

# La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio Italian Journal of Laboratory Medicine

## Linee guida per la diagnosi di laboratorio e istologica della malattia celiaca. Revisione 2015.

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	RIME-D-15-00013
<b>Full Title:</b>	Linee guida per la diagnosi di laboratorio e istologica della malattia celiaca. Revisione 2015.
<b>Article Type:</b>	Review (Rassegna)
<b>Section/Category:</b>	Clinical Section
<b>Keywords:</b>	Celiac disease, guidelines, tissue transglutaminase antibodies, endomysial antibodies, gluten sensitivity, small bowel biopsy  Celiachia, linee guida, anticorpi anti-transglutaminasi, anticorpi anti-endomisio, sensibilità al glutine, biopsia duodenale
<b>Corresponding Author:</b>	Brunetta Porcelli  ITALY
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Brunetta Porcelli
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Brunetta Porcelli Maria Grazia Alessio Danilo Villalta Nicola Bizzaro Marcello Bagnasco Giampaola Pesce Renato Tozzoli Marilina Tampoia Danila Bassetti Antonio Antico Stefan Platzgummer Martina Fabris D Visentini Ignazio Brusca Vincenzo Villanacci M Salemme Elio Tonutti
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	

**Abstract:**

In light of scientific evidence that has appeared over the last 10 years, the Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine has revised and updated the guidelines—first issued in 2005—on the correct and appropriate procedures for the diagnosis of celiac disease. The identification of non-celiac gluten sensitivity as a disease in itself also needed some clarification as to diagnosis and classification. The current version of the diagnostic guidelines takes the form of recommendations for proper use of available serological and genetic tests, and description of the different histological features, both to diagnose the disease and to define at risk subjects. Diagnostic and interpretative steps are formulated according to the purpose of the request (diagnosis, monitoring, screening) and the age of patients. The recommendations are the result of the latest available evidence in the literature, a consensus among the members of the study group and interdisciplinary work among clinical pathologists, immunologists and pathologists. They are designed to support the work of physicians in the everyday approach to the diagnosis of gluten-associated disorders.

Il Gruppo di Studio in Autoimmunologia della SIPMeL ha riveduto e aggiornato le linee guida già proposte nel 2005 alla luce delle evidenze scientifiche comparse negli ultimi 10 anni per l'inquadramento diagnostico e il monitoraggio del paziente celiaco. La identificazione della non celiac gluten sensitivity come entità nosologica a sé stante ha reso inoltre necessari alcuni chiarimenti su aspetti diagnostici e classificativi. L'attuale versione ripropone sotto forma di raccomandazioni le indicazioni per un appropriato utilizzo dei test sierologici oggi disponibili, dei test genetici in grado di definire l'appartenenza ai gruppi a rischio e dei diversi quadri istologici, definendo gli step diagnostici e interpretativi in maniera diversificata a seconda della motivazione della richiesta (diagnosi, monitoraggio, gruppi a rischio) e dell'età dei pazienti. Le raccomandazioni sono il risultato delle più recenti evidenze disponibili in letteratura, del consenso tra i componenti del gruppo di studio e del lavoro interdisciplinare tra patologi clinici, immunologi e anatomo-patologi e ha l'obiettivo di supportare il lavoro del medico nell'approccio quotidiano alla diagnosi delle patologie glutine-associate.

## Conflict of Interest Disclosure Form

È politica *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio-Italian Journal of Laboratory Medicine* garantire l'equilibrio, l'indipendenza, l'obiettività e il rigore scientifico dei suoi contenuti. Tutti gli autori sono tenuti a esplicitare ai lettori un conflitto reale o apparente di interessi che possono avere un rapporto diretto con il loro articolo.

Questo riguarda i rapporti con le aziende farmaceutiche, i produttori di dispositivi biomedicali o altre società i cui prodotti o servizi possono essere correlati all'argomento dell'articolo o alla sponsorizzazione dello studio descritto.

Non si vuole assolutamente contrastare la pubblicazione di articoli da parte di autori con un potenziale conflitto di interessi. L'esplicitazione di quest'ultimo infatti è necessario esclusivamente ai lettori, che avranno così gli strumenti per potersi formare un proprio giudizio e stabilire se il conflitto di interessi abbia o meno portato a una possibile distorsione sia nell'esposizione sia nelle conclusioni presentate.

Si prega il *corresponding author* di compilare e inviare il modulo per l'Editor-in-Chief per conto di tutti gli autori elencati di seguito.

It is the policy of *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio-Italian Journal of Laboratory Medicine* to ensure balance, independence, objectivity, and scientific rigor in the Journal. All authors are expected to disclose to the readers any real or apparent conflict(s) of interest that may have a direct bearing on the subject matter of the article. This pertains to relationships with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers or other corporation whose products or services may be related to the subject matter of the article or who have sponsored the study.

The intent of the policy is not to prevent authors with a potential conflict of interest from publication. It is merely intended that any potential conflict should be identified openly so that the readers may form their own judgements about the article with the full disclosure of the facts. It is for the readers to determine whether the authors' outside interest may reflect a possible bias in either the exposition of the conclusions presented.

The corresponding author will complete and submit this form to the Editor-in-Chief on behalf of all authors listed below.

Rivista/Journal

RIVISTA ITALIANA MEDICINA LABOR

Titolo dell'Articolo/Article Title

LINEE GUIDA PER LA DIAGNOSI DI LABORATORIO  
E ISTOLOGICA DELLA MALATTIA CELIACA

Autori/Authors

PORCELLI A, ALESSI MG, VILLALTA D, BIZZARO N,  
BARBARISCOMI, PESCE G, TOZZOLI E, TAMARINI M, BASSETTI D, ET AL

Per cortesia tenga presente che il conflitto di interessi verrà pubblicato su ogni articolo.

Please note that a conflict of interest statement is published with each paper.

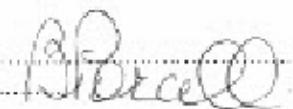
Per cortesia dichiaro qui di seguito l'eventuale conflitto di interesse

If any conflict exists, please define hereafter:

*(Se non è presente alcun conflitto scriva "Nessuno", altrimenti descriva gli accordi/interessi finanziari con una o più organizzazioni che potrebbero essere percepiti come reali o apparenti conflitti di interesse in relazione ai contenuti del suo articolo.)*

*(If none, "None" or describe financial interest/arrangement with one or more organizations that could be perceived as a real or apparent conflict of interest in the context of the subject of this article):*

.....  
.....  
NESSUNO  
.....  
.....

Nome/Name ..... BRUNETTA PORCELLI 

Firma/Signature .....

Data/Date ..... 18/3/15

Per cortesia compili questo documento e lo carichi in Editorial Manager insieme al suo articolo.

Please fill in this document and upload it in Editorial Manager while submitting your manuscript.



<http://www.springer.com/journal/13631>

La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio – Italian  
Journal of Laboratory Medicine

Direttore Scientifico: Dorizzi, R.M.; BIZZARO, N.

ISSN: 1825-859X (print version)

ISSN: 2039-6821 (electronic version)

Journal no. 13631

## Rassegna

### Linee guida per la diagnosi di laboratorio e istologica della malattia celiaca. Revisione 2015

Brunetta Porcelli • Maria Grazia Alessio • Danilo Villalta • Nicola Bizzaro • Marcello Bagnasco • Giampaola Pesce • Renato Tozzoli • Marilina Tampoia • Danila Bassetti • Antonio Antico • Stefan Platzgummer • Martina Fabris • **D** Visentini • Ignazio Brusca • Vincenzo Villanacci • **M** Salemme • Elio Tonutti

B. Porcelli

Dipartimento Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Siena, Siena, Italia

M.G. Alessio

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Ospedale Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italia

D. Villalta

Allergologia e Immunologia Clinica, Ospedale S. Maria degli Angeli, Pordenone, Italia

N. Bizzaro

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale San Antonio, Tolmezzo, Italia

M. Bagnasco, G. Pesce G

DIMI, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

R. Tozzoli

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale S. Maria degli Angeli, Pordenone, Italia

M. Tampoia

Laboratorio di Patologia Clinica, Policlinico Universitario, Bari, Italia

D. Bassetti

Microbiologia e Virologia, Ospedale S. Chiara, Trento, Italia

A. Antico

Laboratorio Analisi, Ospedale Civile, Santorso, Italia

S. Platzgummer

Laboratorio Centrale, Ospedale Civile, Merano, Italia

M. Fabris

Istituto di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliero-Universitaria S. Maria della Misericordia, Udine, Italia

D. Visentini, E. Tonutti

Immunopatologia e Allergologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria S. Maria della Misericordia, Udine, Italia

I. Brusca

Laboratorio Analisi, Ospedale Buccheri La Ferla, Palermo, Italia

V. Villanacci, M. Salemme

Servizio di Anatomia Patologica, Spedali Civili, Brescia, Italia; per il Gruppo di Studio in Autoimmunologia della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

B. Porcelli 

Dipartimento Biotecnologie Mediche, Sezione di Biochimica, Polo Scientifico Universitario di San Miniato, Via Alcide de Gasperi 2, 53100 Siena, Italia

E-mail: brunetta.porcelli@unisi.it

Tel. +39 0577 234215

Fax +39 0577 234285

*Riassunto* Il Gruppo di Studio in Autoimmunologia della SIPMeL ha riveduto e aggiornato le linee guida già proposte nel 2005 alla luce delle evidenze scientifiche comparse negli ultimi 10 anni per l'inquadramento diagnostico e il monitoraggio del paziente celiaco. L'identificazione della *non celiac gluten sensitivity* come entità nosologica a se stante ha reso inoltre necessari alcuni chiarimenti su aspetti diagnostici e classificativi. L'attuale versione ripropone sotto forma di raccomandazioni le indicazioni per un appropriato utilizzo dei test sierologici oggi disponibili, dei test genetici in grado di definire l'appartenenza ai gruppi a rischio e dei diversi quadri istologici, definendo gli step diagnostici e interpretativi in maniera diversificata a seconda della motivazione della richiesta (diagnosi, monitoraggio, gruppi a rischio) e dell'età dei pazienti. Le raccomandazioni sono il risultato delle più recenti evidenze disponibili in letteratura, del consenso tra i componenti del gruppo di studio e del lavoro interdisciplinare tra patologi clinici, immunologi e anatomo-patologi e ha l'obiettivo di supportare il lavoro del medico nell'approccio quotidiano alla diagnosi delle patologie glutine-associate.

**Parole chiave** Celiachia • Linee guida • Anticorpi anti-transglutaminasi • Anticorpi anti-endomisio • Sensibilità al glutine • Biopsia duodenale

La malattia celiaca (MC) è una patologia immuno-mediata che si manifesta in persone geneticamente suscettibili, in seguito all'introduzione nella dieta di alimenti contenenti glutine. Viene considerata una malattia autoimmune ed è una condizione clinica che persiste per tutto l'arco della vita. La prevalenza della MC sembra essere aumentata negli ultimi 30 anni nei Paesi sviluppati: studi epidemiologici in aree geografiche ben definite confermano questo trend [1]. In Europa la prevalenza della MC nella popolazione generale è stimata tra lo 0,3 e l'1,2% [2]. Percentuali simili di prevalenza a quelle europee sono riportate nelle popolazioni nord-americane e australiane [3]; un'alta prevalenza di MC si riscontra anche nelle popolazioni nord-africane, con punte del 5-6% nelle popolazioni del Sahara occidentale [4]. Recenti studi hanno evidenziato come la frequenza nella popolazione degli alplotipi HLA DQ2 o DQ8 e il consumo di frumento (orzo, segale) non sempre correlano con la medesima prevalenza di MC: Finlandia e Russia hanno gli stessi livelli di consumo di frumento e una frequenza comparabile degli alplotipi HLA, ma la prevalenza di MC è rispettivamente del 1,2% e dello 0,2%. Il Messico ha un'elevata prevalenza di MC pur con uno scarso consumo di glutine. Il nord della Cina si differenzia in maniera significativa dal resto del Paese per un'elevata prevalenza di MC pur non segnalandosi differenze genetiche e alimentari sostanziali tra le diverse aree geografiche della Cina [5].

La MC è caratterizzata istologicamente da un danno immuno-mediato della mucosa intestinale innescato dal glutine presente in cereali quali frumento, orzo e segale, mentre è ormai accertato che l'avena non è in grado di provocare il danno istologico alla mucosa intestinale [6].

Lo spettro clinico di questa patologia è estremamente eterogeneo e comprende quadri che vanno da drammatiche condizioni generali dovute al malassorbimento (rare) a sintomi clinici sfumati (frequenti), spesso con assenza dei classici sintomi gastrointestinali [7, 8].

A differenza di altre patologie autoimmuni, la celiachia è curabile nella quasi totalità dei casi adottando un'alimentazione appropriata, qualora non si siano già instaurate complicanze irreversibili.

Gli esami di laboratorio sono fondamentali per l'inquadramento della MC e spesso sono in grado di individuare soggetti celiaci asintomatici o con segni clinici subdoli e di non facile interpretazione; inoltre, permettono il monitoraggio dei pazienti in dieta priva di glutine. Studi epidemiologici eseguiti su vasta scala hanno dimostrato che solo il 10-20% dei casi di celiachia è identificato sulla base dei dati clinici [2, 9]; l'associazione tra segni/sintomi e marcatori sierologici è in grado di ottimizzare l'iter diagnostico [10].

Nel 1997 l'enzima transglutaminasi tissutale (tTG) è stato identificato quale principale se non unico bersaglio degli autoanticorpi presenti nel siero dei soggetti celiaci [11]; ciò ha permesso la comprensione dei meccanismi fisiopatogenetici della malattia. L'enzima agisce infatti deamidando la gliadina che, così modificata e associata agli antigeni del complesso maggiore di istocompatibilità di classe II (HLA II: *human leukocyte antigen*) DQ2 o DQ8, viene presentata ai linfociti T della lamina propria [12-14]; la cronica stimolazione di queste cellule porta a un'attivazione immunologica persistente e a una trasformazione della mucosa intestinale (infiltrazione linfocitaria, iperplasia delle cripte, atrofia dei villi) [15, 16].

## **T1 Fattori di rischio**

### **T2 Genetica**

La MC è una patologia a forte predisposizione genetica. Nei gemelli omozigoti la concordanza per la malattia è del 75% [17], mentre il 5-10% dei familiari di primo grado ne è affetto. La MC è strettamente associata alla presenza dell'antigene HLA di classe II DQ2 e più del 90% dei soggetti celiaci esprime questo marcatore; i pochi pazienti DQ2 negativi sono DQ8 positivi [18]. La predisposizione genetica legata al sistema HLA spiega solo parzialmente il modo di estrinsecazione di questa patologia; infatti, benché la prevalenza dell'antigene DQ2 nella popolazione generale europea sia compresa tra il 20% e il 30% [18-20], solo una piccola parte di questi individui è affetta da MC.

## **T2 Sesso**

La prevalenza della malattia celiaca è più elevata, anche se di poco, nel sesso femminile, con un rapporto maschi/femmine di 1/2 [2].

## **T2 Dieta**

La malattia si manifesta in seguito all'assunzione del glutine con gli alimenti; esso comprende una famiglia di proteine vegetali, le prolamine, contenute nel frumento (gliadine e glutenine), nell'orzo (ordeine) e nella segale (secaline). Nonostante il suo scarso valore nutrizionale per la mancanza di aminoacidi essenziali quali la lisina e il triptofano, il glutine ha tuttavia un ruolo strutturale importante poiché conferisce alla farina di grano la capacità di formare assieme all'acqua un impasto tenace ed elastico, proprietà essenziale per la panificazione. Nel 1984 Kasarda e coll. hanno determinato la sequenza strutturale dell'alfa-gliadina, proteina costituita da 266 aminoacidi [21]. L'alto contenuto di prolina e glutamina, trovato soprattutto in alcune sequenze delle gliadine, rende queste proteine immunogeniche; i siti antigenici immunodominanti risultano essere le porzioni peptidiche ricche in prolina. Nei soggetti geneticamente suscettibili, la non assunzione di glutine evita l'instaurarsi del danno alla mucosa, e nei soggetti identificati come celiaci una rigorosa dieta priva di glutine è in grado di far ripristinare la normale architettura dei villi nell'arco di 6-12 mesi [22].

## **T2 Altri fattori di rischio**

Il rischio di sviluppare la malattia celiaca è superiore, rispetto alla popolazione normale, nei pazienti con le seguenti condizioni: diabete mellito di tipo 1 (3-5%) [23], sindrome di Down (4-5%), deficit di IgA (rischio aumentato di circa 10-16 volte) [24], familiari di primo grado di celiaci (5-10%) e, in genere, tutti i soggetti affetti da un'altra malattia autoimmune.

## **T1 Manifestazioni cliniche**

I segni e i sintomi che si manifestano nei soggetti celiaci sono estremamente eterogenei e possono comparire in tempi diversi [2]. Il medico deve essere a conoscenza dell'estremo polimorfismo clinico della MC, la cui diagnosi viene spesso formulata solo attraverso la collaborazione di diversi specialisti. Nella **Tabella 1** sono riportati segni e sintomi che devono suggerire al medico curante la prescrizione degli esami diagnostici di laboratorio.

L'esecuzione delle indagini di laboratorio è inoltre consigliata, indipendentemente dal quadro clinico, in tutti i soggetti che appartengono ai gruppi a rischio (diabetici, deficit di IgA, familiari di primo grado di celiaci, sindrome di Down) [25] ed eventualmente in soggetti affetti da patologie

celiachia-associate come le tireopatie autoimmuni [26, 27], le patologie infiammatorie croniche dell'intestino [28], il morbo di Addison [29], l'epatite autoimmune [30], ecc. (Tab. 2).

È importante sottolineare che i soggetti celiaci non trattati possono sviluppare patologie croniche o degenerative, tra cui il linfoma intestinale T, il carcinoma dell'esofago e del digiuno, l'ileite ulcerativa, l'osteoporosi e l'infertilità [25, 31-37], e che l'adozione di una rigorosa dieta priva di glutine può avere efficacia preventiva nei confronti di queste e altre complicanze.

## **T1 Varianti cliniche della malattia celiaca**

### **T2 Dermatite erpetiforme**

La dermatite erpetiforme (DE) è la forma cutanea della MC; colpisce più frequentemente i bambini e gli adulti giovani, ma può manifestarsi a qualsiasi età. Meno frequente della celiachia classica, ha un'incidenza stimata in Italia tra 0,9 e 2,6 casi per milione di abitante. L'associazione con HLA DQ2-DQ8 è analoga a quella della forma intestinale, così come l'associazione con altre malattie autoimmuni quali la tiroidite e il diabete di tipo 1 [38].

Clinicamente, la DE è caratterizzata dalla presenza di lesioni polimorfe (eritema, pomfi, vescicole, bolle, papule), con tendenza a riunirsi a grappolo o a festone, generalmente simmetriche e accompagnate da bruciore e prurito; la malattia ha un decorso cronico, con continue recidive. Le principali sedi di localizzazione sono i gomiti, le regioni scapolari, la parte posteriore del collo, le ginocchia, la regione sacrale, ma altri distretti cutanei possono essere colpiti; raro l'interessamento delle mucose che, se presente, è generalmente limitato al cavo orale.

Le lesioni possono entrare in diagnosi differenziale con il pemfigoide bolloso, la dermatite atopica, la scabbia, l'orticaria papulosa (nel bambino) e l'eritema polimorfo (nell'adulto).

La DE è generalmente associata a una tipica enteropatia digiunale glutine-sensibile, prevalentemente asintomatica, anche se nel 10-15% dei casi in età pediatrica possono essere presenti sintomi tipici quali dolori addominali, ritardo di crescita, anemia sideropenica.

L'esame endoscopico mostra generalmente delle lesioni "a patch" circondate da mucosa indenne; l'esame istologico evidenzia danno atrofico in circa due terzi dei casi, mentre in un terzo dei pazienti si rileva solo infiltrazione di CD3 e/o atrofia parziale.

La diagnosi si basa però sulla biopsia cutanea, da effettuare sia su cute lesionale sia su cute sana perilesionale.

L'esame istologico della cute lesionale, colorato con ematossilina-eosina, mostra un distacco dermo-epidermico a partire dall'apice della papille dermiche, associato alla presenza di microascessi costituiti da granulociti neutrofili e fibrina. Nella cute sana perilesionale, la dimostrazione con tecnica di immunofluorescenza diretta (IFD) dei caratteristici depositi lineari di IgA all'apice delle papille dermiche e alla giunzione dermo-epidermica costituisce il *gold standard*

diagnostico nel sospetto clinico di DE e può essere un elemento sufficiente per la diagnosi, rendendo non necessario il ricorso ad ulteriori indagini, come la biopsia duodenale [39].

I marcatori sierologici tipici della MC – anticorpi anti-transglutaminasi (anti-tTG) e anticorpi anti-endomisio (EMA) – sono abitualmente presenti anche in pazienti affetti da DE, con una sensibilità che varia tra il 50% e il 98% per anti-tTG IgA e tra il 45% e il 95% per EMA. Gli anticorpi anti-peptidi deamidati della gliadina (anti-DGP) IgG, al pari della forma classica di MC, mostrano anche in questi pazienti buona sensibilità ed elevata specificità, soprattutto nei bambini di età inferiore ai 2 anni [40].

Negli ultimi anni è stato dimostrato che l'antigene verso cui sono diretti gli autoanticorpi nella DE è rappresentato da una specifica isoforma epidermica della transglutaminasi, la transglutaminasi 3 (tTG3) [41]; tali anticorpi sarebbero presenti soprattutto nell'adulto e correlerebbero con l'andamento della malattia e la risposta alla dieta aglutinata [41-43]. La recente disponibilità di kit diagnostici per il dosaggio degli anticorpi anti-tTG3 rende ipotizzabile, in un prossimo futuro, l'utilizzo di questi autoanticorpi nella diagnosi e nel follow-up della DE.

La dieta priva di glutine è l'unico trattamento per i pazienti affetti da DE [44] in grado sia di risolvere le manifestazioni dermatologiche sia di ripristinare il normale trofismo della mucosa intestinale. Peraltro, le lesioni cutanee possono persistere anche a lungo dopo l'inizio della dieta glutinata; in questi casi si deve ricorrere alla terapia topica con corticosteroidi e, in taluni casi, al trattamento con antistaminici per os.

## **T2 Atassia cerebellare**

Il 10% circa dei pazienti con celiachia può presentare manifestazioni neurologiche, che a volte possono costituire l'unico sintomo della malattia; in questi casi, la correlazione con il glutine può essere del tutto ignorata e questo fa sì che la proporzione del fenomeno venga sottostimata. L'atassia da glutine è una rara espressione clinica della malattia celiaca, definita anche come atassia sporadica o idiopatica. Gli antigeni HLA DQ2-DQ8 sono presenti nei pazienti con atassia cerebellare con frequenza pari a quella descritta per la celiachia, ma DQ2 è presente solo nel 70% dei casi contro il 90% dei pazienti celiaci in generale [45]. Esistono evidenze circa l'esistenza di una cross-reattività tra epitopi presenti sulle cellule di Purkinje e proteine del glutine; inoltre, depositi di IgA contenenti un'isoforma della transglutaminasi, la transglutaminasi 6 (tTG6), sono stati dimostrati attorno ai vasi cerebrali di pazienti affetti da atassia glutine-dipendente. Anticorpi monoclonali anti-tTG6, iniettati sperimentalmente nel topo, sarebbero in grado di produrre atassia, suggerendo un loro possibile ruolo patogenetico [45, 46]. La maggior parte dei pazienti affetti da atassia da glutine non presenta sintomi gastrointestinali, ma nel siero sono rilevabili anticorpi circolanti tipici della MC. Anticorpi anti-tTG IgA e IgG sono presenti rispettivamente nell'82% e

nell'88%, di pazienti con atassia cerebellare associata a danno intestinale; queste percentuali si riducono a 11% e 43% nei pazienti con atassia ma senza alterazioni istologiche alla biopsia duodenale [46]. La maggiore frequenza di anticorpi anti-tTG IgG è una caratteristica peculiare di questi pazienti; pertanto, entrambi i test dovrebbero essere utilizzati nel sospetto clinico di atassia da glutine. Per quanto riguarda gli anticorpi anti-DGP, il loro peso nella diagnosi sembra essere più limitato; studi recenti mostrerebbero che solo una percentuale non superiore al 25% di pazienti avrebbe anticorpi anti-DGP IgA/IgG [46].

Qualora disponibili, kit per la determinazione di anticorpi diretti verso tTG 6 potrebbero migliorare la diagnosi di questa particolare forma clinica di celiachia, per la quale al momento il sospetto diagnostico viene posto quasi esclusivamente su base clinica, in presenza di tipici sintomi neurologici associati al riscontro alla RM di vari gradi di atrofia cerebellare, in presenza di anticorpi glutine-correlati e dopo esclusione di altre possibili cause di atassia.

Contrariamente a quanto avviene nella forma intestinale e cutanea della celiachia, nell'atassia da glutine solo una quota di pazienti risponde alla dieta senza glutine, con remissione totale o parziale dei sintomi; un numero significativo di pazienti va purtroppo incontro ad atrofia cerebellare irreversibile [47].

## **T1** Marcatori anticorpali e genetici

### **T2** *Anticorpi anti-gliadina e anticorpi anti-peptidi deamidati della gliadina*

Gli anticorpi anti-gliadina (AGA) sono stati il primo marcatore sierologico a essere utilizzato nella pratica clinica. I primi metodi sono stati introdotti all'inizio degli anni Ottanta, consentendo negli anni successivi la realizzazione di studi su popolazioni molto ampie, fino ad allora impensabili [2]; è proprio grazie a questi studi che oggi siamo in grado di comprendere meglio le caratteristiche cliniche ed epidemiologiche della MC.

I kit commerciali di prima generazione per il dosaggio degli AGA utilizzavano come antigene la molecola gliadinica in toto. A partire dalla metà degli anni 2000, la scoperta che il complesso transglutaminasi-gliadina deamidata è l'antigene riconosciuto dalle molecole HLA esposte sulla superficie delle cellule presentanti l'antigene ed è responsabile della risposta T linfocitaria tipica della malattia celiaca [48] ha portato allo sviluppo di metodi diagnostici in cui la molecola gliadinica è stata sostituita dal peptide gliadinico deamidato dall'azione della transglutaminasi (DGP).

Rispetto ai "vecchi" kit per la determinazione degli AGA, i test di nuova generazione hanno mostrato in numerosi studi una buona sensibilità e un'ottima specificità [49-51], comunque inferiori a quelle degli anticorpi EMA e anti-tTG IgA, che restano pertanto i test da utilizzare nel sospetto di malattia celiaca. Numerose sono invece le evidenze accumulate circa la maggiore sensibilità degli

anticorpi anti-DGP, soprattutto per l'isotipo IgG, nella diagnosi di MC nei primi anni di vita, avendo eliminato i falsi positivi dovuti alla presenza di altre condizioni cliniche, tipici dei test di prima generazione [52]. Nella prima infanzia, quindi, la ricerca di anticorpi anti-DGP IgG, in abbinamento con anticorpi anti-tTG IgA, potrebbe rappresentare il primo approccio nella diagnosi di MC [53, 54].

In uno studio condotto dal Gruppo di Studio in Autoimmunologia della SIPMel, gli anticorpi anti-DGP IgG, contrariamente agli AGA IgG tradizionali, hanno mostrato sensibilità e specificità comparabili a quelle degli anticorpi anti-tTG IgG per lo screening dei soggetti con deficit di IgA [55]; queste performance sono state successivamente confermate in altri lavori della letteratura [56]. La determinazione in prima istanza degli anticorpi anti-DGP IgG nei sieri di pazienti con deficit di IgA richiede attualmente ulteriori conferme. In generale, in presenza di un concreto sospetto clinico e di deficit di IgA gli anticorpi anti-DGP IgG dovrebbero essere determinati contestualmente con gli anticorpi anti-tTG IgG [57].

Esistono inoltre studi che evidenziano come gli anticorpi anti-DGP sembrano essere un test migliore degli anticorpi anti-tTG nella diagnosi sierologica della dermatite erpetiforme [58] e nel monitoraggio della dieta aglutinata [59], ma sono necessari altri studi per confermare tali iniziali osservazioni. Per quanto riguarda la determinazione degli anticorpi anti-DGP nel follow-up in corso di dieta aglutinata, anche in questo caso non ci sono per ora elementi sufficienti per proporre un utilizzo routinario alternativo agli anti-tTG, salvo in quei pazienti in cui la determinazione degli anticorpi anti-DGP sia risultata positiva in fase diagnostica.

I numerosi studi eseguiti sugli anticorpi anti-DGP negli ultimi anni hanno avuto eco nei documenti ufficiali relativi alla diagnostica della malattia celiaca. Nelle linee guida pubblicate dalla *European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN) nel 2012, viene data indicazione affinché i test di vecchia generazione vengano definitivamente abbandonati nella pratica di laboratorio a favore dei nuovi test DGP e nell'algoritmo diagnostico gli anticorpi anti-DGP IgA e IgG sono indicati come test di secondo livello da effettuare nei bambini di età inferiore ai 2 anni [60].

## **T2 Anticorpi anti-endomisio**

Sono autoanticorpi diretti contro antigeni presenti nella matrice del collagene evidenziabili con la metodica di immunofluorescenza indiretta (IFI) su sezioni di esofago (terzo inferiore) di scimmia. Substrati alternativi all'esofago di primate (sezioni di cordone ombelicale umano o vescica di primate) sono stati proposti alcuni anni or sono, ma senza offrire vantaggi in termini di sensibilità di costi e di miglioramento della fase interpretativa [61]. La classe anticorpale anti-endomisio che da sempre ha dimostrato di correlare in maniera estremamente significativa con la malattia è la classe

IgA, mentre la ricerca degli EMA di classe IgG viene utilizzata per la diagnosi nei soggetti con deficit di IgA, con il limite che i test in IFI per la determinazione di EMA di classe IgG sono di difficile interpretazione [62].

La specificità degli EMA IgA è molto elevata (99-100%) e i rari falsi positivi sono in genere imputabili più a errori interpretativi che alle caratteristiche dei metodi impiegati [63]. La sensibilità è anch'essa elevata (circa 95%) e i falsi negativi sono causati dalla minore sensibilità del metodo nei confronti di anticorpi specifici diretti contro epitopi conformazionali [64] più facilmente espressi dalla transglutaminasi legata alla fase solida. In alcuni casi il pattern di fluorescenza degli EMA non è quello classico (a nido d'ape) e può quindi essere di difficile interpretazione.

La ricerca degli EMA dovrebbe essere utilizzata in fase diagnostica come test di conferma degli anticorpi anti-tTG. Le problematiche intrinseche a questa indagine risiedono negli elevati costi del substrato, nella crescente difficoltà nel reperire tessuti di primate e negli aspetti interpretativi della metodica.

## **T2 Anticorpi anti-transglutaminasi tissutale**

L'identificazione dell'enzima transglutaminasi tissutale quale bersaglio di autoanticorpi presenti nei soggetti celiaci [11] ha permesso la comprensione dei meccanismi fisiopatologici e l'applicazione di nuove metodologie diagnostiche [65-67].

La tTG (EC 2.3.2.13) è un enzima intracellulare  $Ca^{++}$  dipendente e ubiquitario [68] che catalizza la formazione di legami covalenti e irreversibili tra residui glutamminici e residui lisinici presenti nella stessa o in differenti catene polipeptidiche.

L'enzima ha inoltre un ruolo nella trasduzione di segnali extracellulari e sembra avere un ruolo critico nel controllo dell'omeostasi cellulare e tissutale regolando la proliferazione, la differenziazione terminale e il processo apoptotico [69]. Sebbene la tTG sia normalmente localizzata nel citoplasma, in particolari condizioni può essere rilasciata nell'ambiente extracellulare dove si lega a proteine della matrice come la fibronectina, l'osteonectina e il collagene e ha il ruolo di stabilizzare e riparare i tessuti [70].

Mentre la funzione maggiormente conosciuta della tTG è il cross-linking proteico, mediante l'introduzione di un legame covalente tra glutamina e lisina, è stato anche dimostrato che l'enzima è in grado di deamidare i residui glutamminici in assenza di residui lisinici. La gliadina, che ha un alto contenuto in glutamina, è perciò un eccellente substrato per la transglutaminasi. La deamidazione gliadinica catalizzata dalla tTG aumenta l'affinità di legame tra peptidi gliadinici e molecole DQ2 e DQ8. I neoepitopi antigenici del complesso gliadina/anti-tTG sono in grado di attivare sia i linfociti T sia i linfociti B specifici con conseguente sintesi di anticorpi anti-gliadina e anti-tTG.

In seguito al riconoscimento della tTG quale proteina bersaglio degli anticorpi sono stati sviluppati metodi radioimmunologici, immunoenzimatici, in chemiluminescenza e in fluorimetria a elevata sensibilità e specificità [71-75]. La letteratura riporta una superiore sensibilità degli anticorpi anti-tTG IgA nei confronti degli EMA sia nella diagnosi sia nel monitoraggio della MC [76, 77].

La concentrazione nel siero degli anticorpi anti-tTG nei soggetti sani risulta essere molto bassa, tale da essere appena rilevabile con i metodi quantitativi. Perciò un risultato negativo per anti-tTG, ma con un titolo non lontano dal livello decisionale, deve essere valutato attentamente in rapporto all'età del paziente, essendo indicativo, in alcuni casi, di una sierconversione in fase iniziale.

È stato inoltre evidenziato che i livelli di anti-tTG IgA possono riflettere l'entità del danno mucosale [78-80]. Dai diversi studi effettuati è emerso che è possibile individuare un valore soglia, fortemente associato a lesioni atrofiche intestinali, che varia da 5 a 10 volte il *cut-off* stabilito dai produttori dei kit utilizzati [60, 81-89]. Alla luce di queste osservazioni, utilizzabili in sede diagnostica, risulta evidente l'importanza di un'armonizzazione delle risposte ottenibili con i diversi preparati in commercio. È noto da tempo, infatti, che esistono significative differenze nei risultati ottenuti con metodi diversi [90], non essendo ancora stato prodotto un materiale di riferimento internazionale.

Oltre alle IgA, per gli anti-tTg può essere dosata anche la classe IgG [91, 92], ma ne è sconsigliata la determinazione nei pazienti con normali livelli di IgA totali; tale dosaggio è invece fondamentale, assieme agli anticorpi anti-DGP IgG, nei soggetti con deficit assoluto di IgA [93, 94].

## **T2** *Anticorpi anti-actina*

Questi anticorpi sono evidenziabili in IFI su linee di enterociti in coltura, ma anche con metodi ELISA quantitativi. La ricerca degli anticorpi anti-actina sembrerebbe essere utile come indicatore di danno istologico severo della mucosa intestinale, in quanto la presenza e il titolo di tali anticorpi sembrano correlare positivamente con il grado di atrofia dei villi [95, 96]. La ricerca degli anticorpi anti-actina non è entrata nella pratica diagnostica routinaria perché il test non ha un'elevata sensibilità e non può certamente sostituire test molto più sensibili come gli anti-tTG e gli EMA [97]; tuttavia, il test potrebbe essere inserito nell'algoritmo diagnostico come marcatore di danno quando non è disponibile la valutazione istologica [98].

## **T2** *Marcatori genetici*

La dimostrazione che i soggetti affetti da MC esprimono selettivamente gli antigeni HLA di classe II DQ2 o DQ8 ha permesso di introdurre questa indagine nella pratica clinica. La determinazione degli antigeni HLA attraverso l'identificazione degli alleli specifici viene oggi effettuata con

metodiche di biologia molecolare, rese disponibili da più fonti commerciali, con riduzione dei tempi e dei costi di esecuzione.

La molecola DQ2, un eterodimero formato da una catena  $\alpha$  e una catena  $\beta$ , è situata sulla superficie delle cellule coinvolte nella risposta immune (linfociti B e macrofagi) ed è codificata da due alleli della subregione DQ, rispettivamente DQA1\*0501 per la catena  $\alpha$  e DQB1\*0201 per la catena  $\beta$ . L'aplotipo DQ2 è presente nel 90-95% dei pazienti celiaci e nel 20-30% della popolazione generale. La percentuale residua dei pazienti celiaci DQ2 negativi porta l'aplotipo DQ8 [18-20], il cui eterodimero è geneticamente codificato dagli alleli DQA1\*0301 e DQB1\*0302.

Un lavoro dello *European Genetics Cluster on Coeliac Disease* riporta la presenza della metà dell'eterodimero DQA1\*05/DQB1\*02 in circa il 5% dei soggetti celiaci [99, 100].

A causa del forte disequilibrio di legame che porta a ereditare il gruppo dei geni del sistema HLA come aplotipi estesi, la maggior parte dei pazienti celiaci esprime l'aplotipo HLA DR3-DQ2. Questo aplotipo è di particolare interesse perché è associato a numerose malattie autoimmuni, come il diabete di tipo 1, l'epatite autoimmune [101], la colangite sclerosante [102] e le sindromi autoimmuni poliendocrine [103], e al deficit selettivo di IgA [104]. Per questo motivo il rischio di celiachia è notevolmente aumentato in soggetti con le patologie citate.

L'identificazione dell'aplotipo associato a celiachia, proprio per la sua elevata diffusione nella popolazione generale, non deve essere considerato un test di conferma, ma piuttosto un esame a completamento del quadro diagnostico in alcune situazioni particolari e deve quindi essere utilizzato come marcatore di esclusione di malattia.

Va infatti ricordato che il valore predittivo positivo di DQ2, considerando una prevalenza della malattia nella popolazione generale dell'1%, sarebbe compreso tra il 3% e il 4,5%, mentre il valore predittivo negativo, insieme a DQ8, è vicino al 100%. I risultati degli studi sul rischio relativo di HLA-DQ per la MC hanno dimostrato che, considerando i genotipi suscettibili di intolleranza al glutine, vi è massimo rischio per i soggetti omozigoti DQ2/DQ2 e per i soggetti eterozigoti DQ2 che presentano un secondo allele DQB1\*02, medio rischio per gli individui DQ2/non-DQ2 (DQ2 eterozigoti) e basso rischio per i non-DQ2/non-DQ2 [105].

Recenti studi hanno dimostrato che lo status aplotipico è l'indicatore più affidabile nella stratificazione del rischio per MC, dimostrando che né l'allattamento al seno né il momento di introduzione del glutine nella dieta sono in grado di modificare le probabilità di sviluppo della malattia [106].

È bene infine sottolineare che per la diagnosi di MC è sufficiente richiedere al Laboratorio la sola identificazione degli alleli DQ per la determinazione degli antigeni DQ2 e DQ8 e non la mappatura completa dell'aplotipo HLA di classe I e II.

## **T1** **Prelievo bioptico, esame istologico e immunoistochimico, complicanze della MC** **obiettivabili istologicamente e diagnosi differenziale**

L'esofago-gastro-duodenoscopia (EGDS) con biopsie duodenali multiple è un elemento critico nella valutazione diagnostica di persone con sospetta MC [107]. Pur rappresentando spesso l'atto conclusivo dell'iter diagnostico, la valutazione morfologica della biopsia duodenale ha perso tuttavia parte della sua funzione centrale; oggi è infatti consolidato il concetto che la diagnosi di MC richieda il concorso di vari elementi quali l'anamnesi familiare, la storia clinica, l'esame obiettivo, i test sierologici, le indagini genetiche e l'esito dell'esame endoscopico e delle biopsie duodenali. Nei centri di riferimento è raccomandata la costituzione di un'equipe specialistica multidisciplinare, in cui lavorino a stretto contatto l'anatomo-patologo, l'endoscopista, il gastroenterologo, il pediatra e il patologo clinico. In questi ultimi anni ha assunto rilievo la certezza che la lesione intestinale indotta dal glutine non è solo quella da tempo conosciuta, caratterizzata dalla totale scomparsa dei villi intestinali ma, oltre a una variabilità nell'espressione clinica della malattia, si riconosce anche una variabilità nell'estrinsecazione del danno intestinale e di conseguenza delle alterazioni valutabili morfologicamente. Esiste infatti uno spettro di lesioni dipendenti dal glutine che va dal semplice aumento del numero di linfociti intraepiteliali, in una mucosa per il resto normale, fino al danno più severo di atrofia totale della mucosa. Non a caso la MC è stata paragonata a un camaleonte [108].

La richiesta di esame istologico dovrebbe essere inoltrata al servizio di Anatomia Patologica corredata di tutte le informazioni utili a confermare o meno il sospetto clinico di MC; a tal fine è raccomandata l'adozione di uno specifico modulo che agevoli la trasmissione di queste informazioni e in cui dovrebbero essere riportati:

- motivo della biopsia: sintomatologia, familiarità, storia di pregressa diagnosi di celiachia, patologie associate;
- esami di laboratorio: positività o meno dei marcatori sierici di MC;
- notizie riguardanti la dieta: priva di glutine, con glutine, durata della dieta;
- reperti endoscopici: la celiachia di regola si accompagna ad alcuni reperti endoscopici caratteristici, per quanto non specifici.

È da sottolineare che il referto istologico è un dato inoppugnabile qualora associato a clinica e a esami di laboratorio compatibili con diagnosi di MC. A volte la biopsia è necessaria per eliminare un dubbio (esistono infatti soggetti con sierologia dubbia o negativa e clinica positiva), o per rivalutare una diagnosi posta in epoca pre-sierologica. Tuttavia, in alcuni casi è controindicato eseguire il prelievo bioptico e in particolare: in presenza di crisi celiaca importante del bambino (nel qual caso si deve attuare una terapia e dieta immediata), gravidanza, macroglossia, deficit della coagulazione, ipertrofia adenoidea, paziente che rifiuta la biopsia a fronte di clinica e marcatori

sierologici positivi [109]. Inoltre, in alcuni casi non è necessario il prelievo bioptico: le recenti linee guida ESPGHAN [60] contemplano la possibilità, esclusivamente in soggetti in età pediatrica selezionati in base a precisi criteri (presenza di assetto HLA predisponente; sintomi gastrointestinali classici; positività per anti-tTG IgA > 10 volte il *cut-off* confermata con positività per EMA in almeno due prelievi effettuati in momenti diversi; risposta clinica sierologica alla dieta priva di glutine), valutati in un centro di riferimento di comprovata esperienza, di porre diagnosi di MC senza ricorrere alla biopsia duodenale. Quest'ultima potrà comunque essere eseguita in un secondo tempo, in caso di mancata risposta clinica e/o sierologica alla dieta aglutinata.

La mancanza di referto istologico non preclude quindi in assoluto la diagnosi e la certificazione di MC. È infatti importante rilevare che nessuna delle pertinenti leggi dello Stato italiano ha mai preteso che la condizione celiaca fosse accertata attraverso biopsia intestinale; la legge attualmente in vigore (n. 123 del 4 luglio 2005) non indica come arrivare alla diagnosi, ma sottolinea espressamente nell'art. 2 il fatto che *“Per la realizzazione degli interventi di cui al comma 1 (ovvero ai fini della diagnosi precoce e della prevenzione delle complicanze della malattia celiaca) le aziende sanitarie locali si avvalgono di presidi accreditati dalle regioni, con documentata esperienza di attività diagnostica e terapeutica specifica, e di centri regionali e provinciali di riferimento”*. È pertanto di esclusiva responsabilità dello specialista che pone il sospetto clinico confermare o meno la presenza di malattia sulla base di tutti gli elementi anamnestici, clinici, strumentali e sierologici raccolti nella valutazione del paziente; appare quindi ingiustificato condizionare il rilascio dell'esenzione alla disponibilità di un referto bioptico, come talune Aziende sanitarie richiedono.

## **T2** *Prelievo bioptico*

Nei bambini di età inferiore ai 2 anni la biopsia viene eseguita mediante l'impiego della capsula di Crosby-Watson per via perorale o mediante EGDS. Nei bambini di età superiore ai 2 anni la biopsia viene eseguita con esame endoscopico. Questa regola, tuttavia, non è categorica e l'indirizzo attuale è quello di eseguire l'esame endoscopico a qualsiasi età in modo da poter esplorare ulteriori distretti anatomici dell'apparato gastro-enterico. Per la conferma diagnostica di MC vanno effettuati prelievi bioptici multipli: una o due biopsie del bulbo e almeno 4 del duodeno distale. Le biopsie intestinali per la valutazione istologica in caso di sospetta celiachia dovrebbero pervenire conservate in formalina e correttamente orientate su un supporto costituito da filtri di acetato di cellulosa (Fig. 1); il preparato ottimale dovrebbe contenere almeno 3 o 4 unità consecutive di villi e cripte visualizzabili interamente, l'una parallela all'altra. L'orientamento dei prelievi sui filtri da parte dell'endoscopista è fondamentale per una corretta valutazione istologica. Tale orientamento deve far sì che i villi siano rivolti verso l'alto e che la parte relativa alla sottomucosa appoggi sul

supporto. Anche il procedimento di inclusione in paraffina deve essere eseguito in modo da rispettare l'orientamento sopra descritto, vale a dire attraverso una rotazione di 90° del complesso filtri-biopsie. Uno studio multicentrico europeo ha dimostrato come l'11% delle biopsie intestinali non risulti diagnostico a causa del non corretto orientamento dei preparati [110].

Per valutare tutti gli elementi morfologici necessari è sufficiente una colorazione panottica con ematossilina-eosina ed eventualmente una colorazione con acido periodico–reattivo di Schiff (PAS). Inoltre, è utile approntare una sezione non colorata da dedicare alla tipizzazione immunohistochimica.

## **T2** *Esame istologico*

Dal punto di vista della microscopia ottica si considera prima l'aspetto della mucosa intestinale normale, poi i tre quadri istologici con progressiva gradualità di lesioni che possono essere osservati nel corso di MC.

Una mucosa intestinale normale presenta: villi con aspetto digitiforme e rapporto tra l'altezza dei villi stessi e quella delle cripte sempre a favore del villo (3/1 o più); enterociti con altezza normale di 29-34 µm; numero di linfociti intraepiteliali (IEL) inferiore a 25 per 100 cellule epiteliali (si considera patologica una quota di linfociti superiore a 30 per 100 enterociti, mentre un range compreso tra 25 e 30 è da considerare border-line) [111]; numero di mitosi per cripta in genere non superiore a una. La lamina propria presenta normalmente un infiltrato costituito da plasmacellule, eosinofili, istiociti, mastociti e linfociti, con assenza di neutrofili; plasmacellule e linfociti sono le componenti cellulari più rappresentate e talora formano aggregati linfoidi.

La descrizione della mucosa intestinale patologica è basata sulla classificazione secondo Marsh universalmente riconosciuta e validata [14, 112], per la quale è stata proposta, a completamento, una modifica da parte di Oberhuber e coll. [113, 114] che prevede la suddivisione della lesione di tipo 3 di Marsh in tre sottogruppi.

## **T3** *Classificazione di Marsh-Oberhuber*

*Lesione di tipo 1 o infiltrativa:* villi con architettura nei limiti morfologici della norma (normale rapporto villo/cripta 3/1), incremento del numero dei linfociti intraepiteliali (superiore a 25 per 100 cellule epiteliali).

*Lesione di tipo 2 o iperplastica:* villi con architettura nei limiti morfologici della norma, incremento del numero di linfociti intra-epiteliali (superiore a 25 per 100 cellule epiteliali), iperplasia degli elementi delle cripte (aspetto rigenerativo evidenziato da allungamento delle cripte, riduzione dell'attività mucipara e aumento del numero delle mitosi).

*Lesione di tipo 3 o distruttiva o atrofica*: atrofia dei villi di grado variabile associata a iperplasia delle cripte ghiandolari (rapporto villo/cripta alterato), enterociti di superficie di altezza ridotta, con *brush-border* irregolare e vacuoli citoplasmatici, incremento del numero di linfociti intraepiteliali (superiore a 25 per 100 cellule epiteliali). La lesione di tipo 3 viene suddivisa in:

- 3a- villi con lieve atrofia e incremento patologico dei linfociti intraepiteliali;
- 3b- atrofia dei villi di grado moderato e incremento patologico dei linfociti intraepiteliali;
- 3c- atrofia totale dei villi e incremento patologico dei linfociti intraepiteliali.

Sebbene utilizzata in tutto il mondo, alcuni studi hanno mostrato come la classificazione di Marsh-Oberhuber mostri una variabilità intraosservatore molto elevata, soprattutto per i primi stadi lesionali (Marsh 1 e 2) [115].

Nel 2005 due autori italiani – Corazza e Villanacci – hanno proposto una classificazione alternativa, in cui lo schema classificativo viene semplificato riducendolo a due soli livelli lesionali: non atrofico (livello A) e atrofico (livello B), quest'ultimo diviso a sua volta in due sottolivelli B1 e B2 (Fig. 2). Tale classificazione ha mostrato una migliore concordanza tra patologi rispetto alla classificazione di Marsh-Oberhuber [116].

### T3 *Classificazione di Corazza-Villanacci*

*Grado A*. Lesioni non atrofiche (ex tipo 1 e 2 sec. Marsh) con normale architettura dei villi e più di 25 IEL per 100 enterociti.

*Grado B*. Lesioni atrofiche (ex tipo 3 sec. Marsh):

- grado B1 (ex tipo 3a e 3b sec. Marsh), con rapporto villo/cripta < 3:1, ma con villi ancora riconoscibili e più di 25 IEL per 100 enterociti;
- grado B2 (ex tipo 3c sec. Marsh) con villi non più riconoscibili e più di 25 IEL per 100 enterociti.

Recentemente è stata proposta un'ulteriore semplificazione allo schema classificativo sopraesposto in cui si considerano unicamente due sole entità patologiche [117]:

- tipo A: villi normali, ma con incremento patologico del numero dei linfociti T intraepiteliali > 25/100 cellule epiteliali;
- tipo B: villi atrofici e con incremento patologico del numero dei linfociti T intraepiteliali > 25/100 cellule epiteliali.

Il concetto ispiratore di quest'ultima proposta classificativa è stato ridurre il gap *inter-observer* tra patologi e soprattutto migliorare il rapporto di collaborazione con il gastroenterologo pediatra o dell'adulto, in quanto per il clinico è importante avere una fotografia precisa della situazione della

mucosa duodenale e a tal fine è importante sapere se i villi sono normali o atrofici (il grado di atrofia non è importante ai fini terapeutici) e se vi è un incremento patologico del numero dei linfociti T intraepiteliali (Fig. 3).

Nella valutazione di un referto istologico è importante ricordare che i quadri istologici principali, per quanto schematici, rappresentano le lesioni istologiche visibili in corso di celiachia, ma vanno considerati come fenomeni dinamici e progressivi (sia in un senso sia nell'altro), in quanto funzione dell'esposizione quantitativa e temporale al glutine.

Inoltre, i campioni prelevati in una singola indagine biptica possono presentare lesioni di diversa gravità; in tale evenienza è opportuno che il referto segnali la disomogeneità dei reperti e che venga segnalata la lesione in riferimento al reperto di maggiore gravità.

Nella descrizione del quadro morfologico è importante che siano elencati tutti gli elementi sopra riportati con una descrizione precisa delle alterazioni riscontrate. In particolare:

- informazioni clinico-anamnestiche e sospetto diagnostico (se forniti);
- numero e sede delle biopsie pervenute;
- giudizio di idoneità in merito a quantità di materiale, conservazione, orientamento della biopsia;
- rapporto villo/cripta;
- presenza e grado dell'atrofia dei villi;
- presenza e numero dei linfociti intraepiteliali in rapporto al numero di enterociti;
- presenza/assenza di danno dell'epitelio di superficie;
- tipo ed entità dell'infiltrato infiammatorio nella lamina propria;
- classificazione delle lesioni secondo Marsh Oberhuber o Corazza-Villanacci;
- un giudizio di compatibilità o meno con la diagnosi di celiachia a fronte di dati clinici e di laboratorio completi.

## **T2** *Tipizzazione immunoistochimica*

Da quanto sopra esposto, uno dei punti fondamentali nella diagnosi di celiachia risulta la conta dei linfociti T intraepiteliali che, in condizioni patologiche, deve essere superiore a 25 linfociti per 100 cellule epiteliali. Il dato è particolarmente importante per il fatto che oggi si osserva un elevato numero di lesioni non atrofiche (tipo 1 e 2 secondo Marsh, grado A secondo Corazza-Villanacci o tipo A secondo la nuova proposta di classificazione semplificata) clinicamente e sierologicamente compatibili con intolleranza al glutine.

La conta linfocitaria può essere effettuata anche su un preparato colorato con ematossilina-eosina, ma si consiglia, soprattutto nelle forme non atrofiche, di associare l'indagine immunoistochimica con anticorpi monoclonali anti-CD3 che consentono di visualizzare meglio i linfociti T. Un ulteriore

elemento può essere la valutazione dei linfociti mediante anticorpi monoclonali anti-CD8; ciò è particolarmente utile nelle forme refrattarie di MC non rispondenti alla dieta (in particolare dei soggetti anziani), da molti considerate manifestazioni pre-linfomatose nelle quali i linfociti T non esprimono il CD8 [118].

Avendo a disposizione materiale congelato può essere effettuata una tipizzazione immunoistochimica per il recettore  $\gamma/\delta$  dei linfociti T, che in condizioni normali non viene espresso da più del 2-3% dei linfociti, mentre in corso di MC può raggiungere il 20-30% del totale. Questa indagine, potenzialmente utile nelle lesioni non atrofiche (tipo 1 e 2 di Marsh, grado A di Corazza-Villanacci o tipo A secondo la nuova proposta di classificazione semplificata), non rientra tra le metodiche diagnostiche routinarie, ma è impiegata nell'attività di ricerca e, ove disponibile, in casi di difficile classificazione, sebbene recentemente sia stata pubblicata un'esperienza che prevede l'impiego di un anticorpo anti-recettore gamma/delta su materiale fissato in formalina [119].

### **T3 Ricerca dei depositi intraepiteliali di IgA**

Mediante tecniche di immunoistochimica è possibile evidenziare la presenza di depositi di IgA dirette contro la transglutaminasi 2; tali depositi sono stati ritrovati esclusivamente in pazienti affetti da malattia celiaca e sono evidenziabili in tutti i soggetti con celiachia latente e morfologia intestinale normale; l'intensità dei depositi aumenta con l'aumentare delle alterazioni morfologiche intestinali. Il riscontro di depositi di IgA anti-tTG2 in soggetti con assenza di atrofia dei villi e sierologia negativa, che hanno poi sviluppato una celiachia franca, li identifica come marker in grado di predire la comparsa di successiva atrofia dei villi [120-122].

Come per la ricerca dei recettori  $\gamma/\delta$ , la ricerca dei depositi intestinali di IgA anti-tTG2 non è una tecnica routinaria, ma riservata ai centri di riferimento. È raccomandata in casi con elevato sospetto clinico o in presenza di fattori di rischio, in soggetti HLA predisposti, con sierologia positiva/dubbia/negativa e istologia negativa o scarsamente significativa (Marsh 1 - grado A di Corazza-Villanacci o tipo A secondo la nuova proposta di classificazione semplificata), per identificare un'intolleranza al glutine geneticamente determinata in fase precoce, in grado di rispondere alla dieta aglutinata.

### **T2 Complicanze della MC obiettivamente istologicamente**

Esistono numerose evidenze che la MC dell'adulto, a differenza di quanto avviene nel bambino, sia aggravata da una mortalità superiore a quella della popolazione generale soprattutto se diagnosticata tardi e ancora di più se non trattata da una tempestiva e rigorosa dieta aglutinata. La dieta priva di glutine determina non solo un miglioramento del quadro clinico e bioptico, ma previene anche

quelle complicanze che devono essere sempre sospettate se il paziente adulto continua a stare male nonostante la dieta [123] e che sono:

- la sprue collagenosica, caratterizzata istologicamente da fibrosi della tonaca propria a livello dello strato sottoepiteliale superficiale;
- la digiunoileite ulcerativa che si presenta con estese ulcerazioni della mucosa intestinale;
- linfoma a cellule T, che è la complicanza più grave e istologicamente va sempre sospettato di fronte a una prevalenza di elementi linfoidi monomorfi atipici. In questi casi è necessario eseguire la tipizzazione immunofenotipica della popolazione linfoide e lo studio del riarrangiamento genico del T cell receptor (TCR) per dimostrarne la clonalità. Il linfoma intestinale associato a MC origina da linfociti T ed è caratterizzato dal fenotipo CD3+, CD5-, CD4-, CD8-/+ , CD103+ e riarrangiamento clonale del TCR [124, 125].

## **T2 Diagnosi differenziale**

Quanto esposto rappresenta in sintesi l'insieme delle lesioni morfologiche con cui si può manifestare la MC.

È bene però tenere presente che, se la contemporanea presenza di positività sierologica per anti-tTG e/o EMA e danno istologico di tipo atrofico depongono con elevatissima probabilità per la presenza di MC, cautela deve essere posta ogni qual volta ci si trovi in presenza di condizioni diverse, quali 1) presenza di lesioni non atrofiche con sierologia borderline o contraddittoria; 2) presenza di lesioni atrofiche o non atrofiche in assenza di autoanticorpi rilevabili nel siero [126]. Molte condizioni cliniche possono infatti alterare la mucosa duodenale, con quadri istologici sovrapponibili alle lesioni riscontrate in associazione alla MC (*Tab. 3 e 4*).

Due condizioni, in particolare, meritano particolare menzione:

- l'enteropatia autoimmune riscontrabile in bambini con deficit immunologico (immunodeficienza comune variabile e agammaglobulinemia X-associata), in cui il quadro morfologico della biopsia intestinale può essere totalmente sovrapponibile al quadro della MC [127];
- il danno da farmaci: esistono numerose evidenze in letteratura che l'impiego di farmaci antinfiammatori non steroidei è in grado di provocare alterazioni morfologiche del tutto simili a quelle della MC. Questa evenienza è da tenere presente soprattutto quando si osservano casi di soggetti anziani con negatività dei marcatori sierologici.

## **T1 Sensibilità al glutine non celiaca**

La "sensibilità al glutine non celiaca" (NCGS) è stata originariamente descritta nel 1980 [128], ma solo negli ultimi anni è stata "riscoperta" ed è oggetto di numerosi studi scientifici. Tale entità è

caratterizzata dalla comparsa di sintomi intestinali ed extra-intestinali in seguito all'ingestione di cibi contenenti glutine in soggetti non affetti da celiachia o allergia al grano, come definito nel "1° Expert Meeting on Gluten Sensitivity" tenutosi a Londra nel febbraio 2011 [129].

La reale prevalenza della *non-coeliac gluten sensitivity* (NCGS) nella popolazione generale non è conosciuta e gli studi epidemiologici sono spesso resi difficili dal fatto che molti pazienti all'atto della prima visita hanno iniziato spontaneamente una dieta aglutinata senza passare attraverso consulto medico. La maggior parte degli studiosi, comunque, è concorde nel ritenere che la prevalenza della NCGS sia superiore a quella della celiachia.

Purtroppo la NCGS è sprovvista di uno specifico marcatore diagnostico, anche se in circa il 25-50% dei casi sono presenti AGA di classe IgG e in una percentuale inferiore (6%) AGA di classe IgA [130, 131], che però, come noto, sono aspecifici. Volta e coll. hanno di recente dimostrato che tali anticorpi scompaiono dopo 6 mesi di dieta priva di glutine nel 93,2% dei soggetti con NCGS e quindi possono essere potenzialmente utilizzati per valutare la *compliance* alla dieta nei soggetti che alla diagnosi ne siano risultati positivi [132]. In assenza di un marcatore specifico la diagnosi si basa sull'esclusione della MC, tramite le specifiche indagini sierologiche e biotiche, e dell'allergia, tramite esecuzione di *prick test* e dosaggio delle IgE specifiche per le proteine del grano, nonché test funzionali, ove necessario. Una volta escluse queste due affezioni, la conferma diagnostica di NCGS avviene con la dimostrazione della remissione dei sintomi dopo dieta aglutinata, che deve protrarsi per almeno 3-4 settimane, e la successiva ricomparsa dei sintomi dopo *challenge* con cibi contenenti glutine, preferenzialmente eseguito in doppio cieco con placebo (Fig. 4).

A oggi non è chiaro quale sia il meccanismo patogenetico responsabile della NCGS, anche se viene ipotizzato un ruolo dell'immunità innata [133]. Oltre al glutine, altre molecole potrebbero essere chiamate in causa e tra queste gli inibitori dell'amilasi-tripsina, molecole in grado di interagire con il complesso TLR4-MD2-CD14 e stimolare il rilascio di citochine pro-infiammatorie da parte di cellule monocito-macrofagiche o dendritiche. Non può essere escluso, inoltre, che almeno in una parte dei soggetti che riferiscono sintomi intestinali dopo ingestione di grano il meccanismo patogenetico sia legato ai carboidrati a catena corta non assorbibili e fermentabili (FODMAP) [134]. Dal momento, quindi, che il glutine potrebbe non essere l'unica molecola responsabile della NCGS, alcuni autori hanno proposto che la terminologia più corretta per indicare tale patologia sia "sensibilità al grano non celiaca" (NCWS) [135].

Sul piano clinico la classica presentazione della NCGS è la combinazione di sintomi intestinali simili a quelli della sindrome del colon irritabile, comprendenti dolore e gonfiore addominale, diarrea e a volte stipsi, associati spesso a sintomi extra-intestinali, quali cefalea, astenia marcata, mente annebbiata, affaticamento, dolori muscolari o articolari, dermatite o rash cutanei,

depressione, anemia [130, 136]. In molti casi il paziente stesso attribuisce i sintomi all'ingestione di cibi contenenti grano e riferisce che essi in genere compaiono da 30 minuti ad alcune ore dopo l'ingestione di tale alimento. Molto dibattuto è il legame tra glutine e disturbi del comportamento come l'autismo [137] e la schizofrenia [138] e, al momento, non sembrano esserci evidenze certe di tale correlazione.

Istologicamente la mucosa viene ritenuta del tutto normale, ma recentemente è stato osservato che in soggetti portatori di NGCS, pur in presenza di villi normali e di linfociti T in numero non superiore a 25/100 cellule epiteliali, vi è una peculiare distribuzione del linfociti T sotto forma di piccoli *clusters* nell'epitelio di rivestimento superficiale e in modo lineare alla base della mucosa al di sopra della *muscularis mucosae*; a tale elemento va aggiunto un incremento del numero dei granulociti eosinofili (2/3 per campo di visione a 40x) nella lamina propria [139] (Fig. 5).

La terapia si avvale della dieta priva di glutine (grano), ma ancora non ci sono evidenze relative alla dose minima tollerata, alle eventuali conseguenze delle trasgressioni alimentari e a una possibile reversibilità della patologia dopo un più o meno prolungato periodo di dieta. Le risposte a questi quesiti dovrebbero arrivare da studi clinici policentrici su ampia casistica, alcuni dei quali sono attualmente in corso.

### **T1 Linee guida per la diagnosi di celiachia: sierologia e istologia**

Queste linee guida vogliono offrire una base pratica per l'inquadramento diagnostico e il monitoraggio del paziente celiaco, tenendo presente l'ampia offerta di marcatori diagnostici e metodologie analitiche attualmente disponibili. Il contributo del Laboratorio alla diagnosi e al monitoraggio della MC è costituito da indagini siero-immunologiche, genetiche, istologiche e immunoistochimiche sulla base di un'appropriata selezione clinica dei pazienti. L'efficacia degli interventi diagnostici e terapeutici dipende dalla stretta collaborazione tra medico di famiglia, patologo clinico, gastroenterologo, pediatra e anatomo-patologo, che devono necessariamente operare in modo integrato.

È essenziale che, al di fuori di studi epidemiologici e di programmi di screening, che si pongono obiettivi diversi, gli esami di laboratorio siano richiesti solo in soggetti sintomatici o che presentino fattori di rischio [140].

I modelli diagnostici di seguito riportati si basano sulle linee guida internazionali più autorevoli di recente pubblicazione, ma vengono proposti tenendo conto della realtà dei Laboratori clinico-diagnostici italiani [60, 107, 141].

In relazione alla migliore scelta dei marcatori, è utile che al Laboratorio sia proposto un quesito diagnostico più che un elenco d'esami spesso inutili, obsoleti o poco appropriati; la condivisione di questi aspetti con il clinico è fondamentale per offrire una corretta griglia di esami in rapporto alle

diverse situazioni cliniche. Il percorso è affrontato, infatti, in modo diverso a seconda che gli esami vengano richiesti: 1) a scopo diagnostico in pazienti sintomatici di età superiore ai 2 anni; 2) a scopo diagnostico in bambini di età inferiore ai 2 anni; 3) per la diagnosi in soggetti appartenenti a gruppi a rischio; 4) per il monitoraggio del paziente che segue una dieta priva di glutine; 5) per la revisione della diagnosi di MC nei casi dubbi.

La richiesta dovrebbe pertanto essere sempre accompagnata dalla descrizione dei segni e/o sintomi e dall'indicazione di eventuale appartenenza a gruppi a rischio; sarebbe inoltre opportuno indicare se l'indagine è prescritta con finalità diagnostica o per il monitoraggio della dieta priva di glutine.

### 1 - Procedura diagnostica in soggetti con manifestazioni cliniche ed età > 2 anni

La determinazione quantitativa degli anticorpi anti-tTG IgA è il test di primo livello in soggetti sintomatici in quanto risulta essere sensibile, specifico e automatizzabile, anche se al momento privo di standard internazionali. È necessario inoltre dosare le IgA totali nel siero (con metodo nefelometrico o turbidimetrico), in modo da identificare i soggetti con deficit assoluto o con concentrazioni molto basse (< 20 mg/dl) di IgA. La determinazione degli anti-tTG di classe IgG è riservata ai casi di deficit di IgA [142]. Pertanto:

a) La ricerca con metodi immunometrici degli anticorpi anti-tTG di classe IgA e il dosaggio delle IgA totali sieriche rappresentano la prima indagine per la diagnosi di malattia celiaca. Il risultato della determinazione degli anticorpi anti-tTG deve essere riportato in termini quantitativi secondo il metodo in uso. Nel referto deve essere indicato il metodo di dosaggio (ELISA, chemiluminescenza ecc.) e il valore di *cut-off*

a1) In caso di negatività per anticorpi anti-tTG IgA e normali IgA sieriche vi è un'elevata probabilità che il paziente non sia affetto da MC

a2) Nel caso in cui il titolo degli anticorpi anti-tTG IgA, pur negativo, sia non lontano dal livello decisionale, è suggerito, in particolare nei soggetti in età pediatrica, che il referto di laboratorio sia accompagnato da un commento in cui si consiglia il monitoraggio clinico e sierologico del paziente

b) In caso di positività per anticorpi anti-tTG IgA si consiglia la ricerca degli EMA IgA

b1) Qualora gli EMA risultino positivi il quadro sierologico sia altamente suggestivo per celiachia. Secondo i criteri ESPGHAN [60] in soggetti pediatrici sintomatici con un titolo di anti-tTG IgA > 10 volte il *cut-off* confermato dalla positività agli EMA (preferenzialmente eseguita su un secondo campione di siero) e dalla positività per gli aplotipi HLA DQ2/DQ8, si può fare diagnosi di malattia celiaca senza l'esecuzione della biopsia duodenale. Tale procedura è consigliata (in alternativa alla biopsia) anche dalle linee guida della Società

Britannica di Gastroenterologia Pediatrica, mentre le linee guida americane non prevedono la diagnosi senza la valutazione istologica.

b2) In tutti i casi, invece, in cui gli EMA risultino negativi, trattandosi di soggetti sintomatici si consiglia di procedere con l'indagine dell'aplotipo HLA per l'identificazione degli alleli DQ2 e DQ8. Nei soggetti che risultano DQ2 e/o DQ8 positivi è consigliata l'esecuzione della biopsia duodenale. È sconsigliata invece l'esecuzione della biopsia duodenale nei soggetti con anticorpi anti-tTG IgA positivi, ma che siano risultati EMA IgA e HLA DQ2 e DQ8 negativi.

La negatività per EMA IgA di un siero risultato anti-tTG IgA positivo è un evento non raro, in particolare nelle positività a basso titolo [74]. In alcuni casi si tratta di una falsa positività degli anti-tTG che potrebbe essere transitoria [143-145]. Più frequentemente si tratta di sieri di pazienti celiaci in cui la reattività anticorpale sul substrato di esofago di scimmia risulta non evidente o si manifesta con pattern atipico tale da non essere identificato dall'operatore. Sieri positivi per anticorpi anti-TG IgA che presentano un EMA IgA con pattern actina-like dovrebbero ripetere il test EMA a diluizioni progressive; tale procedura può portare alla scomparsa della fluorescenza aspecifica e al manifestarsi del pattern tipico "a nido d'ape".

La scomparsa di anticorpi anti-tTG IgA e/o EMA IgA [146] è un evento non raro che si manifesta generalmente in soggetti asintomatici HLA DQ2/DQ8 positivi. In genere, il titolo degli anticorpi anti-tTG IgA transitori non è elevato e questi pazienti hanno una mucosa duodenale normale. Pertanto, in presenza di positività a titolo non elevato di anti-tTG/EMA è consigliabile un atteggiamento "attendista", ma questi pazienti vanno comunque monitorati nel tempo in quanto potrebbero manifestare successivamente un quadro di celiachia conclamata [146].

Nel caso in cui il quadro sintomatologico risulti fortemente suggestivo di MC pur in assenza di marcatori sierologici ma con positività per l'aplotipo HLA DQ2 o DQ8, è consigliata l'esecuzione della biopsia duodenale. In questi soggetti dovrebbe essere eseguita la ricerca dei depositi mucosali di anti-tTG IgA in quanto è stata dimostrata la presenza dei marcatori autoanticorpali in duodeno ma la negatività degli stessi in circolo [121].

c) Deficit di IgA. Si consiglia la determinazione di anticorpi anti-tTG IgG e anti-DGP IgG non solo nei casi di deficit assoluto di IgA (IgA sieriche <5 mg/dl), ma anche nei casi con valori molto bassi di IgA (<20 mg/dl).

In presenza di deficit di IgA e positività per anticorpi anti-tTG IgG e/o anti-DGP IgG è consigliata l'esecuzione della biopsia intestinale.

In presenza di deficit di IgA e negatività per anticorpi anti-tTG IgG e/o anti-DGP IgG si consiglia di segnalare nel referto il deficit in quanto questi pazienti possono avere un rischio più elevato di sviluppare altre condizioni patologiche (allergie e infezioni ricorrenti). Anche i deficit transitori di IgA nei bambini possono creare problemi nella determinazione di anticorpi o autoanticorpi di classe

IgA. Nei soggetti con deficit di IgA, e in presenza di sintomi estremamente suggestivi di MC è consigliata comunque l'esecuzione della biopsia indipendentemente dai marcatori sierologici. Si deve inoltre tenere presente che nei soggetti con deficit di IgA è più elevata la prevalenza di forme di celiachia silente alla diagnosi [24].

È stato evidenziato che l'assenza di un commento ai risultati degli esami anticorpali o la sola indicazione che il risultato è coerente con la diagnosi di MC non garantisce la corretta prosecuzione dell'iter diagnostico [147]. L'efficacia del follow-up diagnostico è invece nettamente aumentata quando i dati di laboratorio sono corredati da una chiara indicazione di quali ulteriori esami, compresa quelli biotici, dovessero essere effettuati a conferma e completamento di quelli di laboratorio.

È suggerito, quindi, che il referto di laboratorio includa, nei casi appropriati, un commento esplicativo con l'indicazione ed eventualmente la prescrizione degli esami necessari per il completamento dell'iter diagnostico (altre indagini sierologiche, indagini genetiche, la ripetizione degli esami stessi e la biopsia intestinale) [148].

In tutti i casi in cui viene eseguita la biopsia duodenale sulla base di positività dei marcatori sierologici, è utile ricordare che qualora la biopsia presenti un quadro emblematico cioè una lesione di tipo 3 di Marsh (3a, 3b o 3c), la diagnosi di celiachia è certa.

Qualora la biopsia presenti lesioni di tipo 1 e 2 di Marsh, è consigliato lo studio dell'aplotipo HLA II. Nel caso ci sia riscontro positivo degli alleli HLA DQ2 e/o DQ8, la diagnosi di celiachia è certa. In caso di negatività invece è consigliata la ripetizione della sierologia.

Lo studio dell'aplotipo HLA II è consigliato anche quando si osserva una positività anticorpale anti-tTG e EMA in presenza di una mucosa apparentemente normale [149, 150]. Qualora ci sia riscontro positivo degli alleli HLA DQ2 e/o DQ8 è probabile che si tratti di "celiachia latente", nel qual caso è possibile che la lesione intestinale compaia in un'epoca successiva.

Se sia opportuno consigliare una dieta priva di glutine in assenza di lesioni anche minime nella biopsia duodenale è tutt'oggi dibattuto. Il paziente deve essere monitorato clinicamente e sierologicamente per evidenziare la comparsa di quadri sintomatologici *ex novo* e in questo caso sarà utile l'esecuzione di una successiva biopsia duodenale.

## 2 - Procedura diagnostica in soggetti con manifestazioni cliniche ed età < 2 anni

è noto che nei bambini il sistema immunitario è in fase di maturazione per cui può essere utile, allo stato attuale delle conoscenze, prevedere un iter diagnostico differenziato nei soggetti con età inferiore ai 2 anni; inoltre, qualora gli esami di laboratorio siano negativi e persistano i sintomi (arresto della curva di crescita, anemizzazione, sintomi enterici importanti ecc.), ne è consigliata la ripetizione a distanza di alcuni mesi, anche più di una volta.

Nei soggetti di età inferiore ai 2 anni sono consigliate la ricerca degli anticorpi anti-tTG di classe IgA e, nello stesso tempo, la determinazione delle IgA totali sieriche e degli anticorpi anti-DGP IgG.

In caso di positività per anti-tTG IgA si adotterà la medesima strategia proposta per i soggetti con età superiore ai 2 anni, così come in presenza di deficit di IgA.

In caso di positività isolata di anti-DGP IgG si consiglia la ricerca dell'aplotipo HLA DQ2 e DQ8. In presenza di positività per l'aplotipo è indicata l'esecuzione della biopsia duodenale.

In caso di negatività degli esami di laboratorio e qualora persistano o compaiano successivamente quadri clinici associati a celiachia, è consigliata la ripetizione dei marcatori sierologici.

### 3 - Procedura diagnostica in soggetti appartenenti a gruppi a rischio asintomatici

Non è chiaro quando la MC possa insorgere nei soggetti geneticamente predisposti; questo aspetto risulta importante in quanto l'esito negativo dei marcatori siero-immunologici non esclude che in futuro il paziente possa comunque sviluppare la patologia. Ciò è ancora più rilevante nei soggetti appartenenti a gruppi a rischio dove la presenza di una condizione predisponente aumenta in maniera significativa il rischio di MC. Nei soggetti appartenenti a gruppi a rischio asintomatici (familiari di primo grado di celiaci, diabetici tipo 1, Down ecc.) è consigliata l'esecuzione dell'aplotipo HLA DQ2/DQ8 e, in seconda battuta, degli anti-tTG di classe IgA e il dosaggio delle IgA totali. Nei soggetti con familiarità, l'esecuzione dell'aplotipo HLA DQ2/DQ8 dovrebbe essere eseguita alla nascita in modo da poter suggerire un allungamento dei tempi nella introduzione del glutine [146] e un successivo, più stretto monitoraggio sierologico, indipendentemente dal quadro clinico. La negatività per DQ2/DQ8 esclude infatti la possibilità di sviluppare celiachia. Questa indicazione risulta molto utile in quanto evita che in futuro il soggetto debba eseguire i test sierologici specifici.

In caso di positività per DQ2/DQ8 e negatività per anticorpi anti-tTG IgA (con normali livelli di IgA totali) si esclude la celiachia; il soggetto deve essere informato di avere un rischio genetico per malattia celiaca e dovrà eseguire periodicamente i test sierologici specifici.

In caso di positività per DQ2/DQ8 e per anticorpi anti-tTG IgA si procede come già descritto per i soggetti con manifestazioni cliniche.

In caso di positività per DQ2/DQ8 e deficit di IgA si procede come già descritto per i soggetti con manifestazioni cliniche.

### 4 - Monitoraggio dei soggetti celiaci in dieta priva di glutine

Nel monitoraggio dei soggetti celiaci in dieta priva di glutine è consigliata la sola determinazione degli anticorpi anti-tTG di classe IgA, in quei casi che alla diagnosi avevano una positività per questa classe autoanticorpale, e della sola classe IgG nei casi con deficit di IgA.

La ricerca di anticorpi anti-tTG può essere effettuata a 6 mesi e a 1 anno dall'introduzione della dieta. Nel monitoraggio dei soggetti celiaci in dieta, si deve ricordare che la negativizzazione degli anticorpi anti-tTG IgG (per esempio, in un soggetto con deficit di IgA) può avvenire in tempi più lunghi (fino a 2 anni) rispetto a quella degli anticorpi anti-tTG IgA, anche se i pazienti seguono una dieta assolutamente priva di glutine.

La negatività di marcatori sierologici in un paziente in dieta non è indicativa di un'assoluta aderenza alla dieta stessa e non correla con la perfetta ricomposizione del quadro istologico [151]. Il riscontro di una persistente positività dei marcatori sierologico-immunologici può avere due significati importanti: a) una consapevole o meno non aderenza alla dieta da parte del paziente, che quindi necessita di una rivisitazione del regime dietetico; b) il sospetto diagnostico di sprue refrattaria associata a celiachia. Questa è una manifestazione di impatto clinico rilevante in quanto è una condizione linfomatosa o pre-linfomatosa.

In un soggetto in dieta che presenti negativizzazione degli anticorpi anti-tTG e persistenza di sintomi gastroenterici deve essere sospettata una patologia concomitante come insufficienza pancreatica, colon irritabile, infezione batterica, intolleranza alimentare diversa da MC o neoplasia [123].

##### 5) Pazienti che necessitano di revisione diagnostica

In alcuni pazienti che seguono dieta priva di glutine può essere presa in considerazione la necessità di una revisione della diagnosi. Può essere il caso di soggetti che presentavano sierologia dubbia o in cui la diagnosi era stata formulata in base a positività di marcatori di non elevata specificità (come AGA IgG), o nei quali la valutazione istologica era non definitiva o comunque non conforme ai criteri necessari. In questi casi può essere proposta una riesposizione al glutine e consigliata la ricerca dell'aplotipo HLA DQ2 e DQ8.

Il dosaggio degli anticorpi anti-tTG deve essere eseguito dopo 3 mesi dall'inizio del challenge dietetico (2-3 grammi/die per 2 settimane. Questo dosaggio è ben tollerato dai pazienti e produce una sieroconversione e/o modifica della sierologia nel 90% dei casi). La scelta di eseguire la biopsia intestinale va valutata caso per caso, in base alla risposta clinica e sierologica alla reintroduzione del glutine nella dieta.

**Conflitti di interesse** Nessuno

## **Bibliografia**

1. Burger JP, Roovers EA, Drenth JP et al (2014) Rising incidence of celiac disease in the Netherlands; an analysis of temporal trends from 1995 to 2010. *Scand J Gastroenterol* 49:933-941
2. Catassi C, Gatti S, Fasano A (2014) The new epidemiology of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 59(Suppl 1):S7-S9
3. Hill I, Fasano A, Schwartz R et al (2000) The prevalence of celiac disease in at-risk groups of children in the United States. *J Pediatr* 136:86-90
4. Catassi C, Ratsch IM, Gandolfi L et al (1999) Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet* 354:647-648
5. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB et al (2011) Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annu Rev Immunol* 29:493-525
6. Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L et al (2001) Immunologic evidence of no harmful effect of oats in celiac disease. *Am J Clin Nutr* 74:137-140
7. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S (1993) Clinical and pathological spectrum of celiac disease. *Gut* 34:150-151
8. Mäki M, Collin P (1997) Coeliac disease. *Lancet* 349:1755-1759
9. Swinson CM, Levi AJ (1980) Is celiac disease underdiagnosed? *Br Med J* 281:1258-1260
10. Nenna R, Tiberti C, Petrarca L et al (2013) The celiac iceberg: characterization of the disease in primary schoolchildren. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 56:416-421
11. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M et al (1997) Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 3:797-801
12. van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P et al (1998) Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. *J Immunol* 161:1585-1588
13. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ et al (2000) In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nat Med* 6:337-342
14. Marsh MN (1992) Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 102:330-354
15. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE et al (1998) Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 115:551-563
16. Godkin A, Jewell D (1998) The pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 115:206-210

17. Greco L, Romino R, Coto I et al (2002) The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 50:624-628
18. Sollid LM, Thorsby E (1993) HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 105:910-922
19. Sollid LM (2000) Molecular basis of celiac disease. *Ann Rev Immunol* 18:53-81
20. Vidales MC, Zubillaga P, Zubillaga I et al (2004) Allele and haplotype frequencies for HLA class II (DQA1 and DQB1) loci in patients with celiac disease from Spain. *Hum Immunol* 65:352-358
21. Kasarda DD, Okita TW, Bernardin JE (1984) Nucleic acid (cDNA) and amino acid sequences of alpha-type gliadins from wheat (*Triticum aestivum*). *Proc Natl Acad Sci USA* 1981:4712-4716
22. Troncone R, Greco L, Auricchio S (1996) Gluten sensitive enteropathy. *Pediatr Clin North Am* 43:355-373
23. Page SR, Lloyd CA, Hill PG et al (1994) The prevalence of celiac disease in adult diabetes mellitus. *Q J Med* 87:631-637
24. Cataldo F, Marino V, Ventura A et al, and the Italian Society of Pediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP), and "Club del Tenue" Working groups on Coeliac disease (1998) Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. *Gut* 42:362-365
25. Collin P, Reunala T, Pukkala E et al (1994) Celiac disease: associated disorders and survival. *Gut* 35:1215-1218
26. Collin P, Salmi J, Haallstrom O et al (1994) Autoimmune thyroid disorders and coeliac disease. *Eur J Endocrinol* 130:137-140
27. Hakanen M, Luotola K, Salmi J et al (2001) Clinical and subclinical autoimmune thyroid disease in adult celiac disease. *Dig Dis Sci* 46:2631-2635
28. Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E et al (2003) IgA and IgG transglutaminase antibody prevalence and clinical significance in connective tissue diseases, inflammatory bowel disease, and primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci* 48:2360-2365
29. O'Leary C, Walsh CH, Wieneke P et al (2002) Coeliac disease and autoimmune Addison's disease: a clinical pitfall. *Q J Med* 95:79-82
30. Villalta D, Girolami D, Bidoli E et al (2005) High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis detected by anti-tissue transglutaminase autoantibodies. *J Clin Lab Anal* 19:6-10
31. Ventura A, Magazzù G, Greco L, for the SIGEP study group for autoimmune disorders in celiac disease (1999) Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 117:297-303

32. Ventura A, Neri E, Ughi C et al (2000) Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J Pediatr* 137:263-265
33. Holmes GKT (1997) Celiac disease and malignancy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 24:20-24
34. Holmes GKT (1996) Non malignant complications of celiac disease. *Acta Pediatr* 412:68-75
35. Holmes GKT (1997) Neurological and psychiatric complications in celiac disease. In: Gobbi G, Andermann F, Naccarato S, Banchini G (Eds). *Epilepsy and other neurological disorders in celiac disease*. London: John Libbey, pp. 251-264
36. Sigurgeirsson B, Agnarsson BA, Lindelof B (1994) Risk of lymphoma in patients with dermatitis herpetiformis. *Br Med J* 308:13-15
37. Sher KS, Mayberry JF (1994) Female infertility, obstetric and gynecological history in celiac disease. A case control study. *Digestion* 55:243-246
38. Clarindo MV, Possebon AT, Soligo EM et al (2014) Dermatitis herpetiformis: pathophysiology, clinical presentation, diagnosis and treatment. *An Bras Dermatol* 89:865-877
39. National Institute of Health consensus development conference statement on celiac disease. *NIHC Consensus State Sci Statements* 2004;21:1-23
40. Marietta EV, Camilleri MJ, Castro LA et al (2008) Transglutaminase autoantibodies in dermatitis herpetiformis and celiac sprue. *J Invest Dermatol* 128:332-335
41. Sárdy M, Kárpáti S, Merkl B et al (2002) Epidermal transglutaminase (TGase 3) is the autoantigen of dermatitis herpetiformis. *J Exp Med* 195:747-757
42. Hull CM, Liddle M, Hansen N et al (2008) Elevation of IgA anti-epidermal transglutaminase antibodies in dermatitis herpetiformis. *Clin Lab Invest* 159: 120-124
43. Jaskowski TD, Hamblin T, Wilson AR et al (2009) IgA anti- epidermal transglutaminase antibodies in dermatitis herpetiformis and pediatric celiac disease. *J Invest Dermatol* 129:2728-2730
44. Lewis HM, Reunala TL, Garioch JJ et al (1996) Protective effect of gluten-free diet against development of lymphoma in dermatitis herpetiformis. *Br J Dermatol* 135:363-367
45. Hadjivassiliou M, Aeschlimann P, Strigun A et al (2008) Autoantibodies in Gluten Ataxia recognize a novel neuronal transglutaminase. *Ann Neurol* 64:332-343
46. Hadjivassiliou M, Sanders DS, Grünewald RA et al (2010) Gluten sensitivity: from gut to brain. *Lancet Neurol* 9:318-330
47. Hadjivassiliou M, Kandler RH, Chattopadhyay AK et al (2006) Dietary treatment of gluten neuropathy. *Muscle Nerve* 34:762-766
48. Molberg O, McAdam S, Korner R et al (1998) Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut derived T cells in celiac disease. *Nat Med* 4:713-717

49. Price HE (2006) Evaluation of the INOVA diagnostic enzyme-linked immunosorbent assay kit for measuring serum immunoglobulin G (IgG) and IgA to deaminated gliadin peptides. *Clin Vaccine Immunol* 13:150-151
50. Sugai E, Vazquez H, Nachman F et al (2006) Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin-peptides in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4:1112-1117
51. Volta U, Granito A, Fiorni E et al (2008) Usefulness of antibodies to deaminated gliadin peptides in celiac disease diagnosis and follow up. *Dig Dis Sci* 53:1582-1588
52. Liu E, Li M, Emery L et al (2007) Natural history of antibodies to deaminated gliadin peptides and transglutaminase in early childhood celiac disease. *J Ped Gastroenterol Nutr* 45:293-300
53. Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D et al (2010) Cutting-edge issues in celiac disease and in gluten intolerance. *Clin Rev Allergy Immunol* 42:279-287
54. Brusca I, Carroccio A, Tonutti E et al (2011) The old and new tests for celiac disease: which is the best test combination to diagnose celiac disease in pediatric patients? *Clin Chem Lab Med* 50:111-117
55. Villalta D, Alessio MG, Tampoia M et al (2007) Testing for IgG class antibodies in celiac disease patients with selective IgA deficiency. A comparison of the diagnostic accuracy of 9 IgG anti-tissue transglutaminase, 1 IgG anti-gliadin and 1 IgG anti-deaminated gliadin peptide antibody assays. *Clin Chim Acta* 382:95-99
56. Basso D, Guariso G, Fogar P et al (2009) Antibodies against synthetic deaminated gliadin peptides for celiac disease diagnosis and follow up in children. *Clin Chem* 55:150-157
57. Villalta D, Tonutti E, Prause C et al (2010) IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. *Clin Chem* 56:464-468
58. Sugai E, Smecuol E, Niveloni S et al (2006) Celiac disease serology in dermatitis herpetiformis. Which is the best option for detecting gluten sensitivity? *Acta Gastroenterol Latinoam* 36:197-201
59. Kaukinen K, Collin P, Laurila K et al (2007) Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. *Scand J Gastroenterol* 42:1428-1433
60. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR et al (2012) European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 54:136-160
61. Volta U, Molinaro M, de Franceschi L et al (1995) IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening. Save both money and monkeys. *Dig Dis Sci* 40:1902-1905

62. Cataldo F, Lio D, Marino V et al (2000) IgG (1) antiendomysium and IgG anti-tissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. Working Groups on Celiac Disease of SIGEP and Club del Tenue. *Gut* 47:366-369
63. Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N et al, for the French-Italian Laboratory Study Group on Coeliac Disease (2003) The role of anti-tissue transglutaminase assay for the diagnosis and monitoring of coeliac disease: A French-Italian multicentre study. *J Clin Pathol* 56:389-393
64. Sblattero D, Florian F, Azzoni E et al (2002) The analysis of the fine specificity of coeliac disease antibodies using tissue transglutaminase fragments. *Eur J Biochem* 269:5175-5181
65. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K et al (1998) Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting coeliac disease. *Gastroenterology* 115:1322-1328
66. Lock RJ, Pitcher MCL, Unsworth DJ (1999) IgA anti-tissue transglutaminase as a diagnostic marker of gluten sensitive enteropathy. *J Clin Pathol* 52:274-277
67. Collin P (1999) New diagnostic findings in coeliac disease. *Ann Med* 31:399-405
68. Greenberg CS, Birckbichler PJ, Rice RH (1991) Transglutaminase. Multifunctional cross-linking enzymes that stabilize tissue. *FASEB J* 5:3071-3077
69. Melino G, Piacentini M (1998) "Tissue" transglutaminase in cell death: a downstream or a multifunctional upstream effector? *Febs Lett* 430:59-63
70. Aeschlimann D, Thomazy V (2000) Protein crosslinking in assembly and remodelling of extracellular matrices: the role of transglutaminases. *Connect Tissue Res* 41:1-27
71. Bonamico M, Tiberti C, Picarelli A et al (2001) Radioimmunoassay to detect anti-transglutaminase autoantibodies is the most sensitive and specific screening method for coeliac disease. *Am J Gastroenterol* 96:1536-1540
72. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C et al (2000) Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for coeliac disease. *Am J Gastroenterol* 95:1253-1257
73. Salmaso C, Ocmant A, Pesce G et al (2001) Comparison of ELISA for tissue transglutaminase autoantibodies with antiendomysium antibodies in pediatric and adult patients with coeliac disease. *Allergy* 56:544-547
74. Van Meensel B, Hiele M, Hoffman I et al (2004) Diagnostic accuracy of ten second-generation (human) tissue transglutaminase antibody assays in coeliac disease. *Clin Chem* 50:2125-2135
75. Aita A, Rossi E, Basso D et al (2013) Chemiluminescence and ELISA-based serum assays for diagnosing and monitoring coeliac disease in children: a comparative study. *Clin Chim Acta* 421:202-207
76. Trevisiol C, Ventura A, Baldas V et al (2002) A reliable screening procedure for coeliac disease in clinical practice. *Scand J Gastroenterol* 37:679-684
77. Porcelli B, Sorrentino A, Ferretti F et al (2014) Andamento dei marcatori sierologici della

malattia celiaca nella dieta priva di glutine. [Behaviour of celiac disease serology during gluten free diet]. Riv Ital Med Lab 10:20-25 [Italian]

78. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM (2003) Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease. J Clin Gastroenterol 36:219-221

79. Hoffenberg EJ, Bao F, Eisenbarth GS et al (2000) Transglutaminase antibodies in children with a genetic risk for celiac disease. J Pediatr 137:356-360

80. Jatla M, Bokhari A, Bierly P et al (2009) Anthropometric, serologic, and laboratory correlation with villous blunting in pediatric celiac disease: diabetics are different. J Clin Gastroenterol 43:622-626

81. Diamanti A, Colistro F, Calce A et al (2006) Clinical value of immunoglobulin A antitransglutaminase assay in the diagnosis of celiac disease. Pediatrics 118:e1696-700

82. Donaldson MR, Firth SD, Wimpee H et al (2007) Correlation of duodenal histology with tissue transglutaminase and endomysial antibody levels in pediatric celiac disease. Clin Gastroenterol Hepatol 5:567-573

83. Donaldson MR, Book LS, Leiferman KM et al (2008) Strongly positive tissue transglutaminase antibodies are associated with Marsh 3 histopathology in adult and pediatric celiac disease. J Clin Gastroenterol 42:256-260

84. Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S et al (2009) Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody titers are present. World J Gastroenterol 15:4775-4780

85. Hill PG, Holmes KT (2008) Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. Alim Pharmacol Ther 27:572-577

86. Alessio MG, Tonutti E, Brusca I et al (2012) Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 55:44-49

87. Mubarak A, Wolters VM, Gerritsen SA et al (2011) A biopsy is not always necessary to diagnose celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 52:554-557

88. Mubarak A, Wolters VM, Gmelig-Meyling FH et al (2012) Tissue transglutaminase levels above 100 U/mL and celiac disease: a prospective study. World J Gastroenterol 18:4399-4403

89. Wakim-Fleming J, Pagadala MR, Lemyre MS et al (2013) Diagnosis of celiac disease in adults based on serology test results, without small-bowel biopsy. Clin Gastroenterol Hepatol 11:511-516

90. Li M, Yu L, Tiberti C et al (2009) A report on the International Transglutaminase Autoantibody Workshop for Celiac Disease. Am J Gastroenterol 104:154-163

91. Dahele A, Kingstone K, Bode J et al (2001) Anti-endomysial antibody negative celiac disease: does additional serological testing help? Dig Dis Sci 46:214-221

92. Picarelli A, Di Tola M, Sabatella L et al (2001) Identification of a new coeliac disease subgroup: antiendomysial and anti-transglutaminase antibodies of IgG class in absence of selective IgA deficiency. *J Intern Med* 249:181-188
93. Wang N, Truedsson L, Elvin K et al (2014) Serological assessment for celiac disease in IgA deficient adults. *PLoS One* 9:e93180
94. Villalta D, Alessio MG, Tampona M et al (2007) Diagnostic accuracy of IgG anti-tissue transglutaminase antibody assays in celiac disease patients with selective IgA deficiency. *Ann N Y Acad Sci* 1109:212-220
95. Clemente MG, Musu MP, Troncone R et al (2004) Enterocyte actin autoantibody detection: a new diagnostic tool in celiac disease diagnosis: results of a multicentre study. *Am J Gastroenterol* 99:1551-1556
96. Porcelli B, Ferretti F, Vindigni C et al (2013) Detection of autoantibodies against actin filaments in celiac disease. *J Clin Lab Anal* 27:21-26
97. Fabbro E, Rubert L, Quaglia S et al (2008) Uselessness of anti-actin antibody in celiac disease screening. *Clin Chim Acta* 390:134-137
98. Schirru E, Danjou F, Cicotto L et al (2013) Anti-actin IgA antibodies identify celiac disease patients with a Marsh 3 intestinal damage among subjects with moderate anti-TG2 levels. *Biomed Res Int*: 630463
99. Karell K, Louka AS, Moodie SJ et al (2003) HLA types in coeliac disease patients not carrying the DQA1\*05-DQB1\*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on celiac disease. *Hum Immunol* 64:469-477
100. Polvi A, Arranz E, Fernandez-Arquero M et al (1998) HLA DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol* 59:169-175
101. Obermayer-Straub P, Strassburg C, Manns M (2000) Autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 32:181-197
102. Boberg K, Spurkland A, Rocca G et al (2001) The HLA DR3, DQ2 heterozygous genotype is associated with an accelerated progression of primary sclerosing cholangitis. *Scand J Gastroenterol* 36:886-890
103. Obermayer-Straub P, Manns M (1998) Autoimmune polyglandular syndromes. *Baillière's Clin Gastroenterol* 12:293-315
104. Clerici N, Fernandez M, Saiz I et al (1993) Human leukocyte antigen alleles and haplotypes associated with selective immunoglobulin A deficiency in Spanish paediatric patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 16:381-386

105. Margaritte-Jeannin P, Babron MC, Bourgey M et al (2004) HLA-DQ relative risk for celiac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue Antigens* 63:562-567
106. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R et al (2014) Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *New Engl J Med* 371:1295-1303
107. Rubio Tapia A, Hill I, Kelly C et al (2013) ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 108:656-676
108. Fasano A (2003) Celiac disease--how to handle a clinical chameleon. *N Engl J Med* 348:2568-2570
109. Scoglio R, Di Pasquale G, Pagano G et al (2003) Is intestinal biopsy always needed for diagnosis of celiac disease? *Am J Gastroenterol* 98:1325-1331
110. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H et al (2005) Anti-endomysial and anti-human recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17:85-91
111. Hayat M, Cairns A, Dixon MF et al (2002) Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: what is normal? *J Clin Pathol* 55:393-394
112. Marsh MN, Crowe PT (1995) Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity. *Baillière's Clin Gastroenterol* 9:273-293
113. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H (1999) The histopathology of celiac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11:1185-1194
114. Antonioli DA (2003) Celiac disease: a progress report. *Mod Pathol* 16:342-346
115. Weile B, Hansen BF, Hägerstrand I et al (2000) Interobserver variation in diagnosing coeliac disease. A joint study by Danish and Swedish pathologists. *APMIS* 108:380-384
116. Corazza GR, Villanacci V (2005) Coeliac disease, *J Clin Pathol* 58:573-574
117. Villanacci V (2015) The histological classification of biopsy in celiac disease: Time for a change? *Dig Liver Dis* 47:2-3
118. Patey-Mariaud De Serre N, Cellier C, Jabri B et al (2000) Distinction between coeliac disease and refractory sprue: a simple immunohistochemical method. *Histopathology* 37:70-77
119. Lonardi S, Villanacci V, Lorenzi L et al (2013) Anti-TCR gamma antibody in celiac disease: the value of count on formalin-fixed paraffin-embedded biopsies. *Virchows Arch* 463:409-413
120. Villanacci V, Ceppa P, Tavani E et al (2011) Coeliac disease: the histology report. *Dig Liv Dis* 43S:S385-S395
121. Koskinen O, Collin P, Korponay-Szabo I et al (2008) Gluten-dependent small bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits in overt and mild enteropathy coeliac disease. *J Pediatr Gastr Nutr* 47:436-442

122. Tosco A, Maglio M, Paparo F et al (2008) Immunoglobulin A anti-tissue transglutaminase antibody deposits in the small intestinal mucosa of children with no villous atrophy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 47:293-298
123. Abdulkarim AS, Burgart LJ, See J, Murray JA (2002) Etiology of nonresponsive celiac disease: results of a systematic approach. *Am J Gastroenterol* 97:2016-2021
124. Cellier C, Delabesse E, Helmer C et al (2000) Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Lancet* 356:203-208
125. Cerf-Bensussan N, Brousse N, Cellier C (2002) From hyperplasia to cell lymphoma. *Gut* 51:304-305
126. Brown I, Mino-Kenudson M, Deshpande V et al (2006) Intraepithelial lymphocytosis in architecturally preserved proximal small intestinal mucosa: an increasing diagnostic problem with a wide differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 130:1020-1025
127. Washington K, Stenzel TT, Buckley RH et al (1996) Gastrointestinal pathology in patients with common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia. *Am J Surg Pathol* 20:1240-1252
128. Cooper BT, Holmes GK, Ferguson R et al (1981) Gluten-sensitive diarrhea without evidence of celiac disease. *Gastroenterology* 81:192-194
129. Sapone A, Bai JC, Ciacci C et al (2012) Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Med* 10:13
130. Volta U, Tovoli F, Cicola R et al (2012) Serological tests in gluten sensitivity (non celiac gluten intolerance). *J Clin Gastroenterol* 46:680-685
131. Volta A, Bardella MT, Calabrò A et al, and the Study Group for Non-Celiac Gluten Sensitivity (2014) An Italian prospective multicenter survey on patients suspected of having non-celiac gluten sensitivity. *BMC Medicine* 12:85
132. Caio G, Volta U, Tovoli F et al (2014) Effect of gluten free diet on immune response to gliadin in patients with non-celiac gluten sensitivity. *BMC Gastroenterol* 14:26
133. Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G et al (2010) Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and autoimmune enteropathy celiac disease. *Int Arch Allergy Immunol* 152:75-80
134. Biesiekierski JR, Peters SL, Newnham ED et al (2013) No effects of gluten in patients with self-reported non-celiac gluten sensitivity following dietary reduction of low-fermentable, poorly adsorbed, short-chain carbohydrates. *Gastroenterology* 145:320-328
135. Catassi C, Bai JC, Bonaz B et al (2013) Non-celiac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. *Nutrients* 5:3839-3853

136. Volta U, De Giorgio R (2012) New understanding of gluten sensitivity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 28:295-299
137. Buie T (2013) The relationship of autism and gluten. *Clin Ther* 35:578-583
138. Porcelli B, Verdino V, Bossini L et al (2014) Celiac and non-celiac gluten sensitivity: a review on the association with schizophrenia and mood disorders. *Autoimmun Highlights* 5:55-61
139. Villanacci V, Lanzini A, Lanzarotto F et al (2013) Observations on the paper of Carroccio et al. "Non-celiac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: exploring a new clinical entity". *Am J Gastroenterol* 108:619-620
140. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS et al (2005) Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *JPGN* 40:1-19
141. Murch S, Jenkins H, Auth M et al (2013) Joint BSPGHAN and Coeliac UK guidelines for the diagnosis and management of coeliac disease in children. *Arch Dis Child* 98:806-811
142. Korponay-Szabò IR, Dahlbom I, Laurila K et al (2003) Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for celiac disease in selective IgA deficiency. *Gut* 52:1567-1571
143. Villalta D, Crovatto M, Stella S et al (2005) False positive reactions for IgA and IgG anti-tissue transglutaminase antibodies in liver cirrhosis are common and method-dependent. *Clin Chim Acta* 356:102-109
144. Granito A, Muratori L, Muratori P et al (2004) Antitransglutaminase antibodies and giardiasis. *Am J Gastroenterol* 99:2505-2506
145. Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E et al (2003) Association of celiac disease with connective tissue diseases and autoimmune diseases of the digestive tract. *Autoimmun Rev* 2:358-363
146. Lionetti E, Castellaneta S, Pulvirenti A et al (2012) Prevalence and natural history of potential celiac disease in at-family-risk infants prospectively investigated from birth. *J Pediatr* 161:908-914
147. Sinclair D, Duncan H (2004) What happens to patients with positive tissue transglutaminase and endomysium antibody results in general practice? *J Clin Pathol* 57:943-945
148. Tonutti E, Bizzaro N (2014) Diagnosis and classification of celiac disease and gluten sensitivity. *Autoimmun Rev* 13:472-476
149. Collin P, Helin H, Mäki M et al (1993) Follow-up of patients positive in reticulin and gliadin antibody tests with normal small bowel biopsy findings. *Scand J Gastroenterol* 28:595-598
150. Kaukinen K, Mäki M, Partanen J et al (2001) Celiac disease without villous atrophy. Revision of criteria called for. *Dig Dis Sci* 46:879-887

151. Vahedi K, Mascart F, Mary JY et al (2003) Reliability of antitransglutaminase antibodies as predictors of gluten-free diet compliance in adult celiac disease. *Am J Gastroenterol* 98:1079-1087

**Tabella 1** Segni e sintomi che possono essere presenti in soggetti affetti da malattia celiaca

<b>Generali</b>	<b>Gastrointestinali</b>	<b>Neurologici- Psichiatrici</b>
Bassa statura	Dispepsia	Neuropatia periferica
Perdita di peso	Nausea	Atassia
Ritardo puberale	Vomito	Epilessia
Astenia	Diarrea	Parestesie
Apatia	Stipsi	Ansietà
Malessere	Distensione addominale	Depressione
Edema	Flatulenza	Irritabilità
	Glossite	
	Ulcere cavo orale	
	Difetto smalto dentario	
<b>Ematologici</b>	<b>Osteoarticolari/muscolari</b>	<b>Altri</b>
Anemia	Artrite	Dermatite erpetiforme
Carenza di ferro	Osteoporosi	Alopecia
Carenza di folati	Osteomalacia	Enuresi notturna
Emorragie	Crampi	Infertilità
Ecchimosi	Miopatia	Poliabortività
		Ipertransaminasemia
		Coilonichia
		Ippocratismo digitale

**Tabella 2** Condizioni cliniche nelle quali la malattia celiaca risulta avere una maggiore prevalenza

Tireopatie autoimmuni  
Malattie reumatiche autoimmuni  
Diabete tipo 1  
Deficit di IgA  
Sindrome di Down  
Morbo di Addison  
Malattia infiammatoria cronica intestinale  
Sclerosi multipla  
Miastenia gravis  
Miocardiopatia dilatativa  
Epatite autoimmune

**Tabella 3** Cause comuni di incremento di linfociti intraepiteliali con villi normotrofici

---

Gastroduodenite da *Helicobacter pylori*

Farmaci (principalmente FANS e inibitori della pompa)

Infezioni

Ulcera peptica

Intolleranze/allergie alimentari (soprattutto lattosio)

Malattie autoimmuni, in particolare morbo di Crohn e colite ulcerosa

Sindrome del colon irritabile

Immunodeficienza comune variabile

---

**Tabella 4** Possibili cause di atrofia dei villi duodenali

---

Sprue tropicale

Sovracrescita batterica nel tenue (SIBO)

Enteropatia autoimmune (immunodeficienza comune variabile e agammaglobulinemia X-associata)

Sprue ipogammaglobulinemica

Enteropatia associata a farmaci (es. olmesartan)

Malattia di Whipple

Sprue collagenosica

Malattia di Crohn

Enterite eosinofila

Linfoma intestinale

Tubercolosi intestinale

Parassitosi (*Giardia lamblia*, *Criptosporidium*, *Microsporidium*)

*Graft Versus Host Disease* (GVHD)

Malnutrizione

Enteropatia da immuno-deficienza acquisita

---

## **Didascalie delle figure**

**Figura 1** Filtri di acetato di cellulosa.

**Figura 2** Comparazione tra la classificazione di Marsh-Oberhuber e Corazza-Villanacci.

**Figura 3** Nuova proposta classificativa del danno mucosale nella malattia celiaca. Tipo A: villi normali ma con incremento patologico dei linfociti T intraepiteliali (*a sin.* H&E 10x; *a dx.* immunistochemica per CD3, 10x). Tipo B: atrofia di vario grado dei villi e incremento patologico dei linfociti T intraepiteliali (*a sin.* H&E 10x; *a dx.* immunistochemica per CD3, 10x).

**Figura 4** Algoritmo per la diagnosi differenziale dei disordini glutine-associati. \*anti-DGP IgG da utilizzare in soggetti sintomatici con età < ai 2 anni. \*\*AGA IgG positivo nel 50% dei soggetti con NCGS (limitato ruolo diagnostico).

**Figura 5** Rappresentazione schematica della mucosa duodenale nella *non celiac gluten sensitivity*. Villi normali, linfociti T numericamente normali ma con distribuzione a “cluster” nell’epitelio di rivestimento superficiale e in modo lineare alla base della mucosa, con contestuale incremento degli eosinofili nella lamina propria.

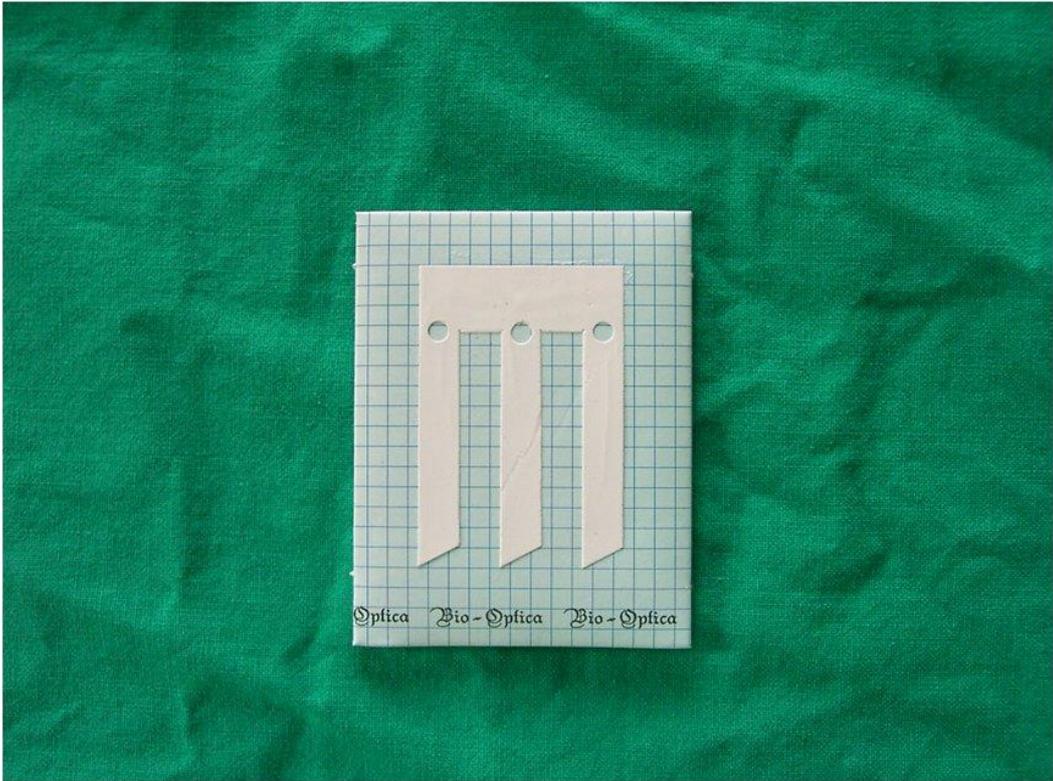
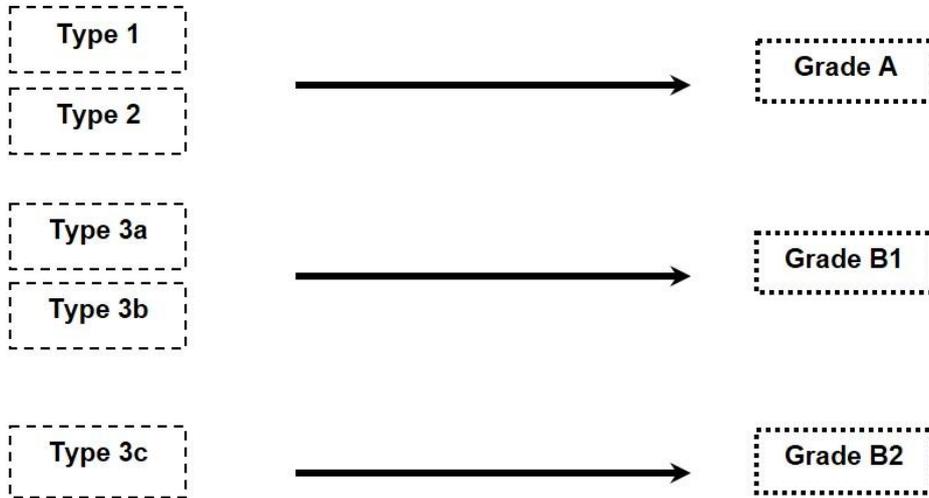


Figura 1

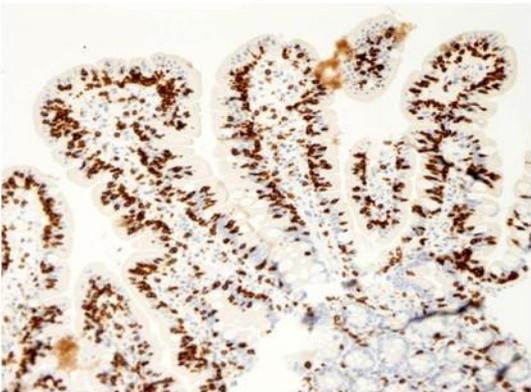
Figura 2

Marsh-Oberhuber classification

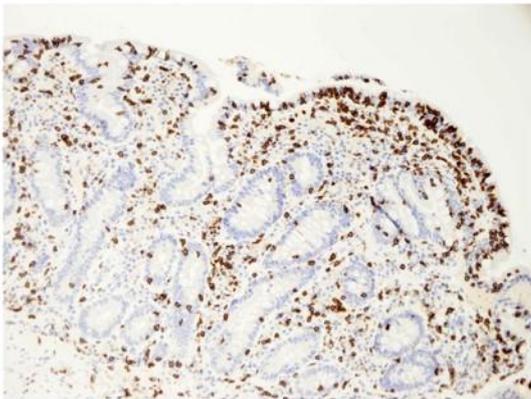
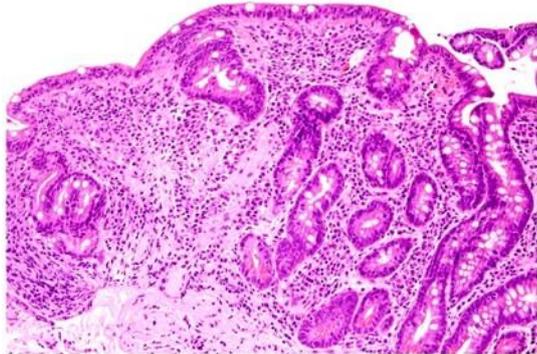
Corazza-Villanacci classification



**Figura 3**



**Tipo A**



**Tipo B**

Figura 4

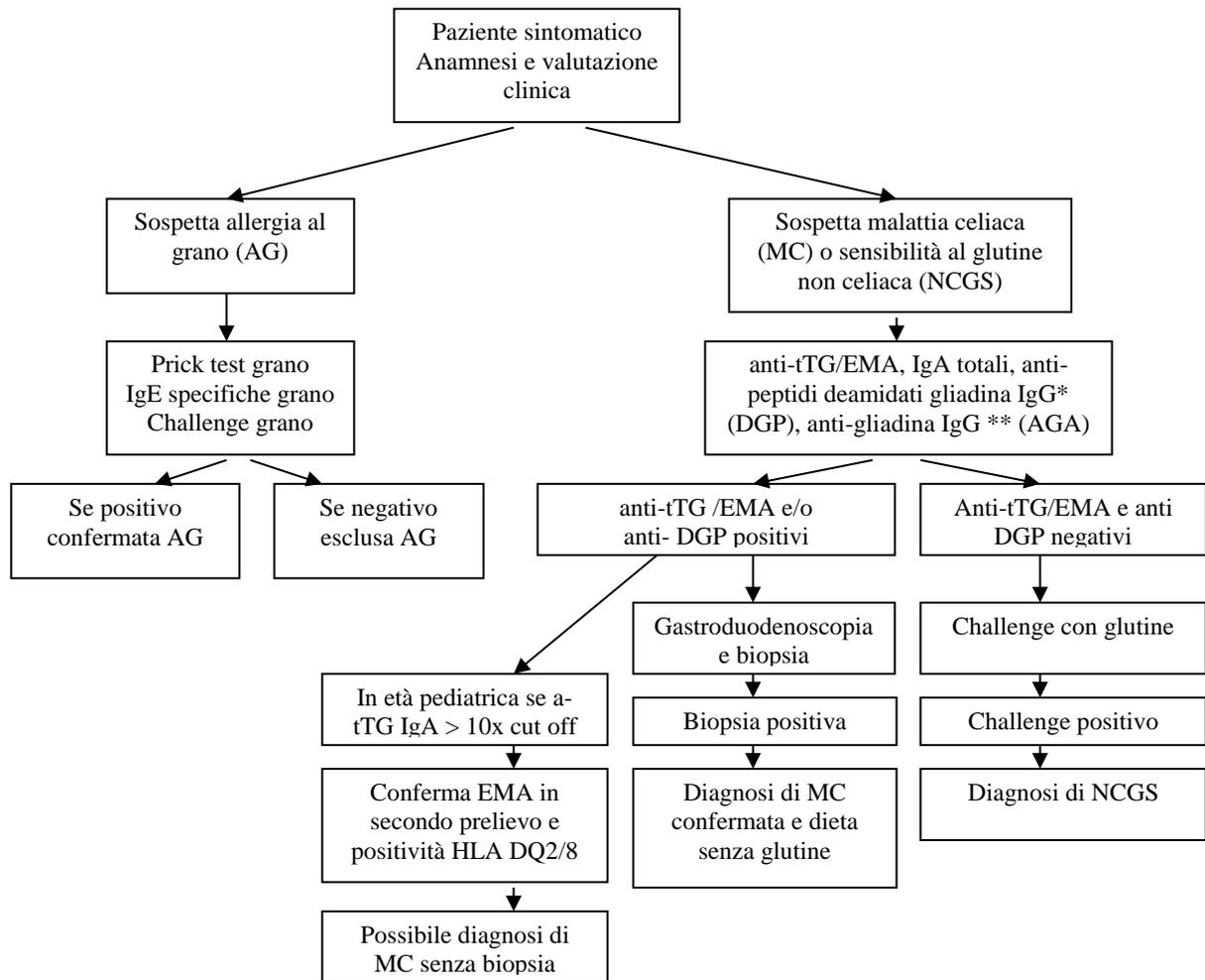


Figura 5

