il consumo di grani antichi. I primi

campi di frumento hanno avuto origine 10000 anni fa nella cosiddetta regione della “Mezzaluna Fertile”, comprendente il sud della Turchia, la Siria occidentale e l’Iran, per poi diffondersi in Europa ed in Africa settentrionale. Il monococco (*Triticum monococcum*, anche noto come piccolo farro) è un frumento con un genoma più semplice rispetto agli altri cereali ed ha costituito la base della dieta delle popolazioni agricole per migliaia di anni, sostituito in gran parte dal grano tenero e duro, più produttivi e di facile trebbiatura. Grazie all’ausilio di sofisticate tecniche di laboratorio, è stato dimostrato che il monococco contiene un glutine più digeribile e con un ridotto contenuto di sequenze del glutine riconosciute dai linfociti T del celiaco. Dal punto di vista tecnologico, la farina di grano monococco presenta buone proprietà visco-elastiche per produrre pane e pasta. Nonostante il piccolo farro non sia idoneo per l’alimentazione del celiaco, grazie alla sua elevata digeribilità rispetto ai grani comuni, potrebbe prevenire la celiachia nei soggetti a rischio.²

Conclusioni e prospettive. È diventata sempre più concreta la possibilità di avere alimenti a base di farine detossificate per i celiaci, o ottenute da grani con ridotto contenuto di sequenze tossiche, da destinarsi a soggetti con alta predisposizione genetica ad ammalarsi di celiachia.

Bibliografia

1. Gianfrani C, et al. Transamidation of wheat flour inhibits the response to gliadin of intestinal T cells in celiac disease. *Gastroenterology* 2007; 133:780-789.
2. Gianfrani C et al. Extensive in vitro gastrointestinal digestion markedly reduces the immune-toxicity of *Triticum monococcum* wheat: implication for celiac disease. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2015; 59:1844-54.

Studio AIC Sulla Qualità degli Alimenti Senza Glutine

Susanna Neuhold, Area Food, Associazione Italiana Celiachia AIC

L’unico trattamento oggi noto per la celiachia (CD) è una rigorosa dieta senza glutine, da condurre per tutta la vita. Lo studio condotto da AIC ha avuto l’obiettivo di comparare la composizione nutrizionale dei prodotti specificamente formulati per celiaci con gli analoghi convenzionali, presenti sul mercato Italiano.

Lo studio ha esaminato in totale 235 prodotti gluten-free e 349 alimenti convenzionali appartenenti a sette diverse categorie merceologiche: pane, pasta, sostituti del pane (come grissini e cracker), biscotti, fette biscottate, merendine e mix di farine per il pane. I seguenti valori nutrizionali sono stati raccolti dalle etichette nutrizionali o dai siti web delle aziende e analizzati: calorie/energia, proteine, lipidi, grassi saturi, carboidrati, zuccheri (semplici), fibre e sale. Per ciascuna categoria merceologica dei due gruppi sono state calcolate le medie dei valori per ciascun componente nutrizionale ed è stato eseguito un test-t per campioni indipendenti per lo studio delle variabili quantitative.

I risultati dell’indagine AIC si allineano con i dati presenti in letteratura riguardo il minor contenuto proteico negli alimenti senza glutine. Un aspetto non sorprendente conside-

rando gli ingredienti usualmente utilizzati per sostituire le farine contenenti glutine e che non deve preoccupare: gli alimenti come il pane o la pasta non sono considerati la fonte principale di proteine, che dovrebbero essere assunte nella dieta soprattutto attraverso il consumo di legumi, uova, latte e latticini, pesce, carne, tutti alimenti permessi ai celiaci. Gli stili di vita contemporanei, inoltre, non presentano il rischio di carenze di proteine, piuttosto si assiste spesso a comportamenti alimentari che possono portare ad un consumo eccessivo di proteine.

I dati AIC hanno rilevato alcune differenze, non sempre a discapito dei prodotti senza glutine (in diversi casi, infatti, i prodotti senza glutine presentano valori nutrizionali migliori degli analoghi convenzionali). Il contenuto calorico, di zuccheri semplici o di grassi totali è risultato sostanzialmente sovrapponibile tra i due campioni e le differenze a discapito dei prodotti senza glutine relativamente al contenuto di fibra e sale non possono essere estese indiscriminatamente a tutte le categorie di alimenti per celiaci considerate né a tutti i prodotti senza glutine presenti sul mercato.

Conclusioni e prospettive. I risultati italiani confermano che i prodotti senza glutine presentano un profilo nutrizionale sostanzialmente sovrapponibile a quello degli analoghi convenzionali, salvo qualche eccezione, non sempre a svantaggio dei celiaci, che può essere facilmente gestita dal consumatore-paziente. Le eventuali differenze non risultano sempre significative sotto il profilo pratico, infatti, e possono essere facilmente compensate con una corretta gestione della dieta e una scelta consapevole degli alimenti

Bibliografia

1. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Rostami K, Sanders DS, Schumann M, Ullrich R, Villalta D, Volta U, Catassi C, Fasano A, *Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. BMC Med* 10: 13; 2012
2. *Tables of food composition* (http://nut.entecra.it/646/tabelle_di_composizione_degli_alimenti.html)
3. Mazzeo T, Cauzzi S, Brighenti F, Pellegrini N, *The development of a composition database of gluten-free products. Public Health Nutrition* 18(8): 1353-7; 2015
4. Bascuñán KA, Vespa MC, Araya M, *Celiac disease: understanding the gluten-free diet. Eur J Nutr [Epub ahead of print]; 2016*

Casi Clinici Sulla Terapia Senza Glutine: presentazione di 5 casi clinici dalla Comunità Scientifica - Moderatore: Gino Robert Corazza

Caso Clinico 1

Nicola Aronico, IRCCS Policlinico San Matteo Clinica Medica I, Pavia

Anamnesi

Una paziente di 38 anni con storia di infezioni delle vie respiratorie ricorrenti si recava presso un altro centro per calo ponderale e diarrea dal 2008. La sierologia per malattia celiaca, la calprotectina fecale, gli esami coproculturali e coproparassitologici erano negativi. Le biopsie duodenali mostravano severa atrofia dei villi e l'aplotipo HLA era compatibile per malattia celiaca (DQ2). Sebbene la sierologia per celiachia fosse negativa del sospetto di una malattia celiaca iniziava dieta aglutinata con beneficio clinico ma persistenza di atrofia dei villi dopo 12 mesi di dieta. Nel 2009 la paziente presentava una sindrome da malassorbimento pertanto iniziava la nutrizione parenterale totale. Dal Settembre 2016 al Gennaio 2017 per calo ponderale e diarrea la paziente si recava presso il nostro centro.

Ipotesi diagnostica - approccio clinico - accertamenti eseguiti

Gli esami ematochimici mostravano deficit di IgA, IgG e IgM. Inoltre dopo due mesi di gluten challenge ripeteva la sierologia per malattia celiaca che si confermava negativa e le biopsie duodenali che confermavano la severa atrofia dei villi. La ricerca degli IELs aberranti e della monoclonalità per il TCR-gamma davano esito negativo. Si reimpostava dieta aglutinata e si introduceva terapia con immunoglobuline ev e proseguiva nutrizione parenterale totale.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

Buona risposta clinica ma non istologica alla dieta aglutinata. Correzione dei deficit nutrizionali con nutrizione parenterale totale.

Conclusioni

Gli accertamenti diagnostici effettuati confermavano la severa atrofia dei villi secondaria a immunodeficit comune variabile condizionante importante malassorbimento e il conseguente quadro di severa malnutrizione. Tuttavia non è stato possibile escludere con certezza la malattia celiaca in quanto la negatività della sierologia potrebbe essere secondaria al deficit immunoglobulinico e l'assenza di risposta mucosale alla dieta priva di glutine potrebbe essere secondaria al coesistente immunodeficit comune variabile come concausa di atrofia mucosale. Infine la malattia celiaca refrattaria poteva essere esclusa vista l'assenza di IELs aberranti e della monoclonalità del TCR-gamma.

Caso Clinico 2

Raffaele Borghini, Policlinico Umberto I, Sapienza Università di Roma

Anamnesi

Donna di 28 anni lamenta dall'adolescenza diarrea, gonfiore e dolore addominale. Nel sospetto di malattia celiaca, è stata sottoposta a screening sierologico (IgA EMA e anti-tTG) positivo. Sottoposta a EGD, l'esame istologico ha mostrato lesioni duodenali tipo III C di Marsh-Oberhuber. È stata posta diagnosi di celiachia e iniziata dieta senza glutine (GFD). Dopo 9 mesi è stato registrato un progressivo miglioramento, confermato da questionario sintomatologico e negativizzazione anticorpale.

Dopo 12 mesi dalla diagnosi, la paziente ha lamentato una ricomparsa dei sintomi con l'aggiunta di dermatite da contatto verso oggetti metallici.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

Sono state sospettate: malattia celiaca refrattaria; intolleranza al lattosio/deficit lattasi; mucosite allergica da contatto (ACM) al Nichel (Ni).

Sono stati eseguiti: EMA e anti-tTG; EGD con biopsie duodenali; breath test al lattosio e test genetico per lattasi; patch test cutaneo serie SIDAPA e patch test mucosale (omPT) al Ni.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

EMA e anti-tTG si confermavano negativi, le lesioni duodenali erano regredite a tipo I. Il breath test al lattosio dava esito negativo, con test genetico per lattasi eterozigote. Il patch test cutaneo dava esito positivo (debole) solo per Ni. L'omPT al Ni dava esito francamente positivo, suggerendo una diagnosi di ACM. In aggiunta alla GFD, è stata intrapresa una dieta a ridotto contenuto di Ni. Dopo circa 3 mesi è stato riscontrato un significativo miglioramento clinico.

Conclusioni

Dato l'alto contenuto di Ni nella GFD e l'alta prevalenza di ACM, il Ni deve essere considerato una possibile causa di ricomparsa dei sintomi nei soggetti celiaci. Pertanto, la riduzione di intake di Ni alimentare è consigliabile.

Caso Clinico 3

Marco Crocco, IRCCS Gianni Gaslini, Genova

Anamnesi

Simone è un ragazzo di 14 anni, a cui nel 2008 è stato diagnosticato un esordio di diabete mellito di tipo 1, da allora ha seguito regolari follow up clinici trimestrali con buon controllo delle glicemie. Nel 2010, in assenza di sintomatologia clinica, gli esami di screening per la celiachia sono risultati positivi ed è stata quindi eseguita una esofago-gastro-duodenoscopia diagnostica in seguito alla quale è stato possibile fare diagnosi di malattia celiaca. Dalla diagnosi Simone segue scrupolosamente la dieta aglutinata ed è spesso di

aiuto ai coetanei con diabete mellito e celiachia, a cui dispensa consigli sulla corretta gestione della dieta. Sebbene Simone sia stato rapidamente autonomo nella gestione di entrambe le terapie (insulina e dieta aglutinata), negli ultimi 2 anni nel profilo glicemico si è rilevato un incremento del numero di ipoglicemie, spesso corrette in modo non adeguato. Il suo fisico longilineo ha subito un arresto del peso, fino a una perdita di peso costante nell'ultimo anno. Veniva quindi attivato un supporto psicologico e dietologico, con colloqui individuali e prescrizione di una dieta bilanciata con porzioni pesate per i vari nutrienti. Nonostante venga riferita una corretta aderenza alla dieta prescritta e la riduzione del numero di unità di insulina prescritte, Simone ha continuato a presentare ipoglicemie e perdita di peso.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

Nell'ipotesi diagnostica di un disturbo comportamentale alimentare di tipo restrittivo/anoressia nervosa (classificazione DSM V) è stato intensificato il supporto psicologico e la rieducazione alimentare in accordo con la neuropsichiatra di riferimento ed è stato disposto un ricovero. Durante la degenza è stata reimpostata la terapia insulinica in relazione al nuovo regime alimentare a cui Simone ha aderito dopo alcuni fallimenti iniziali. Durante il ricovero sono state escluse cause ormonali o infettive concausa di dimagrimento.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

Grazie alle cure offerte e alla partecipazione attiva di tutto il personale coinvolto nei mesi è stato possibile ottenere un incremento del peso, che è tornato ai valori precedenti l'inizio dei disturbi alimentari. A ciò si è accompagnata una drastica riduzione del numero di ipoglicemie, senza mai abbandonare la dieta aglutinata. Il percorso terapeutico è ancora lungo, Simone presenta ancora uno schema di autovalutazione disfunzionale con: estrema preoccupazione per il peso corporeo, il controllo delle glicemie e degli alimenti consentiti dalla dieta aglutinata (escludendo anche alimenti naturalmente privi di glutine).

Conclusioni

L'anoressia nervosa colpisce tipicamente le ragazze durante l'adolescenza e la giovane età adulta, ma il numero dei ragazzi affetti è in crescita negli ultimi decenni. Le patologie che impongono vincoli dietetici, come la celiachia e il diabete di tipo 1 sono associate a un aumento del rischio di disturbi del comportamento alimentare. Più frequentemente una dieta restrittiva, in soggetti sensibili, scatena modelli di consumo ossessivo; per altri, le restrizioni alimentari agiscono attivando lo schema di autovalutazione disfunzionale, precipitando la situazione nel disturbo alimentare. A tutti i pazienti con patologie croniche, ancor più se concomitanti, che impongono vincoli dietetici restrittivi, deve essere offerto in modo attivo il supporto multidisciplinare che coinvolga il gastroenterologo e/o specialista di riferimento, psicologo, dietologo, dietista. In tutte le fasi del follow up clinico

del paziente celiaco bisogna considerare sia le complicanze gastrointestinali che extraintestinali, compreso le patologie psichiatriche. In tutte le pazienti anoressiche deve essere esclusa una malattia celiaca per l'aumento del rischio di misdiagnosi, non è ancora chiaro in letteratura l'aumento del rischio di incidenza reciproco delle due patologie.

Caso Clinico 4

Francesca Ferretti, Ospedale Bambino Gesù, Roma

Anamnesi

Risulta Bambina di 2 anni AF: nonno paterno con DM2, nonno materno deceduto affetto da Parkinson, nonna materna ipertensione arteriosa. B. di 2 aa; AF non contributiva; II°genita, nata a termine da gravidanza normocondotta. PN 3160gr. Allattamento al seno esclusivo fino a 12 mesi. Divezzamento regolare. Riferito benessere clinico fino a gennaio 2017 quando ha iniziato a presentare calo ponderale, distensione addominale ed episodi di diarrea auto-limitantesi. Pertanto i genitori in data 01/07/2017 la conducevano presso il nostro DEA per diarrea da 5 giorni, senza sangue né muco, in apiressia, inappetenza e difficoltà all'assunzione di liquidi.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

All'EO: condizioni generali discrete; stato nutrizionale buono, colorito roseo-pallido, non ittero, addome globoso, meteorico, peristalsi presente e vivace; OI nei limiti. In DEA eseguiti esami che mostravano Albumina 2,9 g/dL con INR 5.45, iposodiemia 132 mEq, indici di flogosi aumentati (PCR 3.13 mg/dl). A ricovero vengono ripetuti esami con conferma ipoalbuminemia (2,6g/dL) e INR 6,5. Vengono convocati Ematologo e Gastroenterologo; il I° chiede dosaggio dei fattori coagulazione II, VII, IX, X eseguire infusione venosa di vitamina K 10 mg e ripetere la coagulazione a distanza di 2 ore dal termine dell'infusione. Richiedere plasma a disposizione. La II° oltre a confermare le disposizioni dell'Ematologo suggerisce di effettuare anche dosaggio Ammonio, eco addome e screening per celiachia. Ecografia addominale: organi parenchimatosi nella norma; distensione anse intestinali (non ispessimenti parietali). Rapida correzione INR già dopo I° somministrazione vit K; dosaggio fattori vit K dip. risultavano molto bassi; dimeri fibrinogeno vn così come tutti i parametri epatici. Screening per celiachia dopo 3 gg: ac. antiTgA 10214 (vn < 20), IgA 123 mg/dL, EMA +, DPGG 400 (vn <20); ripetuti ac antiTgA 12909, DPGG 421; DQ2+ (DQA1*05,DQB1*02 in omozig).

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

Fluidoterapia , Konakion ev per 3 gg, Albumina 20% 10 gr ev Dieta priva di glutine.

Conclusioni

Caso di celiachia paucisintomatico con deficit di Vit K e ipoalbuminemia.

Caso Clinico 5

Francesco Miconi, Università degli studi di Perugia

Anamnesi

Si presenta una ragazza di 12 anni con familiarità per diabete e storia personale di ipercolesterolemia per obesità con incremento ponderale di 6 kg negli ultimi 2 mesi. Si rilevano strie rubre all'addome e alle cosce. Ha facies lunare, con recente accumulo di grasso in regione cervicale e acanthosis nigricans delle ascelle, dell'inguine e del collo. È prepubere e nega significativi cambiamenti nelle sue abitudini alimentari recenti.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

Nel sospetto di un ipersurrenalismo e di sindrome di Cushing vengono prelevati emocromo con formula, assetto lipidico, ACTH, glicemia, curva da carico, profilo tiroideo, IgA, IgG, IgM, anticorpi antitransglutaminasi e antiendomizio, tipizzazione HLA, profilo tiroideo, ferritina, transaminasi, cortisolemia a mezzanotte e cortisoloria nelle 24 ore, test da soppressione con desametasone a alto dosaggio e si pratica ecografia addominale.

Gli accertamenti endocrini risultano nei limiti salvo un modico aumento della cortisoloria, si pone invece diagnosi di celiachia sulla base dei risultati positivi ad alto titolo degli anticorpi antitransglutaminasi e antiendomizio congiuntamente alla tipizzazione HLA, secondo i criteri ESPGHAN 2012.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

I segni clinici sono dipesi da una condizione di ipercortisolemia parafisiologica nota come sindrome di Pseudo-Cushing. La paziente presentava 3 dei criteri IDF per sindrome metabolica in età pediatrica, un aspetto che associato ai molteplici problemi metabolici può aver contribuito alla ipercortisolemia. Si è posta diagnosi di celiachia e nelle visite di follow-up dopo aver inserito una dieta senza glutine si è rilevato un miglioramento clinico progressivo del quadro cutaneo e generale accompagnato però dal persistere del progressivo incremento ponderale.

Conclusioni

L'ipercortisolismo in pediatria può essere secondario a molteplici condizioni, è descritta in letteratura una associazione con il diabete, la sindrome metabolica e la depressione. Non bisogna però dimenticare la possibilità di malattia celiaca anche nei bambini sovrappeso o obesi. Nel nostro caso la celiachia può aver contribuito al quadro di Pseudo-Cushing, ipotesi confermata dai benefici osservati nella paziente dopo la dieta senza glutine.

II SESSIONE.

4° WORKSHOP RICERCA FC

Grant FC: Progress and Final Scientific Reports

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

Sensibilità al Glutine Non Celiaca – Area: Genetica

Identification of gene-expression profiling to the diagnosis of celiac disease and gluten sensitivity (Un test genetico per la diagnosi della sensibilità al glutine non celiaca)

Michele Sallese, Università degli studi "Gabriele d'Annunzio", Chieti

Background e dati preliminari

La sensibilità al glutine non celiaca (NCGS) è un disturbo associato al consumo di glutine che provoca dolori addominali, diarrea, stanchezza, mente annebbiata e dermatiti, in analogia con altre patologie legate al glutine¹⁻³. Nei pazienti affetti da NCGS si riscontra un lieve aumento dei linfociti intraepiteliali, mentre non sono presenti gli anticorpi anti-transglutaminasi, anti-endomisio e l'atrofia villosa, elementi caratteristici della malattia celiaca^{1,3}. Attualmente, la diagnosi di NCGS è basata solo sui sintomi e sull'esclusione di altre affezioni come la malattia celiaca, l'allergia al grano e la sindrome dell'intestino irritabile^{3,4}. In questo lavoro abbiamo analizzato l'espressione genica e di miRNA per identificare profili di espressione caratteristici da utilizzare come biomarcatori a supporto della diagnosi di NCGS.

Metodologia

Sono stati reclutati pazienti con diagnosi di NCGS eseguita sulla base dei criteri disponibili all'inizio dello studio⁵, e pazienti affetti da celiachia diagnosticata sulla base della positività anticorpale e istologica, tutti di nuova diagnosi. Come controlli sono stati reclutati pazienti affetti da patologie gastrointestinali non correlate al consumo di glutine. I pazienti sono stati sottoposti a biopsia duodenale e l'RNA totale estratto da questi campioni è stato utilizzato per determinare l'espressione di geni e miRNA selezionati tramite qPCR. Inoltre, è stata condotta un'analisi di espressione genica "genome wide" tramite microarray. Alcuni miRNA differenzialmente espressi sono stati validati in un secondo gruppo di pazienti.

Risultati ottenuti

L'analisi di espressione di 30 geni, tramite qPCR, non ha rilevato geni con espressione differenziale tra i pazienti NCGS e i controlli, mentre ha confermato l'espressione differente di diversi geni (ad esempio APOA1, APOC3, CDH1) nei pazienti celiaci rispetto ai controlli.

Lo studio genome wide condotto nei pazienti NCGS ha identificato 37 trascritti la cui espressione è potenzialmente diversa dai controlli ($p < 0.05$, aggiustato con il metodo di Benjamini-Hochberg; $FC > 2$). È rilevante notare che circa il 50% di questi trascritti appartiene alla classe dei long non-coding RNA (lncRNA), un gruppo emergente di RNA con funzioni regolatorie. Il confronto, genome wide, dell'espressione genica tra pazienti NCGS e celiaci ha identificato 30 trascritti differenziali, di cui il 20% era costituito da lncRNA.

L'analisi di espressione dei miRNA condotta con il "miScript miRNA PCR Array" ha portato al-

l'identificazione di 9 miRNA differenzialmente espressi nei pazienti NCGS rispetto ai controlli (FDR = 10%, metodo di Benjamini, Krieger e Yekutieli). Sei di questi miRNA sono stati validati con successo, (FDR = 5%), su una coorte più ampia di pazienti.

Conclusioni e prospettive

I risultati dello studio indicano che:

1. gli NCGS rappresentano una popolazione geneticamente distinta dai celiaci e dai controlli;
2. solo un numero limitato di trascritti presenta livelli di espressione differenziale in pazienti affetti da NCGS rispetto ai celiaci e ai controlli. Tali alterazioni sono potenzialmente utilizzabili per corroborare la diagnosi di NCGS, sia in positivo che in negativo, se opportunamente validati;
3. un profilo di espressione costituito da 6 miRNA è caratterizzante per i pazienti affetti da NCGS; questa peculiarità può essere sfruttata come biomcatore a supporto della diagnosi di NCGS.

Pubblicazioni del Grant ad oggi

1. Emanuela Clemente, Konstantinos Efthymakis, Erminia Carletti, Vanessa Capone, Samantha Sperduti, Marta Di Nicola, Matteo Neri, and Michele Salles. miRNA signature as a potential biomarker to the diagnosis of non-celiac gluten sensitivity. Manoscritto in preparazione.
2. Konstantinos Efthymakis, Emanuela Clemente, Matteo Neri and Michele Salles. Gene expression signature can potentially contribute to the diagnosis of non-celiac gluten sensitivity. Manoscritto in preparazione.

Riferimenti bibliografici

1. Mansueto P, Seidita A., D'Alcamo A., Carroccio A. Non-Celiac Gluten Sensitivity: Literature Review. Journal of the American College of Nutrition, 2014; 33: 39-54.
2. Fasano A., Sapone A., Zevallos V., Schuppan D. Nonceliac gluten sensitivity. Gastroenterology, 2015; 148: 1195-1204.
3. Catassi C, Bai JC, Bonaz B, Bouma G, Calabro A, Carroccio A, et al. Non-Celiac Gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. Nutrients, 2013; 5: 3839-3853.
4. Catassi C., Elli L., Bonaz B., Bouma G., Carroccio A., Castillejo G., Cellier C., Cristofori F., de Magistris L., Dolinsek J., Dieterich W., Francavilla R., Hadjivassiliou M., Holtmeier W., Korner U., Leffler D.A., Lundin K.E.A., Mazzarella G., Mulder C.J., Pellegrini N., Rostami K., Sanders D., Skodje G.I., Schuppan D., Ullrich R., Volta U., Williams M., Zevallos V.F., Zopf Y., Fasano A. Diagnosis of Non-Celiac Gluten Sensitivity (NCGS): The Salerno Experts' Criteria. Nutrients, 2015; 7: 4966-4977.
5. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M, et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. BMC Med 2012, 10: 13.

Final Report Investigator Grant triennale FC 053/2013 (Relazione Orale e Poster P_FC_053/2013, Pannello 12)

Celiachia – Area: Immunologia

Natural history of innate immunity in coeliac disease: triggers, pathways and clinical implications (La risposta immune innata nella malattia celiaca: marcatori, fattori scatenanti, evoluzione e implicazioni cliniche)

Riccardo Troncone, Università degli Studi Federico II, Napoli

Background e dati preliminari

La malattia celiaca (CD) è una malattia autoimmune, causata dall'ingestione di glutine in individui geneticamente suscettibili. Alcuni peptidi del glutine generano una risposta cellulare T mentre altri, come il peptide dell'A-gliadina P31-43, attivano i percorsi della immunità innata. In particolare, il P31-43 è in grado di alterare il traffico endocitico e di incrementare l'espressione dell'interleuchina-15 (IL-15), una citochina coinvolta nell'attivazione di linfociti intraepiteliali nella mucosa. Come suggerito da studi epidemiologici e genetici altri fattori ambientali potrebbero essere in grado di suscitare lo sviluppo di CD in individui geneticamente suscettibili, tra questi in primo luogo le infezioni virali. A favore del possibile ruolo di virus, dati preliminari di altri laboratori e del nostro hanno mostrato un aumento di IFN di tipo 1 nel piccolo intestino di pazienti celiaci.

Obiettivo di questo progetto è stato quello di studiare i pathways della immunità innata attivati da peptidi di glutine e/o virus e il loro ruolo nell'induzione del danno, analizzandoli nel contesto di diverse fasi della malattia.

Metodologia

Sono state utilizzate linee di celle epiteliali (CaCo2) e biopsie ottenute da pazienti controllo e da pazienti celiaci in fase attiva di malattia e potenziali. Sono state studiate in condizioni basali e dopo cultura in presenza di peptidi della gliadina. PCR, immunisto chimica e analisi biochimica delle proteine (Western blot) ci hanno consentito di valutare i pathways attivati dai peptidi della gliadina e dai ligandi virali. Esperimenti condotti silenziando HRS hanno consentito di valutare il ruolo delle alterazioni del traffico endocitico nell'attivazione dell'immunità innata. Lo studio delle biopsie di soggetti con celiachia potenziale mediante immunisto chimica e FACS ha permesso di chiarire alcuni dei meccanismi responsabili dello sviluppo dell'atrofia dei villi.

Risultati ottenuti

In questo progetto abbiamo dimostrato:

- 1) Oltre all'aumentata espressione di IL15, l'attivazione del pathway dell'interferone alpha (IFN) nell'intestino di soggetti celiaci in fase acuta.
- 2) Che il peptide della gliadina P31-43, resistente alle endopeptidasi intestinali, è in grado di indurre l'attivazione dell'INF-alpha in biopsie di soggetti celiaci in fase acuta e in fase di remissione della malattia.
- 3) Che in un modello cellulare di epitelio intestinale il P31-43 attiva la via dell'INF-alpha analogamente al ligando virale Loxoribine (LOX). Le due molecole possono agire sinergisticamente e in entrambi i casi causano una alterazione del traffico vescicolare intracellulare.
- 4) Che il blocco del traffico intracellulare è in grado "per sé" di indurre attivazione del pathway dell'INF-alpha.
- 5) Che alterazioni sono costitutivamente presenti già nei soggetti con celiachia potenziale

rendendoli suscettibili all'azione del peptide 31-43, ma che, in questi ultimi, i meccanismi dell'immunità innata non sono pienamente espressi. In particolare la minore espressione di IL21 e la diversa espressione di marcatori NK sui linfociti intraepiteliali è verosimilmente il motivo del mancato sviluppo di atrofia dei villi.

Conclusioni e prospettive

I risultati qui presentati suggeriscono che insieme alle infezioni virali, proteine alimentari, in grado di simulare e potenziare la risposta immunitaria innata ai virus, possono innescare una malattia autoimmune. Nel caso della celiachia, perché si abbia il danno, è necessaria accanto alla risposta CD4 adattativa la piena espressione dei meccanismi dell'immunità innata.

Pubblicazioni del Grant ad oggi

1. Setty M, Discepolo V, Abadie V, Kamhawi S, Mayassi T, Kent A, Ciszewski C, Maglio M, Kistner E, Bhagat G, Semrad C, Kupfer SS, Green PH, Guandalini S, Troncone R, Murray JA, Turner JR, Jabri B. Distinct and synergistic contributions of epithelial stress and adaptive immunity to functions of intraepithelial killer cells and active celiac disease. *Gastroenterology* 2015;149:681-91.
2. Tosco A, Maglio M, Paparo F, Greco L, Troncone R, Auricchio R. Discriminant score for celiac disease based on immunohistochemical analysis of duodenal biopsies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60:621-5.
3. Borrelli M, Gianfrani C, Lania G, Aitoro R, Ferrara K, Nanayakkara M, Ponticelli D, Zanzi D, Discepolo V, Vitale S, Barone MV, Troncone R, Auricchio R, Maglio M. In the Intestinal Mucosa of Children With Potential Celiac Disease IL-21 and IL-17A are Less Expressed than in the Active Disease. *Am J Gastroenterol.* 2016;111:134-44.
4. Paoella G, Lepretti M, Barone MV, Nanayakkara M, Di Zenzo M, Sblattero D, Auricchio S, Esposito C, Caputo I. Celiac anti-type 2 transglutaminase antibodies induce differential effects in fibroblasts from celiac disease patients and from healthy subjects. *Amino Acids.* 2017;49:541-550.
5. Camarca A, Auricchio R, Picascia S, Fierro O, Maglio M, Miele E, Malamisura B, Greco L, Troncone R, Gianfrani C. Gliadin-reactive T cells in Italian children from preventCD cohort at high risk of celiac disease. *Pediatr Allergy Immunol* 2017;28:362-369.
6. Nanayakkara M, Lania G, Maglio M, Auricchio R, De Musis C, Discepolo V, Miele E, Jabri B, Troncone R, Auricchio S, Barone Mv. A-gliadin undigested peptide activates the IFN-alpha pathway in enterocytes by interfering with endocytic trafficking [Submitted]
7. Lania G, Nanayakkara M, Maglio M, Auricchio R, De Matteis A, Rizzo R, Luini A, Discepolo V, Troncone R, Auricchio S, Barone MV. Constitutive alterations of vesicular trafficking predispose to the innate immune response to gliadin in Celiac Disease. [Submitted]

Riferimenti bibliografici

1. Nanayakkara M1, Lania G, Maglio M, Discepolo V, Sarno M, Gaito A, Troncone R, Auricchio S, Auricchio R, Barone

- MV. An undigested gliadin peptide activates innate immunity and proliferative signaling in enterocytes: the role in celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2013; 98:1123-35.
2. Barone MV, Troncone R, Auricchio S. Gliadin peptides as triggers of the proliferative and stress/innate immune response of the celiac small intestinal mucosa. *Int J Mol Sci.* 2014; 15:20518-37.
3. Barone MV, Zimmer KP. Endocytosis and transcytosis of gliadin peptides. *Mol Cell Pediatr.* 2016;3:8.

Final Report Investigator Grant triennale FC 018/2013 (Relazione Orale e Poster P_FC_018/2013, Pannello 10)

Celiachia – Area: Genetica

Circulating MicroRNA signatures for the identification of new potential diagnostic biomarkers of Celiac Disease and the response to gluten-free diet (Profili di microRNA circolanti per l'identificazione di nuovi potenziali biomarcatori per la diagnosi della malattia celiaca e per il monitoraggio della risposta alla dieta priva di glutine)

Andrea Masotti, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Background e dati preliminari

La malattia celiaca (CD) è una enteropatia sistemica immuno-mediata innescata dal glutine alimentare. L'unico trattamento è una dieta priva di glutine (GFD) che porta alla remissione sintomatica, sierologica e istologica nella maggior parte dei pazienti. L'attuale gold standard per la diagnosi è una piccola biopsia intestinale (con sierologia positiva), sebbene in età pediatrica sia necessaria in caso di sierologia dubbia e solo quando sia ritenuta praticabile. Inoltre, non esistono linee guida chiare per valutare l'esito o l'adesione al GFD. Quindi, la scoperta di nuovi biomarcatori è necessaria non solo per la diagnosi di CD, ma anche per la valutazione della risposta/adesione alla dieta.

Negli ultimi anni, è emersa in letteratura l'importanza dei microRNA circolanti come biomarcatori in molte malattie [1-4]. Questi microRNAs possono essere esportati dai tessuti nel torrente circolatorio come conseguenza della malattia o delle condizioni infiammatorie. La nostra ipotesi è che i miRNA circolanti possano essere utilizzati in combinazione con altri test sierologici come biomarcatori meno invasivi, rispetto alla biopsia, per la diagnosi della CD e la risposta alla dieta.

Metodologia

Sono stati arruolati 64 pazienti pediatrici con malattia celiaca, di età compresa tra i 3 e i 15 anni, 141 celiaci a dieta priva di glutine e 94 controlli sani (studio approvato dal comitato etico dell'Ospedale Bambino Gesù). Tale popolazione è stata suddivisa in due gruppi, uno di analisi e uno di validazione. A tale casistica si è aggiunta successivamente una casistica di 6 pazienti con morbo di Crohn e 8 pazienti con rettocolite ulcerosa (in collaborazione con la Dr.ssa Lionetti e Dr.ssa Gatti del gruppo del Prof. Catassi di Ancona) utilizzata per ulteriore confronto. Per l'individuazione dei microRNA circolanti abbiamo utilizzato il sequenziamento

di nuova generazione (NGS, next generation sequencing), la qPCR realtime e per confronto, su un numero più ristretto di pazienti, la tecnologia Fireplex.

Risultati ottenuti

I dati ottenuti da questo studio hanno evidenziato che i profili di espressione dei microRNA nei pazienti celiaci sono significativamente diversi rispetto ai controlli e ai celiaci a dieta priva di glutine. È stato ricavato un pannello di microRNA significativamente deregolati che sono stati confrontati ulteriormente con una popolazione di pazienti con morbo di Crohn e con rettocolite ulcerosa per ricavare similitudini e differenze. Il confronto delle tecniche sperimentali utilizzate ha consentito di identificare i punti di forza e di debolezza di ciascuna tecnica e di suggerire la migliore strategia analitica per l'identificazione di biomarcatori. Infine è stata condotta un'analisi preliminare di correlazione per identificare quei microRNA da poter utilizzare come biomarcatori di danno intestinale, di severità di patologia e di rispondenza alla dieta.

Conclusioni e prospettive

Il presente studio ha consentito di identificare profili specifici di microRNA circolanti nella malattia celiaca e durante la dieta priva di glutine, da utilizzare come biomarcatori diagnostici e prognostici o da utilizzare come marcatori di danno intestinale. Inoltre questo studio ha consentito di studiare il profilo dei microRNA circolanti anche nel morbo di Crohn e nella rettocolite ulcerosa, sebbene sia necessaria una casistica più ampia per ottenere risultati conclusivi.

Pubblicazioni del Grant ad oggi

1. Baldassarre A, Felli C, Prantera G, Masotti A. Circulating microRNAs and Bioinformatics Tools to Discover Novel Diagnostic Biomarkers of Pediatric Diseases. *Genes* (Basel). 2017 Sep 19;8(9).
2. Felli C, Baldassarre A, Masotti A. Intestinal and Circulating MicroRNAs in Coeliac Disease. *Int J Mol Sci*. 2017 Sep 6;18(9).

Riferimenti bibliografici

1. Masotti A, Baldassarre A, Guzzo MP, Iannuccelli C, Barbato C, Di Franco M. Circulating microRNA Profiles as Liquid Biopsies for the Characterization and Diagnosis of Fibromyalgia Syndrome. *Mol Neurobiol*. 2016 Oct 29.
2. Masotti A, Baldassarre A, Fabrizi M, Olivero G, Loreti MC, Giammaria P, Veronelli P, Graziani MP, Manco M. Oral glucose tolerance test unravels circulating miRNAs associated with insulin resistance in obese preschoolers. *Pediatr Obes*. 2017 Jun;12(3):229-238.
3. Baldassarre A, Felli C, Prantera G, Masotti A. Circulating microRNAs and Bioinformatics Tools to Discover Novel Diagnostic Biomarkers of Pediatric Diseases. *Genes* (Basel). 2017 Sep 19;8(9).
4. Felli C, Baldassarre A, Masotti A. Intestinal and Circulating MicroRNAs in Coeliac Disease. *Int J Mol Sci*. 2017 Sep 6;18(9).

Celiachia – Area: Genetica

Study of the gut microbiome in the adult celiac disease pathogenesis (Studio del microbioma intestinale nella patogenesi della malattia celiaca nell'adulto)

Lucia Sacchetti, Ceinge - Biotechnologie Avanzate - S.C.A.R.L., Napoli

Background

La celiachia (CD) è un'enteropatia autoimmune che colpisce più dell'1% dei caucasici e alla cui patogenesi concorrono fattori genetici (es. geni delle molecole HLA-DQ2/DQ8) e fattori ambientali. Tra questi ultimi, a parte il ruolo ben noto del glutine, quello del microbioma intestinale non è stato sufficientemente approfondito.

Obiettivi

La ricerca si è proposta i seguenti obiettivi: A) Caratterizzare il microbioma duodenale e orale in tre gruppi di soggetti adulti: 1) controlli, 2) celiaci attivi (aCD), 3) celiaci a dieta senza glutine (GFD), tramite il sequenziamento della regione 16S rRNA e tramite tecniche culturali. B) Valutare l'effetto infiammatorio di eventuali specie microbiche associate alla celiachia. C) Paragonare la disbiosi osservata a livello duodenale nella celiachia con quella trovata nei GFD e nei controlli. D) Rilevare eventuali alterazioni microbiologiche comuni tra duodeno e orofaringe nello stesso paziente aCD da poter proporre quale nuovo indicatore diagnostico.

Metodologia

Studio approvato dal Comitato Etico dell'Università Federico II di Napoli. Previa raccolta del consenso informato, sono stati arruolati 97 soggetti (34 CD attivi, 28 GFD e 36 controlli). Il microbioma intestinale è stato valutato, nei campioni duodenali di 41 soggetti e nei tamponi orofaringei di ulteriori 56 soggetti, con tecniche metagenomiche e culturali. Le sequenze di DNA batterico sono state analizzate bioinformaticamente (QIIME v.1.9.1). Il potere infiammatorio della specie batterica CD-associata è stato testato su cellule dendritiche di topo ed umane, nonché su espianti intestinali (*in vitro*).

Risultati ottenuti

Il micro bioma duodenale è caratterizzato da 5 phyla batterici e il genere *Neisseria* (beta-Proteobacteria) è aumentato negli aCD rispetto agli altri due gruppi ($p < 0,05$). L'esame culturale+mass-spectrometry ha identificato la *N.flavescens* (*Nf*) come specie più abbondante negli aCD e stabilito la sua vitalità. La CD-*Nf* mostra proprietà infiammatorie: nel surnatante di cellule dendritiche (DCs) trattate con la *Nf* (lisato) isolata dal duodeno di aCD, i livelli di IL-12p40 e TNF- α (indicatori di infiammazione), risultano significativamente più alti rispetto a quelli misurati in DCs non trattate. Inoltre, in espianti *ex-vivo* di mucosa duodenale di controlli espo-

sti alla CD-*Nf* alcuni marcatori di infiammazione (HLA-DR e COX-2) sono aumentati. Nell'orofaringe di un sottogruppo di soggetti aCD, nei quali è stato valutato anche il microbioma duodenale, abbiamo trovato un profilo microbico simile a quello del duodeno con aumento dei Proteobacteria e della *Nf*, viceversa il microbioma orofaringeo dei controlli e GFD è simile.

Conclusioni e Prospettive

Il microbioma intestinale nei celiaci è caratterizzato dall'aumento del batterio *Neisseria flavescens* con proprietà infiammatorie. Se questa disbiosi precede (causa) o segue (conseguenza) le alterazioni intestinali nella celiachia non è possibile ancora dirlo, ma certamente essa rappresenta un fattore concorrente allo stato infiammatorio dell'epitelio intestinale. Nostri dati preliminari suggeriscono che nel tratto gastrointestinale del celiaco c'è una linea di continuità tra il microbioma orofaringeo e duodenale, infatti, esiste un profilo microbico molto simile nei due siti. Quest'ultimo risultato, se confermato in altre coorti, potrebbe essere vantaggioso per il paziente, infatti raccogliere un tampone faringeo è certamente una procedura meno invasiva della biopsia duodenale e lo studio del microbioma orofaringeo potrebbe supportare la diagnosi ed essere usato per il monitoraggio della gluten-free diet.

Pubblicazioni del Grant ad oggi

1. V. D'Argenio et al. Metagenomics Reveals Dysbiosis and a potentially pathogenic *N. flavescens* strain in duodenum of adults celiac patients. The American Journal of Gastroenterology (2016); doi:10.1038/ajg.2016.95.
2. V. D'Argenio et al. No change in the mucosal gut mycobioma is associated with celiac disease-specific microbiome alteration in adult patients. The American Journal of Gastroenterology (2016); doi:10.1038/ajg.2016.227.

Progress Report Investigator Grant triennale FC 006/2015

(Relazione Orale e Poster P_FC_006/2015, Pannello 14)

Celiachia – Area: Immunologia

Role of mTOR Kinase Cascade in Celiac Disease (Ruolo patogenico della chinasi mTOR nella malattia celiaca)

Giovanni Monteleone, Policlinico Tor Vergata, Roma

Background

Il danno mucosale nella malattia celiaca (MC) è mediato da una risposta infiammatoria indotta dal glutine che è caratterizzata da un'eccessiva attivazione delle cellule T effettrici e dei macrofagi e dall'aumentata produzione di citochine come l'interleuchina (IL)-15, IL-17A, IL-21 e interferon (IFN)- γ [1-4]. Nonostante queste evidenze, non sono del tutto noti i meccanismi che sostengono e amplificano l'attivazione delle cellule immunitarie. Il pathway di mTOR (mammalian target of Rapamycin) è in grado di influenzare positivamente o negativamente

la sopravvivenza e la crescita cellulare e il differenziamento delle cellule T. Per tale motivo l'aumentata attivazione di mTOR è coinvolta in molte patologie immuno-infiammatorie anche intestinali [5]. L'obiettivo di questo progetto è valutare il ruolo di mTOR nella MC.

Metodologia

L'espressione delle forme fosforilate (p)/attive di 4EBP e p70S6K, due proteine attivate da mTOR, è stata valutata tramite Western Blotting nei lisati proteici di biopsie duodenali prelevate da pazienti con celiachia attiva e inattiva e da controlli. L'espressione in RNA di TSC1 e TSC2, due inibitori di mTOR, è stata valutata in biopsie duodenali di pazienti con celiachia attiva e inattiva e controlli tramite Real-time PCR. Sono state effettuate colture d'organo di biopsie duodenali di pazienti con celiachia attiva trattate con wortmannina, un inibitore di akt, ed è stata valutata l'espressione proteica di p-4EBP e p-p70S6K. Sono state effettuate colture d'organo di biopsie duodenali di pazienti con celiachia inattiva trattate con gliadina ed è stata valutata l'espressione proteica di p-4EBP e p-p70S6K. Infine abbiamo valutato l'effetto di citochine infiammatorie prodotte nella celiachia attiva (IL-15, IL-17A e IL-21) sull'espressione di p-4EBP in linfociti intraepiteliali (IELs) isolati da pezzi operatori di digiuno sano.

Risultati ottenuti ad oggi

L'espressione di p-4EBP e p-p70 è incrementata nei pazienti con celiachia attiva rispetto ai controlli, indicando che mTOR è attivato nella MC. I livelli di TSC1 e TSC2 sono ridotti nei pazienti con celiachia attiva rispetto ai controlli. L'espressione di p-4EBP e p-p70 si riduce in seguito al trattamento con wortmannina, mentre aumenta dopo stimolo con gliadina. La stimolazione degli IELs con IL-15, IL-17A e IL-21 determina un aumento dell'espressione di p-4EBP.

Conclusioni

I dati finora ottenuti indicano che l'attivazione di mTOR è maggiore nella mucosa duodenale di pazienti affetti da celiachia e suggeriscono che tale induzione sia riconducibile all'azione di citochine infiammatorie.

Riferimenti bibliografici

1. Maiuri L, Ciacci C, Auricchio S, Brown V, Quarantino S, Londei M. "Interleukin 15 mediates epithelial changes in celiac disease". *Gastroenterology*. 2000 Oct;119(4):996-1006.
2. Nilsen EM1, Lundin KE, Krajci P, Scott H, Sollid LM, Brandtzaeg P. "Gluten specific, HLA-DQ restricted T cells from coeliac mucosa produce cytokines with Th1 or Th0 profile dominated by interferon gamma". *Gut*. 1995 Dec;37(6):766-76.
3. Ivan Monteleone, Massimiliano Sarra, Giovanna Del Vecchio Blanco, Omero Alessandro Paoluzi, Eleonora Franzè, Daniele Fina, Alessia Fabrizi, Thomas T. MacDonald, Francesco Pallone and Giovanni Monteleone. "Characterization of IL17A-Producing Cells in Celiac Disease Mucosa". *J Immunol*. 2010 Feb 15;184(4):2211-8. doi: 10.4049/jimmunol.0901919.
4. Bodd M1, Ráki M, Tollefsen S, Fallang LE, Bergseng E, Lundin KE, Sollid LM. "HLADQ2-restricted gluten-reactive T cells produce IL-21 but not IL-17 or IL-22". *Mucosal Immunol*. 2010 Nov;3(6):594-601. doi: 10.1038/mi.2010.36. Epub 2010 Jun 23
5. E. Dazert, MN Hall. "mTOR signaling in disease". *Curr Opin Cell Biol*. 2011 Dec;23(6):744-55. doi: 10.1016/j.ceb.2011.09.003. Epub 2011 Sep 29.

Celiachia – Area: Clinica

Vitamin D and Celiac Disease - VitaCeD (Ruolo delle vitamine D nella celiachia: dati preliminari di uno studio in vivo e in vitro)

Carolina Ciacci, AOU S.Giovanni e Ruggi d'Aragona, Università di Salerno

Obiettivo

Correlare, in celiaci, livelli sierici di Vitamina D e l'infiammazione nella mucosa intestinale.

Metodi

I livelli delle due isoforme di Vitamina D endogena (la 25-idrossi-vitaminaD3 e la vitamina D 1,25-OH, cioè il calcitriolo) sono stati analizzati alla diagnosi e al follow up e nel siero (sistema LIAISON®). Contestualmente le biopsie intestinali di pazienti e controlli sono state analizzate per gli effetti della vitamina D esogena sul processo infiammatorio. Le biopsie di pazienti celiaci e controllo sono state esposte al peptide tossico P31-43, in presenza o meno di 100nM di 25-hydroxy VitaminaD3 e calcitriolo 5 µM. Sulle mucose abbiamo analizzato l'espressione della transglutaminasi-tissutale2 (TG2) e dell'HLA-DR, mediatori del processo infiammatorio in celiachia [4].

Risultati ottenuti ad oggi

Sono stati arruolati 56 pazienti sottoposti a prelievi di sangue per il dosaggio delle vitamine D. Ad oggi abbiamo dati relativi a 31 pazienti alla diagnosi e 25 al follow-up. I livelli di vitamine D sono simili in tutti i pazienti e non correlano con la presenza di danno intestinale. Abbiamo dati di colture di 9 pazienti non a dieta e 2 pazienti a dieta. I risultati preliminari, espressi come intensità media di fluorescenza osservata, indicano un potenziale effetto infiammatorio sulla mucosa della vitamina 25-idrossi-vitaminaD3 e del calcitriolo se paragonati alle biopsie non trattate, immerse nel solo mezzo di coltura. Le vitamine D sembrano competere con l'effetto tossico della frazione p31-43 di gliadina. I dati finora ottenuti sono inattesi e in apparente contrasto con la letteratura, che indica un ruolo anti-infiammatorio per la vitamina D.

SESSIONE POSTER

Una strategia di riduzione della sensibilizzazione per pazienti allergici al frumento: produzione di linee di frumento con ridotto contenuto di α -gliadine

(Poster P001/2017, Pannello 1)

Roberta Lupi, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo

Background

L'allergia alimentare al frumento colpisce lo 0.1-0.5% della popolazione e si manifesta con sintomi più o meno severi: dermatite atopica, problemi digestivi, fino ad arrivare a reazioni estremamente gravi come lo shock anafilattico. Le proteine responsabili dell'allergia al frumento si ritrovano sia nella frazione proteica salino-solubile (Albumine/Globuline o A/G) sia nella frazione prolaminica composta da gliadine e glutenine. Negli ultimi anni le tecniche di miglioramento genetico sono state impiegate per ottenere delle linee di frumento sprovviste di alcuni allergeni con l'obiettivo di creare dei grani ipoallergenici. Presso il DAFNE dell'Università della Tuscia sono state create delle linee di delezione di frumento tenero sprovviste di gran parte delle α -gliadine.

Lo Studio

L'obiettivo del lavoro è stato quello di valutare il potenziale allergenico di queste linee di frumento prive o a ridotto contenuto di α -gliadine, confrontandole con la linea controllo.

Abbiamo valutato come prima cosa eventuali effetti di compensazione a carico di altre proteine della cariosside, causati dalla diminuzione o dall'assenza di α -gliadine nelle linee in esame. Un'analisi proteomica delle tre principali frazioni proteiche: A/G, gliadine (Gli) e glutenine (Glu) è stata quindi condotta. Successivamente la reattività delle frazioni A/G e Gli è stata confrontata tra le linee in esame usando 21 sieri di pazienti allergici al frumento. Alcuni di questi sieri sono stati fatti reagire con le frazioni A/G e Gli della linea controllo e la linea con il minor contenuto di α -gliadine, in un test in vitro di attivazione di basofili di ratto umanizzati (RBL-SX38).

La riduzione parziale o totale di α -gliadine nelle linee in esame ha comportato un aumento significativo della frazione corrispondente alle gliadine di tipo ω . Alcune differenze sono state identificate anche nella frazione solubile. Tali risultati sono stati ottenuti tramite RP-HPLC ed i picchi differenzialmente espressi verranno prossimamente analizzati con spettrometria di massa al fine di identificare le proteine che sono state impattate dalla delezione delle α -gliadine. L'ELISA ha mostrato una riduzione significativa della risposta IgE tra la linea controllo e la linea Gli-A2D2 sia per la frazione gliadinica che per quella solubile. Il test di attivazione dei basofili non ha invece mostrato significative differenze tra le due linee prese in esame.

Conclusioni

L'approccio di incrocio, utilizzato in questo studio per l'ottenimento di linee prive di una classe importante di allergeni, ha permesso di dimostrare un impatto significativo sulla sensibiliz-

zazione. Questo potrebbe essere pertanto un metodo per ridurre l'esposizione verso alcuni allergeni maggiori in persone predisposte a sviluppare un'allergia al frumento. Queste linee potrebbero anche essere impiegate in protocolli di immunoterapia.

Identificazione di marcatori genici e microRNA circolanti associati al processo autofagico in pazienti pediatrici affetti da celiachia: uno studio pilota

(Poster P002/2017, Pannello 2)

Mauro Bozzola, Università di Pavia, Fondazione IRCCS San Matteo, Pavia

Background

La malattia celiaca (MC) è una malattia cronica, sistemica, immuno-mediata, scatenata dall'esposizione dietetica alle proteine del glutine, quali la gliadina, in individui geneticamente predisposti [1]. L'autofagia gioca un ruolo fondamentale nella patogenesi di diverse malattie infiammatorie [3]: in particolare polimorfismi genetici nei geni regolatori autofagici ATG16L, IRGM e ULK1 conferiscono una significativa predisposizione alla malattia di Crohn [3]. D'altra parte, il ruolo e l'eventuale compromissione del processo autofagico nel contesto della MC sono ad oggi poco conosciuti.

Lo Studio

Lo scopo primario della ricerca è quello di valutare comparativamente l'espressione di specifici geni e miRNA associati al processo autofagico isolati da sangue periferico e da biopsie intestinali di soggetti pediatrici affetti MC e da controlli di pari età e sesso. Questa ricerca permetterà di affinare i criteri diagnostici stratificando anche su base molecolare i pazienti e, secondariamente, di identificare bersagli genici e proteici associati alla condizione patologica, in particolare quelli legati alla regolazione del processo autofagico.

I pazienti con MC sono stati reclutati per la presenza contemporanea di sintomi (Anemia, bassa statura, sintomi gastrointestinali somministrati dal malassorbimento). Test serologici e analisi istologiche hanno confermato le diagnosi. I pazienti di controllo sono stati reclutati per altri motivi non legati alla MC (reflusso gastroesofageo, varici esofagei, gastriti o infezione con *H. pylori*). I criteri di esclusione erano sindromi dismorphe, anomalie cromosomiche e condizioni croniche che causano ritardo nella crescita. Sono stati raccolti complessivamente 105 campioni, nello specifico 56 di sangue e 49 biopsie intestinali. I campioni di sangue derivano da 33 controlli e 23 Pazienti MC, mentre le biopsie sono state raccolte da 24 controlli e 25 pazienti MC, suddivisi in Marsh 3B e 3C.

Per identificare nuovi marcatori molecolari utili per aumentare la sensibilità e specificità nella diagnosi di pazienti MC pediatrici, i livelli di espressione di due geni chiave del processo autofagico (ATG7 e BECN1) e dei loro regolatori negativi miRNA validati (miR-17 e miR-30a) sono stati analizzati mediante real-time PCR. Sono state quindi valutate mediante approcci di sta-

tistica e di bioinformatica associazioni tra profili di espressione genica con la condizione patologica.

In base ai risultati ottenuti, le analisi di Mann-Whitney U e ROC hanno indicato l'associazione più significativa di BECN1 con la MC nel sangue, mentre nelle biopsie intestinali, tutti i bersagli molecolari esaminati presentavano differenze statisticamente significative con la condizione patologica. Complessivamente i profili di espressione dei geni autofagici e dei loro regolatori negativi hanno consentito di stratificare i pazienti pediatrici con MC, mostrando notevole specificità e sensibilità nella valutazione diagnostica.

Conclusioni

Con questo studio è stato dimostrato che il processo autofagico potrebbe avere un ruolo funzionale all'interno nella MC. Infatti, i livelli di espressione dei geni autofagi chiave (ATG7 e BECN1) e dei loro regolatori negativi miR-17 e miR-30a nelle biopsie intestinali e nel sangue circolante mostrano variazioni associate alla MC. Questi profili di espressione possono inoltre fornire signatures molecolari utili per classificare e meglio stratificare i pazienti con MC. Viene inoltre ribadita l'utilità dei microRNA circolanti come nuovi biomarcatori non invasivi nel campo della MC [4].

Riferimenti bibliografici

1. Di Sabatino, A.; Corazza, G.R. *Celiac disease*. *Lancet* 2009, 373, 1480–1493
2. Deretic, V.; Saitoh, T.; Akira, S. *Autophagy in infection, inflammation and immunity*. *Nat. Rev. Immunol.* 2013, 13, 722–737.
3. Henckaerts, L.; Cleyne, I.; Brinar, M.; John, J.M.; van Steen, K.; Rutgeerts, P.; Vermeire, S. *Genetic variation in the autophagy gene ULK1 and risk of Crohn's disease*. *Inflamm. Bowel Dis.* 2011, 17, 1392–1397.
4. Capuano, M.; Iaffaldano, L.; Tinto, N.; Montanaro, D.; Capobianco, V.; Izzo, V.; Tucci, F.; Troncone, G.; Greco, L.; Sacchetti, L. *MicroRNA-449a overexpression, reduced NOTCH1 signals and scarce goblet cells characterize the small intestine of celiac patients*. *PLoS ONE* 2011, 6, e29094.

Gastrite atrofica autoimmune e malattia celiaca (Poster P003/2017, Pannello 3)

Marco Vincenzo Lenti, Fondazione IRCCS San Matteo, Pavia

Background

La gastrite atrofica autoimmune (GAA) è una malattia organo specifica caratterizzata da progressiva atrofia del corpo e del fondo gastrico con conseguente malassorbimento di vitamina B12 e ferro. La GAA si associa a numerose malattie autoimmuni, ma l'associazione con la malattia celiaca (MC) è stata raramente riportata.¹⁻³

Lo Studio

Descrivere la prevalenza di MC in una popolazione di pazienti affetti da GAA e i motivi che hanno portato alla diagnosi di GAA.

Dal 2007 al 2017 abbiamo arruolato e seguito tutti i pazienti con GAA diagnosticati consecutivamente presso l'Ambulatorio di Gastroenterologia (IRCCS Policlinico San Matteo) dedicato alla diagnosi e cura della GAA. Tra questi, abbiamo individuato un sottogruppo di pazienti con diagnosi di MC, e ne abbiamo raccolto i dati demografici, la storia clinica ed il motivo che

ha portato alla diagnosi di GAA.

Sono stati identificati 287 pazienti affetti da GAA (età media 63 ± 16 anni, F:M 2.3:1). Nove di questi pazienti (3.1%; età media 40 ± 17 aa, F:M 8.5:1) erano affetti da MC, in rigorosa dieta priva di glutine da almeno un anno. In tutti questi pazienti, la diagnosi di GAA è stata posta a causa del persistere o della comparsa di anemia non responsiva alla dieta priva di glutine. In particolare, otto pazienti avevano un'anemia macrocitica con anisocitosi, un paziente aveva solo macrocitosi isolata; in tutti casi era presente deficit di vitamina B12. I pazienti con MC associata a GAA sono mediamente più giovani rispetto al resto dei pazienti con GAA ($p < 0.01$).

Conclusioni

Nella nostra casistica, in otto pazienti con nota MC la diagnosi di GAA è stata posta in seguito a comparsa o persistenza di anemia, nonostante dieta priva di glutine. La relativa alta prevalenza di MC tra i pazienti con GAA andrebbe ulteriormente indagata su una casistica più ampia.

Riferimenti bibliografici

1. Stockbrügger R, Andersson H, Gillberg R, Kastrup W, Lundquist G, Mobacken H. Auto-immune atrophic gastritis in patient with dermatitis herpetiformis. *Acta Derm Venereol* 1976;56:111-3.
2. Miceli E, Lenti MV, Padula D, et al. Common features of patients with autoimmune atrophic gastritis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:812-4.
3. Kalkan Ç, Soykan I. Polyautoimmunity in autoimmune gastritis. *Eur J Intern Med* 2016;31:79-83.

Valutazione della qualità di vita in bambini e adolescenti con malattia celiaca: esperienza monocentrica dell'Istituto Gaslini di Genova con il questionario CDDUX

(Poster P004/2017, Pannello 4)

Marco Crocco, IRCCS Gianni Gaslini, Genova

Background

La celiachia è una malattia cronica con ampio spettro clinico, la maggior parte dei sintomi regrediscono dopo l'avvio della dieta aglutinata(1). La diagnosi di una malattia cronica e le restrizioni alimentari possono però ripercuotersi sulla qualità di vita dei bambini celiaci e dei loro familiari. Il Celiac-Disease-Dutch-Questionnaire "CDDUX" è un questionario malattia specifico per il rilevamento della qualità di vita dei bambini, di età compresa tra 8 e 18 anni, con malattia celiaca e dei loro genitori(2).

Lo Studio

Obiettivo dello studio è la valutazione della qualità di vita dei bambini e dei loro genitori, afferenti al centro regionale per la Celiachia dell'ospedale Gaslini, e contemporanea validazione della traduzione adattata in italiano del questionario CD-DUX. A tale scopo si correleranno i dati clinici e demografici con la qualità di vita rilevata mediante il questionario CDDUX e il questionario generico pediatrico PedsQL vers4.0.

È stato tradotto in italiano il questionario CDDUX, disponibile in lingua inglese, in accordo

con le linee guida internazionali (3). Il CDDUX è stato somministrato, insieme al questionario PedsQL, a tutti i bambini con diagnosi di celiachia, di età compresa tra 8-18 anni, afferenti all'ambulatorio. Sono stati rilevati i dati clinici attuali e pregressi, in particolare: data diagnosi, parametri clinici-antropometrici, positività anticorpi antitransglutaminasi, familiarità per celiachia. Il coefficiente alfa di Cronbach è stato determinato come misura di affidabilità intra-questionaria e i coefficienti di correlazione intra-classe come misura di affidabilità tra i punteggi assegnati da bambini e genitori.

Tra maggio 2016 e maggio 2017, tutti i bambini di età compresa tra 8 e 18 anni, afferenti all'ambulatorio celiachia sono stati invitati a partecipare, 224 su un totale di 234 famiglie hanno accettato. Il punteggio medio rilevato nei bambini e nei genitori è stato: con CDDUX di 52.57 (SD 17.17) e 49,53 (SD 17.9); con PedsQL di 81.19 (SD 11.14) e 80.28 (SD 12.92); in entrambi i casi senza differenze rilevate tra i 2 gruppi. Una differenza è stata rilevata esclusivamente nella subscale comunicazione del CDDUX, dove i genitori hanno riportato rispetto ai figli, punteggi più bassi 57,29 (SD 22.15) vs 62,41 (SD 21.96), $p < 0.05$ e nella subscale funzioni sociali del PedsQL 89.16 (SD 14.42) vs 84.28 (SD 18.34). L'età 8-11 anni, la diagnosi nel precedente quadriennio e la positivizzazione degli anticorpi antitransglutaminasi (indice di dieta non ben condotta) si associano a riduzione significativa della subscale "avere la celiachia" del CDDUX. Il coefficiente alfa di Cronbach per il punteggio totale dei genitori è stato 0.938, mentre per i bambini 0.881 (0.68–0.93 range per scale), il punteggio interclasse è stato di 0.332 (0.289–0.381).

Conclusioni

Come già dimostrato in altri studi (4,5,6), il questionario CDDUX gode di una elevata flessibilità, adattandosi alle peculiarità culturali e sociali. Nel nostro studio, il CDDUX tradotto e adattato in italiano si è dimostrato valido e affidabile, dimostrando buone proprietà psicometriche nei bambini e nei genitori. Una diagnosi recente e una scarsa aderenza alla dieta, nel nostro studio, si associano a una riduzione della qualità di vita. Il CDDUX si è dimostrato sensibile nella rilevazione degli effetti della malattia sui diversi aspetti del vivere quotidiano. Il suo utilizzo nella pratica clinica può migliorare l'alleanza terapeutica medico-paziente fornendo al medico una rapida panoramica sulle problematiche psico-sociali, e al bambino la possibilità di esprimere il proprio disagio.

Riferimenti bibliografici

1. Ellen J. van Koppen et al. Long-term Health and Quality-of-Life Consequences of Mass Screening for Childhood Celiac Disease: A 10-Year Follow-up Study. *Pediatrics* 2009;123:e582–e588.
2. Roesja K. van Doorn, et al. CDDUX: A Disease-specific Health-related Quality-of-life Questionnaire for Children With Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, Vol. 47, August 2008 No. 2, 47:147–152.
3. Bullinger M, Alonso J, Apolone G, et al. Translating health status questionnaires and evaluating their quality: the IQOLA Project approach International Quality of Life Assessment. *J Clin Epidemiol* 1998;51:913–23.
4. Josefa Barrio et al. Health-Related Quality of Life in Spanish Children With Coeliac Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016;62: 603–608.

5. Manuela Torres Camara Lins et al. Translation, cultural adaptation, and validation of the celiac disease DUX (CDDUX). *J Pediatr (Rio J)*. 2015;91(5):448—454.
6. Mercedes Pico et al. Quality of life in children and adolescents with celiac disease: Argentinian version of the specific questionnaire CDDUX. *Acta Gastroenterol Latinoam* Marzo 2012; 42:12-19.

Modellizzazione delle isoforme a e b del recettore CXCR3, e studio di binding con i peptidi della gliadina e con il ligando naturale IP10 (Poster P005/2017, Pannello 5)

Federica Chiappori, Istituto di Tecnologie Biomediche – CNR, Segrate (Mi)

Background

Le isoforme CXCR3a e CXCR3b del “chemokine receptor” CXCR3, coinvolto nella celiachia, interagiscono con 2 peptidi derivanti dalla digestione della gliadina e partecipano al pathway che coinvolge MyD88 e rilascia zonulina. Quest’ultima transattiva EGFr e PAR2 inducendo il disaggregamento delle tight junctions con conseguente aumento della permeabilità intestinale.

Lo Studio

Poiché le strutture delle due isoforme di CXCR3 e dei due peptidi ottenuti dalla digestione della gliadina (pep111-130 e pep151-170) non erano note in letteratura, il primo obiettivo è stato ottenerne i modelli per poi individuare i determinanti molecolari dell’interazione di entrambe le isoforme con entrambi i peptidi verificando che non coinvolgessero i binding-site dei ligandi naturali di CXCR3 per non interferire con la sua attività fisiologica. Lo scopo ultimo è disegnare molecole con attività farmacologica che impediscano il legame di CXCR3 con la gliadina ma non con i suoi ligandi naturali come l’interferon-gamma induced protein (IP10). Le strutture delle due isoforme di CXCR3 sono state ottenute con metodi di “homology modeling” specifici per i recettori transmembrana e ottimizzate con dinamica molecolare, mentre le strutture dei due peptidi ottenute con diversi metodi di “peptide modeling”. Il cristallo dell’IP10 era disponibile in letteratura. Sono stati effettuati diversi protocolli di docking proteina-peptide (CXCR3-peptidi gliadina) e proteina-proteina (CXCR3-IP10), impiegando differenti algoritmi, per raggiungere un risultato maggiormente affidabile. I risultati sono stati sottoposti a clustering per determinare una conformazione di docking per ogni complesso e per individuare i residui coinvolti nell’interazione con i peptidi di gliadina ma non con l’IP10.

Con metodi di biologia computazionale d’avanguardia sono stati ottenuti i modelli delle strutture di CXCR3a e CXCR3b, che inoltre sono stati ottimizzati in doppio strato fosfolipidico (che simula la membrana cellulare), e soluzione fisiologica. Per i peptidi della gliadina, pep111-130 e pep151-170, pur impiegando diversi metodi di modeling, si è ottenuta una conformazione univoca. Le simulazioni di docking molecolare delle due isoforme con i singoli ligandi hanno permesso di valutare l’interfaccia d’interazione tra CXCR3 e peptide/IP10 e di identi-

care due siti di binding diversi:

- i residui coinvolti nel binding della gliadina, localizzati all'interno della cavità che si forma tra le eliche transmembrana del CXCR3;
- i residui per l'interazione con l'IP10 localizzati nella zona più esterna.

Conclusioni

Per la prima volta sono stati ottenuti, con metodi di biologia computazionale d'avanguardia, i modelli delle strutture di CXCR3a e CXCR3b ottimizzati in condizioni fisiologiche. Le simulazioni di docking molecolare effettuate su entrambe le isoforme sia con ligando naturale che con i 2 peptidi gliadinici hanno permesso di identificare i rispettivi siti di binding che, risultando in posizioni diverse, permetteranno di disegnare molecole antagoniste dei peptidi gliadinici ma non del ligando fisiologico.

RINGRAZIAMENTI: progetto Bandiera Interomics (PB05)

The gliadin peptide 31-43 exacerbates kainate neurotoxicity in epilepsy models

(Poster P006/2017, Pannello 6)

Elisabetta Gerace, Università di Firenze

Background

Recentemente è stata evidenziata una forte associazione tra celiachia ed epilessia ma i meccanismi fisiopatologici che stanno alla base sono ancora sconosciuti. Una dieta priva di glutine è l'unica cura in grado di ridurre la frequenza delle convulsioni e la quantità di farmaci antiepilettici in pazienti affetti da epilessia farmaco-resistente.

Lo Studio

Ci proponiamo con questo studio di caratterizzare i meccanismi molecolari che correlano la malattia celiaca all'epilessia, usando modelli sperimentali di epilessia in vivo (topi C57/black trattati con kainato per via intraperitoneale) e in vitro (fettine organotipiche ippocampali di ratto esposte a kainato) come riportato rispettivamente in Mirko et al., 2013 e Gerace et al., 2012. Per fare questo abbiamo utilizzato un approccio multidisciplinare, attraverso l'uso di tecniche morfologiche, di biologia molecolare ed elettrofisiologiche per studiare specificamente gli effetti del peptide della gliadina p31-43 nei neuroni ippocampali.

Per gli esperimenti in vivo, topi C57/Black sono stati trattati (i.p.) con kainato, p31-43 da solo o in combinazione e gli animali sono stati osservati per 90 minuti per valutare latenza, tipo e durata delle convulsioni.

Per gli esperimenti in vitro, fettine organotipiche di ippocampo di ratto sono state esposte a kainato (5 μ M) per 24 h, (modello classico di epilessia temporale (Morin-Brureau et al., 2013) da solo o insieme al p31-43. Alla fine dell'esperimento è stata valutata la morte cellulare at-

traverso la misurazione della fluorescenza dello ioduro di propidio, le risposte elettrofisiologiche eccitatorie e l'espressione delle Transglutaminasi TG2 e TG6 (TGs).

Il p31-43 peggiora lo stato epilettico indotto dal kainato in vivo (aumentato numero e durata delle convulsioni) e aumenta il danno nella regione CA3 indotto dal kainato in vitro, rivelando una correlazione tra il peptide della gliadina p31-43 e l'epilessia. Inoltre, il p31-43 aumenta le correnti inward indotte dal kainato e il numero dei potenziali d'azione, quando applicato da solo, indicando una maggiore eccitabilità dei neuroni durante la stimolazione con il kainato. Abbiamo anche osservato che una lunga esposizione del p31-43 porta a un aumento dell'espressione della TG2 e della TG6 e che l'inibitore delle TGs attenua la tossicità indotta dal p31-43 sul kainato, suggerendo il coinvolgimento delle transglutaminasi nella neurotossicità indotta dal p31-43. Questi dati mostrano una correlazione tra disordini correlati al glutine ed epilessia e potrebbero contribuire a trovare nuovi target per nuove strategie terapeutiche.

Conclusioni

Il nostro studio associa gli effetti tossici del p31-43 all'epilessia. In particolare, questi dati suggeriscono un possibile meccanismo che spiega questa correlazione attraverso il potenziamento della neurotossicità indotta dal kainato nei neuroni piramidali della regione CA3 dell'ippocampo e l'induzione dell'overespressione e attivazione delle Transglutaminasi da parte del p31-43. I risultati di questo studio potrebbero contribuire a trovare nuove strategie terapeutiche per pazienti affetti da epilessia farmaco-resistente che presentano disordini correlati al glutine.

Riferimenti bibliografici

1. Muzzi M, Coppi E, Pugliese AM, Chiarugi A. Anticonvulsant effect of AMP by direct activation of adenosine A1 receptor. *Exp Neurol*. 2013; 250:189-93.
2. Gerace E, Landucci E, Scartabelli T, Moroni F, Pellegrini-Giampietro DE. Rat hippocampal slice culture models for the evaluation of neuroprotective agents. *Methods Mol Biol*. 2012; 846:343-54.
3. Morin-Brureau M1, De Bock F, Lerner-Natoli M. Organotypic brain slices: a model to study the neurovascular unit micro-environment in epilepsies. *Fluids Barriers CNS*. 2013; 10(1):11.

Prevalenza di osteopenia ed osteoporosi al momento della diagnosi in una serie di pazienti celiaci adulti (Poster P007/2017, Pannello 7)

Paolo Usai Satta, Az. Osp. Brotzu, Cagliari

Background

La riduzione della massa ossea è una condizione ben conosciuta nella MC. Pochi dati sono disponibili sulla prevalenza di questo disturbo al momento della diagnosi.

Lo Studio

Abbiamo valutato la prevalenza di osteopenia ed osteoporosi in una serie di celiaci adulti. Abbiamo valutato 219 pazienti (18-72 aa, 186 F) seguiti negli ultimi 3 aa, escludendo celiaci

con diagnosi pediatrica e condizioni di presumibile danno secondario sulla massa ossea. La densitometria ossea veniva valutata al femore e al rachide. Un T score <1 indicava osteopenia, un valore $<2,5$ invece osteoporosi. I pazienti erano divisi in tre classi di età per i confronti statistici (15-30, 31-50, >50 anni).

Al momento della diagnosi 32% dei pazienti erano osteopenici, 19% osteoporotici. Una bassa massa ossea era presente nel 38% nel gruppo 15-30, 50% in quello 31-50 e 73% in quello >50 ($p<0.02$). Nessun paziente era osteoporotico nella classe 18-30. L'osteoporosi era più frequente in donne in post-menopausa ($p<0.0001$). L'osteopenia non differiva tra le varie classi di età. Il 50% dei maschi celiaci era osteoporotico (tutti >50 aa), il 19% osteopenico alla diagnosi di MC.

Conclusioni

Questi dati confermano l'indicazione a eseguire una densitometria ossea nei maschi >30 aa e nelle donne celiache di qualsiasi età. Gli stessi dati confermano che la prevalenza della osteoporosi è maggiore nelle donne in post-menopausa. Va ricordato che una ridotta massa ossea può essere anche l'unico sintomo di una celiachia non diagnosticata.

Allergia al grano e sensibilità alle proteine del grano in una popolazione di pazienti ambulatoriali screenati per malattia celiaca (Poster P008/2017, Pannello 8)

Italo De Vitis, Fondazione Pol A. Gemelli-Polo scienze gastroenterologi che e metaboliche. UOC med Inter e malattie dell'apparato digerente-Presidio Columbus, Roma

Background

I disturbi digestivi riferiti all'ingestione di glutine rappresentano un fenomeno di rilevanza mondiale con una prevalenza stimata intorno al 5%, mentre la prevalenza della malattia celiaca (MC) è stimata all'1%. La prevalenza dell'allergia al grano negli USA è di circa 0,4%, la cui diagnosi si basa abitualmente sui prick test e sulla determinazione delle IgE specifiche.

Lo Studio

Verificare in una popolazione afferente a un ambulatorio per la diagnosi della malattia celiaca la prevalenza di disordini immunologici diversi dalla celiachia, come la allergia al grano, quale causa dei disturbi digestivi arbitrariamente attribuiti al glutine.

Tutti i soggetti che sono giunti alla nostra osservazione lamentando disturbi sia intestinali che extraintestinali correlati all'ingestione di "glutine" sono stati sottoposti a sierologia per malattia celiaca: i soggetti risultati negativi alla celiachia ma che riferivano sintomi occorsi entro poche ore dall'ingestione del glutine sono stati sottoposti a uno screening allergologico: prick test cutanei, per proteine alimentari come grano, LTP, alfa-amilasi, farine di grano, riso, orzo, mais, pollini, istamina per i quali è stato utilizzato il test IMMUNOCAP, mentre per il dosaggio dell'alfa amilasi/tripsina-inibitore è stato utilizzato il test ISAC. IgE specifiche per il do-

saggio dell'omega gliadina utile nella diagnosi della allergia al grano da esercizio fisico e patch test per intolleranza al nichel.

Nel corso del 2016 abbiamo visitato presso l'ambulatorio della MC 423 soggetti (312F) per sospetto clinico di MC o di sensibilità al glutine non celiaca autodiagnosticata. 104 negativi per MC riportavano una reazione dopo aver ingerito grano/glutine, sia di tipo immediato (pochi minuti) che non immediato (poche ore). La applicazione del protocollo prima descritto per la valutazione di allergia al grano in particolare o ad altri cereali in generale, ha permesso di individuare 19/104 (18,26%) con documentate reazioni al grano: 14 (13,46%,9F) con sensibilità al grano, 5 (4,8%,4F) con allergia al grano. Tutti i 19 soggetti erano diagnosi di sensibilità al glutine non celiaca autocertificata o suggerita in altri ambienti medici.

Conclusioni

I nostri risultati dimostrano come tra i soggetti che riferiscono disturbi intestinali o extraintestinali riferibili all'ingestione di glutine, una volta esclusa la malattia celiaca è necessario escludere altre condizioni immunologiche in particolare l'allergia al grano e la sensibilità alle proteine del grano. La frequenza riscontrata pur in una popolazione selezionata come la nostra è nettamente superiore a quanto finora riportato in letteratura. Da sottolineare come tutti i soggetti risultati portatori di una forma di allergia al grano avevano una presunta forma di sensibilità al glutine non celiaca, suggerita o autodiagnosticata.

Riferimenti bibliografici

1. L.Elli et al: *Nomenclature and diagnosis of gluten related disorders: A position statment by the AIGO Digestive and Liver disease* 49 (2017), 138-146
2. C.Hischenhuber et al: *Review article :safe amount of gluten for patients with wheat allergy or celiac disease.* *Alimen Pharmacol Ther* 23,559-575,2006
3. R.Troncone & B.Jabri: *celiac disease and gluten sensitività*, *J Intern Medicine* 2011,269:582-590

Valutazione in vitro della sicurezza degli alimenti contenenti orzo deglutinato per gli individui affetti da celiachia (Poster P009/2017, Pannello 9)

Olimpia Vincentini, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Background

L'aggiornamento della normativa europea (Regolamento UE di attuazione 828/2014) prevede che per la produzione di alimenti senza glutine specificamente formulati per i celiaci si possano utilizzare, come materie prime, frumento, orzo, e segale deglutinati tramite procedimenti fisici/chimici, purché il prodotto finale abbia un contenuto di glutine minore di 20 ppm.

Lo Studio

Per la produzione della birra senza glutine, le proteine dell'orzo sono degradate al di sotto dei 20 ppm di glutine tramite l'idrolisi enzimatica che avviene durante la fermentazione. Recenti lavori della letteratura scientifica riportano però che queste birre contengono residui di glutine (comunque sempre al di sotto dei 20 ppm), che, in caso di un consumo ripetuto di

questi prodotti, possono portare al superamento della soglia quotidiana di sicurezza di as-sunzione del glutine, pari a 10 mg. Inoltre, la relazione tra il contenuto di glutine inferiore ai 20 ppm in queste birre misurato tramite il dosaggio con ELISA R5 e la relativa sicurezza di uso per gli individui celiaci non è ancora certo. Tale perplessità è da estendere per tutti i prodotti senza glutine a base di orzo deglutinato.

Prodotti a base di orzo (caffè, birra, salsa di soia) recanti e non il claim senza glutine sono stati sottoposti a digestione peptico triptica. Il contenuto di glutine nel caffè di orzo e di farro, to-stato e non, è stato misurato mediante test ELISA sandwich R5, mentre quello contenuto nelle matrici liquide (birra e salsa di soia) mediante il test ELISA competitive R5, in grado di ri-levare anche i frammenti idrolizzati di glutine. I prodotti digeriti sono stati testati per capacità di agglutinare le cellule K562(S), mentre nelle cellule intestinali T84 è stato valutata la risposta proliferativa cellulare, il rilascio di citochine proinfiammatorie (MCP-1 e TNF-alfa), l'espressione intracellulare di TG2 e p42-44 mediante western blotting.

Alcune delle matrici alimentari in polvere testate per il contenuto di glutine tramite ELISA R5 sandwich presentano un contenuto di glutine superiore ai 20 ppm, mostrando una elevata variabilità di lettura sullo stesso campione, osservazione che non si è presentata per le birre senza glutine che sono risultate sempre sotto i 20 ppm. I digesti di tutti i prodotti a base di orzo testati nel presente studio, inducono una leggera agglutinazione delle cellule K562(s), anche se con velocità inferiori rispetto a quella del grano tenero. Alcuni prodotti senza glutine hanno indotto attivazione epiteliale quantitativamente e qualitativamente variabile a se-conda dell'indice infiammatorio considerato, nelle cellule intestinali epiteliali.

Conclusioni

Un contenuto di glutine inferiore ai 20 ppm, misurato con l'ELISA R5, non esclude una tossicità in vitro per questi prodotti. Non è possibile al momento dire se la matrice alimentare o le se-quenze tossiche dell'ordeina sono responsabili di quanto osservato. I dati ottenuti suggeris-cono di confermare questi risultati per valutare l'effetto con un trial in doppio cieco su pazienti celiaci a dieta senza glutine da almeno due anni.

Riferimenti bibliografici

1. REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) N. 828/2014 DELLA COMMISSIONE del 30 luglio 2014 relativo alle prescrizioni ri-guardanti l'informazione dei consumatori sull'assenza di glutine o sulla sua presenza in misura ridotta negli alimenti L228/5-8
2. Dostálek P, Hochel I, Méndez E, Hernando A, Gabrovská D, .Immunochemical determination of gluten in malts and beers. *Food Addit Contam.* 2006. Nov;23(11):1074-8
3. A. Real, I. Comino, Ma de Lourdes Moreno, M Lopez-Casado, P Lorite, M I Torres, A Cebolla, C Sousa. Identification and In Vitro Reactivity of Celiac Immunoactive Peptides in an Apparent Gluten-Free Beer. *PlosONE* , 2014, v 9, Issue 6
4. DR Lester. Gluten measurement and its relationship to food toxicity for celiac disease patients. *Plant Methods* 2008; 4: 26
5. Allred LK, Lesko K, McKiernan D, Kupper C, Guandalini S. The Celiac Patient Antibody Response to Conventional and Gluten-Removed Beer. *J AOAC Int.* 2017 Mar 1;100(2):485-491.

Studio sulla sensibilità al frumento non celiaca (gluten-sensitivity).

Rischio di malnutrizione, osteoporosi e malattie autoimmuni associate

(Poster P_FC_013/2014, Pannello 16)

Grant FC_013/2014 triennale - Sensibilità al Frumento Non-Celiaca – Area: Trial Clinico

Antonio Carroccio, Università di Palermo

La sensibilità al frumento non dovuta a celiachia (NCWS) è un problema clinico di crescente interesse che sta catalizzando l'attenzione di molti ricercatori. Tuttavia, la sua stessa esistenza è discussa e non sono noti gli eventuali rischi associati a questa condizione.

Scopi del progetto sono:

A) Valutare la reale esistenza della NCWS mediante la metodologia del challenge in doppio cieco (DBPC).

B) Valutare la frequenza di malnutrizione, osteoporosi, malattie autoimmuni e lesioni del cavo orale nei pazienti con NCWS.

C) Cercare marcatori immunologici mucosali per la diagnosi di NCWS.

È stato utilizzato un rigoroso challenge in doppio cieco per verificare l'esistenza della NCWS. In altri termini, nei pazienti in cui si sospetta che i sintomi siano dovuti all'ingestione del frumento, dopo avere escluso con certezza la diagnosi di celiachia, è stata avviata una dieta priva di frumento. Nel caso si osservi un miglioramento clinico durante la dieta, si procederà a reintrodurre il frumento sotto forma di farina per preparare un semolino (questo è il "challenge") e senza che il paziente sia a conoscenza se la farina sia di frumento o di riso (per questo si parla di "studio in cieco"). In tal modo, si è certi che la reazione clinica osservata non è influenzata da effetti psicologici (paura di star male quando si mangia frumento).

Ad oggi, nei primi due anni della ricerca, utilizzando questa metodologia, sono stati diagnosticati con certezza numerosi soggetti affetti da NCWS. Rispetto agli obiettivi iniziali del progetto di ricerca, possiamo affermare:

I pazienti con NCWS hanno una elevata frequenza di perdita di massa corporea, dato più frequente nei soggetti con basso BMI e con sensibilità alimentare multipla.

Una alta percentuale (circa 30%) dei pazienti con NCWS presenta malattie autoimmuni associate ed una percentuale ancor più alta (40% circa) è positiva per anticorpi sierici anti-nucleo (ANA), evidenziando una tendenza all'autoimmunità pari a quella dei pazienti con celiachia. La dermatite da contatto e l'ipersensibilità al nickel sono caratteristiche cliniche che si associano alla NCWS

Sul piano patogenetico, si è dimostrata l'attivazione dei linfociti "innati" di tipo 1 (ILC1) nella mucosa rettale dei pazienti con NCWS ed una produzione di IFN-gamma elevata.

Pubblicazioni del Grant ad oggi

1. Carroccio A. et al. Risk of low bone mineral density and low body mass index in patients

with non-celiac wheatsensitivity: a prospective observation study. BMC Medicine 2014, 12:230

2. Carroccio A. et al. High Proportions of People With Nonceliac Wheat Sensitivity Have Autoimmune Disease or Antinuclear Antibodies. Gastroenterology 2015;149:596–603

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 Diet. Clinical and Translational Gastroenterology (2016) 7, e178; doi:10.1038/ctg.2016.35

4. D'Alcamo A. et al. Contact Dermatitis Due to Nickel Allergy in Patients Suffering from Non-Celiac Wheat Sensitivity. Nutrients 2017, 9, 103; doi:10.3390/nu9020103

L'insorgenza della dermatite erpetiforme nei pazienti con celiachia

(Poster P_FC_017/2014, Pannello 17)

Grant FC_017/2014 triennale - Dermatite Erpetiforme – Area: Dermatologia

Marzia Caproni, Direttore SOS Malattie Rare Dermatologiche- USL Toscana Centro- Università di Firenze

La dermatite erpetiforme (DE) rappresenta la manifestazione cutanea specifica della celiachia (MC). Tuttavia, pur avendo caratteristiche patogenetiche comuni ed essendo la DE pressoché invariabilmente associata a MC, dalla letteratura emergono differenze dal punto di vista immunopatologico. Infatti il ruolo delle diverse popolazioni linfocitarie coinvolte nella patogenesi della MC con o senza DE, documentabili a livello cutaneo, intestinale e nel sangue circolante dei pazienti in fase attiva di malattia non è ancora stato chiarito. Lo scopo della presente ricerca è finalizzato alla comprensione dei meccanismi patogenetici e delle risposte immunitarie presenti sia a livello cutaneo, circolante e intestinale. Abbiamo valutato il fenotipo delle differenti popolazioni linfocitarie, (in particolare Th1, Th2, Th17), l'espressione di alcuni recettori chemochinici di membrana (CCR6, CD161, CXCR3, CRTH2) e di alcune citochine prodotte dai differenti subset linfocitari (IFN- γ , IL-17A, IL-4, TNF- α) riscontrate nella cute, nell'intestino e nel sangue circolante dei pazienti con DE in fase attiva e a dieta libera; i risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli dei pazienti celiaci senza impegno cutaneo. Inoltre sono stati analizzati i linfociti T presenti sia a livello cutaneo che a livello intestinale, per valutare se il loro principale bersaglio molecolare sia rappresentato, come avviene nella celiachia, dalla transglutaminasi tissutale (TG2), oppure corrisponda a un altro antigene in grado di indirizzare il fenotipo della malattia verso la comparsa delle manifestazioni cutanee. I risultati mostrano un'aumentata produzione di IL-17 e di TNF- α da parte dei linfociti TCD4+ ottenuti dalle linee policlonali isolati dalla cute dei pazienti con DE. La frequenza delle cellule CD4+ IL-17+ presenti a livello cutaneo è stata posta in relazione con l'attività di malattia (BPDAl) e abbiamo osservato una correlazione significativa tra la percentuale di cellule TCD4+ CCR6+, cellule TCD4+ IL-17+ e attività di malattia. Non abbiamo invece osservato alcuna differenza significativa per tutti gli indici di flogosi in oggetto prima e dopo la dieta priva di glutine a di-

stanza di un anno nei pazienti con DE. Il monitoraggio sta continuando al fine di ottenere risultati a due anni. Riguardo alla specificità antigenica dagli studi ancora in corso sembra di poter ipotizzare che nei pazienti con DE la risposta T cellulare verso la transglutaminasi epidermica (TG3) potrebbe essere dovuta ad una cross-reattività del TCR verso TG2 e TG3.

Pubblicazioni del Grant ad oggi

1. Bonciani D et al. Serum levels and tissue expression of interleukin-31 in dermatitis herpetiformis and bullous pemphigoid. J Dermatol Sci. 2017 Aug;87(2):210-212. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.04.008

Studio della Composizione del Microbiota Intestinale nella Malattia Celiaca dell'adulto (Poster P_FC_016/2015, Pannello 18)

Grant FC_016/2015 biennale - Celiachia – Area: Infiammazione

Rachele Ciccocioppo, Affiliazione del Grant: IRCCS San Matteo, Pavia

Il microbiota intestinale umano è un ecosistema complesso che stabilisce un rapporto simbiotico con l'ospite. Recenti studi hanno suggerito che una ridotta diversità batterica, definita disbiosi, possa contribuire alla patogenesi e al quadro clinico della malattia celiaca (MC).

Gli obiettivi del presente studio sono rappresentati dall'analisi della composizione del microbiota nei celiaci adulti rispetto a soggetti non celiaci, e dalla valutazione se l'eventuale disbiosi anticipa o segue lo sviluppo dell'enteropatia. A tal scopo, saranno arruolati 60 pazienti (10 potenziali, 20 attivi, 20 trattati, 10 complicati) e 20 controlli. La composizione batterica totale sarà analizzata con tecnologie di sequenziamento di nuova generazione e successiva analisi bioinformatica eseguite su campioni di saliva, feci e mucosa duodenale.

Verrà inoltre effettuata la ricerca di una possibile relazione tra la composizione microbica con il grado di atrofia mucosale e la dieta aglutinata. Infine, cercheremo le differenze tra le condizioni di MC potenziale, attiva, trattata e complicata, e analizzeremo la concordanza tra la composizione del microbiota salivare, mucosale e fecale.

Studio della risposta dei linfociti in pazienti celiaci affetti da dermatite erpetiforme (Poster P_FC_003/2016, Pannello 19)

Grant FC_003/2016 Borsa di Studio Triennale – Dermatite Erpetiforme – Area: Immunologia

Maria Caterina Rossi, Università di Firenze

La dermatite erpetiforme rappresenta la manifestazione cutanea specifica della celiachia. Tuttavia, i motivi che determinano lo sviluppo della malattia, soltanto in una minoranza di pazienti celiaci, non sono ancora del tutto noti. A tal proposito, in tale progetto di ricerca, saranno valutate le specificità antigeniche dei linfociti T presenti a livello cutaneo rispetto a

quelli infiltranti la mucosa intestinale e a quelli presenti nel sangue periferico. Come popolazione di controllo verranno studiati i pazienti celiaci che non presentano dermatite erpetiforme. In particolare valuteremo la risposta proliferativa dei linfociti T a gliadina nativa, gliadina deaminata e transglutaminasi tissutale. Altro obiettivo dello studio è quello di valutare se alterazioni delle popolazioni linfocitarie, come per esempio una riduzione dei linfociti T regolatori oppure una eccessiva attivazione di linfociti T effettori autoreattivi (tra cui linfociti T helper 1, linfociti T helper 2 e linfociti T helper 17), possano contribuire allo sviluppo della malattia.

Caratterizzazione delle microvescicole circolanti nel sangue periferico di pazienti affetti da celiachia come potenziale strumento diagnostico delle complicanze associate alla patologia (Poster P_FC_004/2016, Pannello 20)

Grant FC_004/2016 Borsa di Studio Triennale – Celiachia – Area: Biologia

Giuseppina Bologna, Università “G.d’Annunzio” Chieti-Pescara

La celiachia è una enteropatia immuno-mediata, causata dall’instaurarsi di una sensibilità permanente al glutine. Le microvescicole (MV), rilasciate in risposta a stimoli di diversa natura e da tutti i tipi cellulari, sono state rinvenute nel sangue periferico. Le MV hanno un ruolo fondamentale in diverse condizioni patologiche e rappresentano un biomarcatore potenzialmente utile come strumento diagnostico.

Nei nostri laboratori abbiamo dimostrato un aumento in termini numerici delle MV di origine epiteliale e leucocitaria nel sangue periferico di pazienti celiaci. Pertanto abbiamo ipotizzato che queste alterazioni possano corrispondere ad una variazione del contenuto delle MV.

Ci proponiamo, pertanto, di caratterizzare il numero e il contenuto delle MV nel sangue periferico di pazienti celiaci per determinare se questo tipo di analisi possa rivelarsi utile nell’identificazione di nuovi strumenti diagnostici e/o prognostici della malattia, o di biomarcatori per monitorare la risposta alla dieta. Caratterizzeremo, inoltre, il contenuto delle MV nell’intento di identificare i meccanismi coinvolti nello sviluppo delle complicanze associate alla celiachia.

Lo sviluppo dell’ atrofia dei villi nella malattia celiaca potenziale: la ricerca di nuovi biomarcatori (Poster P_FC_005/2016, Pannello 21)

Grant FC_005/2016 Borsa di Studio Triennale – Celiachia – Area: Biologia

Monia Porpora, Università Federico II Napoli

La malattia celiaca potenziale è caratterizzata dalla presenza nel siero di anticorpi specifici per la malattia celiaca (anti-transglutaminasi e anti-endomisio), da una normale architettura duodenale e da una genetica predisponente (HLA DQ2/8 positivi). In uno studio prospettico

condotto nel centro ELFID su una coorte di 200 soggetti con malattia celiaca potenziale il 37% dei pazienti asintomatici a dieta contenente glutine ha sviluppato l'atrofia dei villi in un periodo di circa 9 anni di follow-up. Campioni biologici (siero, monociti del sangue, biopsie intestinali, DNA, RNA da epitelio intestinale) sono stati raccolti da questi pazienti prima e dopo lo sviluppo della malattia. Questi campioni biologici offrono una occasione unica di studiare le alterazioni costitutive, i meccanismi del danno ed i fattori predittivi dello sviluppo dell'atrofia.

In questo progetto, cercheremo di identificare le alterazioni costitutive che precedono il danno intestinale, con particolare focus sulle modificazioni dell'epitelio intestinale, e i biomarcatori che possano consentire una diagnosi precoce in tal senso.

Caratterizzazione funzionale del microbiota intestinale e della risposta immune associata, in pazienti affetti da “Celiachia Potenziale” (Poster P_FC_007/2016, Pannello 22)

Grant FC_007/2016 Borsa di Studio Triennale – Celiachia – Area: Immunologia

Federica Ricci, Università di Firenze

La Celiachia è una malattia autoimmune dell'intestino tenue, causata da una reazione alla gliadina, che si manifesta in individui geneticamente predisposti. Si parla di Celiachia Potenziale (PCD) quando, in assenza di lesioni istologiche, il siero contiene gli anticorpi specifici. In tal caso, il paziente potrebbe successivamente sviluppare o meno un'enteropatia. In aggiunta alle varianti genetiche, diversi studi indicano il coinvolgimento del “microbiota” intestinale (flora batterica) nell'insorgenza/decorso della malattia: i pazienti celiaci mostrano infatti una diversa composizione del microbiota intestinale e degli acidi grassi a catena corta (SCFA) prodotti dalla fermentazione microbica. Non è chiaro se un'alterata flora batterica intestinale possa essere causa o conseguenza della celiachia e inoltre la composizione del microbiota e la risposta immune associata negli stati precoci della malattia, rimangono campi inesplorati. Questo studio si propone di far luce sulle relazioni mutualistiche tra microbiota intestinale e risposta immune associata e sul loro ruolo nello sviluppo della celiachia e nello stato clinico di celiachia potenziale.

Analisi della risposta immunitaria indotta dal glutine nelle differenti forme di celiachia (Poster P_FC_009/2016, Pannello 23)

Grant FC_009/2016 Borsa di Studio Triennale – Celiachia – Area: Immunologia

Serena Vitale, CNR di Napoli

La celiaca può manifestarsi con un ampio spettro di forme cliniche e di danno alla mucosa del piccolo intestino. Tra le forme più frequenti troviamo la celiachia acuta, con sintomi pre-

valentemente gastrointestinali, presenza di autoanticorpi anti-transglutaminasi e atrofia dei villi intestinali, e la celiachia potenziale, caratterizzata da positività degli autoanticorpi, presenza o meno di sintomatologia, e assenza del danno alla mucosa. Mentre è ben nota la cascata infiammatoria scatenata dal glutine nella celiachia acuta, meccanismi patogenetici e peptidi del glutine tossici nella forma potenziale sono poco conosciuti. Non è altresì chiaro se nella mucosa intestinale dei celiaci potenziali i linfociti infiammatori siano controllati da meccanismi mediati da cellule regolatorie, e se la rottura di tale “equilibrio immune” sia responsabile del danno mucosale con lo sviluppo della forma acuta.

Questo progetto si pone l'obiettivo di studiare, a livello della mucosa intestinale, i principali attori della reattività al glutine (cellule T infiammatorie e regolatorie, frammenti del glutine antigenici, citochine e mediatori molecolari del danno). L'analisi verrà eseguita nelle diverse forme di celiachia, al fine di individuare gli eventi responsabili dello sviluppo della lesione intestinale tipica della celiachia conclamata.

Caso Clinico (Poster Pannello 24)

Mauro Bozzola, Università di Pavia, Fondazione IRCCS San Matteo, Pavia

Anamnesi

Bambino di 7 anni con dolori addominali ricorrenti senza diarrea né perdita di peso o ritardo di crescita. Non riferita familiarità per patologie autoimmuni, endocrinopatie o malattie sistemiche. Obiettività nella norma fatta eccezione per il riscontro di alterazioni dello smalto dentario. All'età di 4 anni il bambino era stato già valutato per un'analogia sintomatologia ed era stato sottoposto ad esami ematochimici (emocromo, indici di flogosi, funzionalità tiroidea, anticorpi antitransglutaminasi e antiendomizio) risultati normali. Nel sospetto di intolleranza al lattosio aveva iniziato ex-adiuvantibus una dieta di esclusione.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

È stata ripetuta la determinazione anticorpale con riscontro di elevati livelli di IgA-tTG e positività degli EMA. Le IgA sieriche che non erano state valutate nel precedente screening sono risultate nel range di normalità. La biopsia duodenale mostrava severa atrofia dei villi (Marsh 3b) e la ricerca HLA-DQ2/DQ8 la presenza di 4 eterodimeri di suscettibilità.

L'estensione dell'analisi genetica nei parenti di primo grado ha permesso di evidenziare nel padre asintomatico la presenza di HLA-DQA1*05:01, 05:05, con positività anticorpale e confermata diagnosi di malattia celiaca.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

Il bambino ha intrapreso una dieta priva di glutine.

Conclusioni

I dolori addominali ricorrenti, che colpiscono il 10-15% dei bambini in età scolare, costituiscono una sfida per il pediatra. Quando la sintomatologia algica persiste, nonostante uno screening negativo per malattia celiaca, è necessaria l'esclusione di un deficit selettivo di IgA

e la ripetizione dello screening. Inoltre la valutazione clinica deve essere accurata per sospettare forme atipiche di celiachia in presenza di ipoplasia dello smalto dentario..

Caso Clinico (Poster Pannello 25)

Ileana Luppino, AO di Cosenza

Anamnesi

Donna, 44 anni. In anamnesi pregressa appendicectomia. Ciclo mestruale e alvo regolari. Esordio acuto della sintomatologia con episodi di subocclusione intestinale ricorrente (3 in 40 gg). Screening sierologico per malattia celiaca (MC) negativo.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

Sospetto diagnostico di IBD, verosimilmente malattia di Crohn. In diagnosi differenziale con volvolo o intussuscezione intestinali, gastroenterite eosinofila, linfoma o neoformazioni del tenue; sospetta malattia celiaca a sierologia negativa, complicata da linfoma intestinale. Agli esami bioumorali solo sideropenia; nella norma indici di flogosi compresa la calprotectina fecale, la formula leucocitaria, LDH e $\alpha 2$ microglobulina e le indagini microbiologiche. Screening sierologico per MC sempre negativo (no deficit IgA totali). Tra le indagini strumentali, Ecografia con studio anse intestinali ed EnteroRM senza riscontrare alterazioni suggestive di IBD. Alla TC - addome con mdc anse intestinali ispessite e linfomegalie addominali. Negativi i quadri endoscopico ed istologico alla Colonileoscopia. L'EGDS evidenziava scomparsa delle pliche in seconda porzione duodenale. All'esame istologico alterazioni microscopiche caratteristiche per MC di tipo 3 sec. Marsh - mod. Oberhuber. Positivi HLA2-8. Iniziata dieta senza glutine.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

A un anno ottima la risposta clinica, bioumorale e istologica con risoluzione completa delle alterazioni mucosali duodenali.

Conclusioni

Caso di presentazione atipica di MC a sierologia negativa. In letteratura fino a 5-16% di casi di TTGlgA negative; riportata l'associazione fra subocclusione e celiachia per danni ai plessi nervosi di Meissner e Auerbach. Necessario escludere altre patologie causa di atrofia dei villi. Tipizzazione HLA e risposta istologica risultano importanti per confermare la diagnosi di MC nei casi a sierologia negativa.

Caso Clinico (Poster Pannello 26)

Rosario Maggiore, Università di Genova, IRCCS Ospedale Giannina Gaslini

Anamnesi

Un bambino di 10 anni, maschio, si presenta presso il nostro centro per un problema di dolore

addominale ricorrente in assenza di altra sintomatologia. In precedenza il paziente era stato valutato presso un ospedale periferico dove erano stati eseguiti esami di laboratorio che mostravano emocromo, ferritinemia ed esame urine nella norma. Lo screening celiachia aveva evidenziato un valore di anticorpi antitransglutaminasi 3 volte superiore ai livelli di normalità con normali livelli di IgA totali. Su iniziativa dei genitori, il bambino veniva messo a dieta priva di glutine ma dopo 3 mesi, in seguito a ripensamento, veniva ripresa la dieta libera e il bambino veniva condotto dal Pediatra Curante che lo inviava presso il nostro centro.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

Con questa anamnesi, una clinica al momento negativa, la scomparsa della sintomatologia gastrointestinale e uno screening celiachia con anticorpi antitransglutaminasi negativi e dosaggio IgA nella norma, diamo indicazione a continuare la dieta libera e ad eseguire controlli clinicolaboratoristici ogni sei mesi nel primo anno e quindi annuali.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

Successivamente il paziente non si presenterà più a controllo e verrà perso al follow-up in assenza di sintomi e mantenendosi sostanzialmente in buona salute fino all'età di 16 anni quando si ripresenterà in ospedale per un esordio di diabete mellito tipo I.

Conclusioni

Questo caso clinico ci insegna che nel sospetto di malattia celiaca non si deve mai effettuare una dieta senza glutine “di prova” perché può condizionare un follow up non adeguato ed esporre il paziente ad un maggior rischio di patologia autoimmune.

Caso Clinico (Poster Pannello 27)

Anthea Mariani, IRCCS Ospedale Giannina Gaslini

Il nostro intervento ha l'obiettivo di presentare la modalità di comunicazione alla famiglia di nuova diagnosi di malattia celiaca e della sua gestione presso l'UO di Gastroenterologia dell'I.G.Gaslini.

Il momento del pasto è un elemento costante nella quotidianità e spesso rappresenta un momento di convivialità e motivo di incontro sociale; le limitazioni dietetiche legate alla celiachia possono dunque essere vissute per molteplici motivi non serenamente dalla famiglia e dai bambini stessi soprattutto in età adolescenziale.

La dietoterapia tuttavia ad oggi rappresenta l'unica terapia disponibile per la cura della malattia celiaca e per la prevenzione delle sue complicanze. Per questo riteniamo cruciale l'educazione alla dietoterapia dei nostri pazienti affetti da celiachia.

L'informazione viene effettuata tramite un colloquio di gruppo a cui vengono invitati a partecipare tutti i pazienti di nuova diagnosi e i loro genitori, i nonni, medici di famiglia, maestre e addetti mensa, medici in formazione, rappresentanti AIC locale. L'incontro ha l'obiettivo di

fornire alle famiglie un'informazione completa e veritiera da una persona qualificata (gastroenterologo esperto in celiachia) che permette di risolvere i dubbi e sfatare false informazioni che si possono accidentalmente trovare in rete internet. Durante l'incontro vengono forniti sia chiarimenti sulla natura della malattia, sulla sua storia naturale, sulla terapia sia spiegazioni e consigli pratici per la gestione delle nuove modalità dietetiche nella vita quotidiana. La scelta di effettuare il colloquio in gruppo inoltre offre l'opportunità di condividere e confrontarsi sulla propria esperienza.

Conclusioni

I pazienti ben informati e con un rapporto di fiducia con il centro di riferimento presentano una migliore compliance alla dietoterapia.

Caso Clinico (Poster Pannello 28)

Chiara Zanchi, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste

Anamnesi

Giulia è una ragazza celiaca di 16 anni, che si presenta in ambulatorio perché i suoi anticorpi anti-transglutaminasi sono risultati positivi (129 UA, vn <7 UA), nonostante lei sia a dieta senza glutine da molti anni. Giulia aveva ricevuto diagnosi di celiachia all'età di 18 mesi, per screening familiare. Ai successivi controlli ambulatoriali gli anti-tTG erano sempre negativi.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

La prima ipotesi è che Giulia non segua più la dieta senza glutine. La mamma mi racconta che ne hanno parlato e che hanno capito che probabilmente il problema sono gli hamburger che Giulia ha mangiato per 9 mesi, più volte alla settimana, nel bar della scuola. Non si era mai preoccupata di chiedere se contenessero glutine. Un po' perplessa continuo ad ascoltare la mamma che mi racconta che, nonostante da un mese abbia smesso di mangiare quegli hamburger, gli Ab anti tTG sono rimasti invariati.

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

Gli esami mostrano anche una positività degli ab anti tiroide, con TSH nella norma. Mi rivolgo quindi direttamente a Giulia, chiedendole se avesse mai avuto sintomi dopo l'ingestione degli "hamburger sospetti" e lei mi dice di no e di essere stata sempre bene nell'ultimo anno. Le chiedo allora "Credi forse di non essere celiaca? Pensi che forse abbiamo sbagliato la diagnosi?" Dopo una breve pausa di silenzio Giulia scuote la testa e sorridendo mi risponde timidamente "Ho pensato anche a questo...".

Conclusioni

Durante la visita ho spiegato a Giulia l'importanza della dieta, anche in assenza di sintomi e ho cercato di risolvere tutti i suoi dubbi. Mi ha promesso che riprenderà a seguire la dieta e che, tra 6 mesi, tornerà al controllo.

Caso Clinico (Poster Pannello 29)

Marcello Mariani, Istituto Giannina Gaslini, Genova

Anamnesi

Paziente di 2 anni di età al momento della comparsa di sintomatologia. Anamnesi patologica remota non significativa, divezzamento con glutine al 5° mese. Dall'inserimento all'asilo alvo tendenzialmente diarroico per cui, nel dicembre 2012 eseguiva primo screening per celiachia risultato positivo (EMA positivi, TTG >200 UR/ml) con conferma ad un secondo test effettuato in dieta libera. I restanti ematochimici documentavano colesterolemia totale 160 mg/dl con HDL 36 mg/dl e LDL 97 mg/dl. Nel Gennaio 2013 si procedeva ad EGDS che poneva conferma diagnostica. La paziente avviava dieta priva di glutine dal febbraio 2013 con negativizzazione di TTG documentata a 12 mesi dalla diagnosi.

Ipotesi diagnostica – approccio clinico – accertamenti eseguiti

Dislipidemia correlata alle abitudini alimentari, costituzionale/familiare o legata alla dieta glutinata? Come interpretare l'incremento di colesterolemia totale a fronte di una normalizzazione dei livelli di HDL?

Risultato del percorso di terapia e aspetti nutrizionali correlati

Ai controlli ematochimici annuali di routine, si documentava nel 2015 colesterolemia totale 212 mg/dl con HDL 70 mg/dl e LDL 123 mg/dl (negata familiarità per ipercolesterolemia). Nei successivi 2 anni di follow up la colesterolemia totale si manteneva persistentemente superiore ai 180 mg/dl. Nella norma i parametri antropometrici (peso e altezza sul 10° centile) e auxologici (accrescimento staturoponderale sempre regolare).

La piccola veniva quindi avviata ad inquadramento specialistico presso centro dislipidemie.

Conclusioni

Il caso sopra riportato evidenzia quali siano le problematiche gestionali del paziente che effettua correttamente dieta glutinata. Oltre ai noti deficit di micronutrienti, la letteratura conferma la possibilità di un miglioramento globale dell'assetto lipidico endogeno (testimoniato nel caso particolare da incremento del colesterolo HDL) con tuttavia lieve aumento della colesterolemia totale oltre i livelli desiderabili, in particolare considerando sesso ed età.

Resta da indagare quindi la possibilità di una gestione integrata centro celiachia-centro dislipidemia e quale impatto potrebbe avere tale condizione nell'ambito di un possibile incremento del rischio cardiovascolare in età adulta.