

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE
"AMEDEO AVOGADRO"

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

**SVELARE LA CELIACHIA: MECCANISMI MOLECOLARI, MANIFESTAZIONI
CLINICHE E NUOVE PROSPETTIVE TERAPEUTICHE**

Relatore

Prof.ssa Garavaglia Silvia

Candidato

Cassetta Sarah

Matricola: 20037787

Anno Accademico 2025-2026

Sessione Estiva A.A 2025/2026

*A mia nonna,
Che avrebbe voluto vedermi arrivare fin qui,
Ovunque tu sia...*

Abbreviazioni, acronimi e sigle

- tTG/TG2: Transglutaminasi tissutale
- HLA: Antigene leucocitario umano (*Human Leukocyte Antigen*)
- APC: Cellule presentanti l'antigene (*Antigen Presenting cells*)
- CD4+: Linfociti T helper CD4 positivi
- IEL: Linfociti intraepiteliali (*Intraepithelial Lymphocytes*)
- IL-15: Interleuchina 15
- IL-21: Interleuchina 21
- IFN- γ : Interferone gamma
- NKG2D: Recettore attivante dei linfociti NK
- MIC-A/MIC-B: Molecole di stress cellulare (*MHC class I chain-related*)
- HLA-E: Molecola non classica del complesso maggiore di istocompatibilità
- Ab: anticorpi
- AGA: Anticorpi antigliadina
- Anti-tTG: Anticorpi anti-transglutaminasi tissutale
- EMA: Anticorpi anti-endomisio
- NCGS: Sensibilità al glutine non celiaca (*Non-celiac Gluten sensitivity*)
- IgA: Immunoglobulina A
- IBS: Sindrome dell'intestino irritabile (*Irritable Bowel Syndrome*)
- NHANES: *National Health and Nutrition Examination Survey*
- GFD: Gluten-Free Diet
- LTPs: *Lipid Transfer Proteins*
- ATI: Inibitori dell' α -amilasi e della tripsina
- DLS: *Dynamic Light Scattering*
- TEM: Microscopia elettronica a trasmissione (*Transmission Electron Microscopy*)
- TLR: Recettori Toll-like
- MHC: Complesso maggiore di istocompatibilità
- GWAS: Associazione Genome Wide
- GALT: siti induttivi del sistema immunitario intestinale
- CXCR3: recettore per chemochine espresso sui linfociti T attivati
- CXCL13: chemochina che richiama cellule B e cellule T follicolari helper
- CXCL10/11: chemochine pro-infiammatorie che legano CXCR3

- IgA, IgM, IgG: Immunoglobuline anticorpali coinvolte
- POCT: Test Point-of-care
- DGP: Anticorpi anti-peptidi deamidati della gliadina
- CYP3A4: Citocromo p450 3A4
- FABP: Proteine leganti gli acidi grassi
- I-FABP: Intestinal fatty acid-binding protein
- FCP: calprotectina fecale
- HMGB1: High Mobility Group Box 1
- Reg 1 α : Regenerating Gene 1 α
- GIP: Peptidi immunogenici del glutine
- MPV: Volume piastrinico medio
- MiRNA: microRNA
- TWEAK: TNF-like weak inducer of apoptosis
- IL-2: Interleuchina 2
- IL-33: Interleuchina 33
- IL-17: Interleuchina 17
- CCL28: Chemochina epiteliale associata alle mucose
- ESsCD: European Society for the Study of Coeliac Disease
- EATL: Enteropathy-Associated T-cell Lymphoma

INDICE

Introduzione.....	7
Capitolo 1.....	9
1.1 Definizione di celiachia come malattia autoimmune cronica dell'intestino tenue indotta dal glutine	
1.2 Epidemiologia, incidenza e prevalenza della malattia celiaca	
1.3 Storia della scoperta della malattia e dei test diagnostici	
1.4 Composizione del glutine	
Capitolo 2.....	21
2.1 Fattori di rischio genetici e ambientali	
2.2 Patogenesi e meccanismi immunitari	
2.3 Danno alla mucosa intestinale con atrofia dei villi	
Capitolo 3.....	31
3.1 Approccio diagnostico alla malattia celiaca	
3.2 Biomarcatori sierologici	
3.3 Biopsia duodenale e danno mucosale	
3.4 Test genetici	
3.5 Biomarcatori dell'enteropatia e del danno intestinale	
3.6 Biomarcatori per il monitoraggio della dieta priva di glutine	
3.7 Biomarcatori emergenti e approcci innovativi	
3.8 Biomarcatori della permeabilità intestinale	
3.9 Algoritmi diagnostici attuali e possibili situazioni complesse	
Capitolo 4.....	45
4.1 Forme cliniche della celiachia	

4.2 Manifestazioni cliniche della celiachia	
4.3 Complicanze della celiachia e associazione con altre patologie autoimmuni	
Capitolo 5.....	53
5.1 Dieta priva di glutine	
5.2 Monitoraggio del paziente	
5.3 Aderenza alla dieta e qualità di vita	
5.4 Strategie terapeutiche innovative e prospettive future	
Capitolo 6.....	67
6.1 Il ruolo del farmacista	
Conclusione.....	70

INTRODUZIONE

La celiachia è una patologia autoimmune sistemica cronica che si sviluppa nei soggetti geneticamente predisposti come conseguenza dell'ingestione di glutine, un complesso proteico presente in diversi cereali, tra cui grano, segale e orzo. L'esposizione al glutine determina l'attivazione di una risposta immunitaria anomala a livello della mucosa dell'intestino tenue che porta ad un'inflammazione cronica, atrofia dei villi intestinali e alterazione dei processi di assorbimento dei nutrienti. La celiachia è stata considerata per molto tempo una malattia rara e prevalentemente pediatrica, ma oggi è riconosciuta come una patologia che può manifestarsi a qualsiasi età e con un ampio spettro di presentazioni cliniche. Negli ultimi decenni c'è stato un progressivo aumento delle diagnosi attribuibile sia al miglioramento degli strumenti diagnostici sia ad una maggiore consapevolezza della malattia da parte di professionisti sanitari e popolazione generale, ma nonostante questo aumento, esiste ancora una significativa quota di soggetti non diagnosticati. Uno dei motivi del ritardo o della mancata diagnosi è la variabilità delle manifestazioni cliniche che vedono la presenza di diverse forme di celiachia con differenti sintomi associati. La malattia celiaca è caratterizzata da un'associazione tra predisposizione genetica, fattori ambientali e meccanismi immunologici, in particolare la presenza di alleli HLA-DQ2 e HLA-DQ8, insieme ad alterazioni della barriera intestinale, modificazioni del microbiota e meccanismi immunitari complessi. Oltre ai progressi nella comprensione dei meccanismi patogenetici, gli ultimi anni hanno permesso un'evoluzione delle strategie diagnostiche introducendo ad esempio, test sierologici ad elevata sensibilità e specificità e iniziando a studiare nuovi biomarcatori in grado di supportare non solo la diagnosi, ma anche il monitoraggio dell'aderenza terapeutica e la risposta clinica alla dieta priva di glutine GFD. Attualmente l'unico trattamento efficace è la dieta GFD, ma rappresenta un grande ostacolo nell'aderenza a lungo termine per i soggetti interessati e influenza, di conseguenza, la qualità di vita dei pazienti. Le difficoltà legate al rischio di contaminazione, alla gestione della dieta in contesti sociali e alla necessità di un monitoraggio costante hanno stimolato la ricerca di strategie terapeutiche innovative in grado di supportare o, in futuro, affiancare la dieta priva di glutine GFD e tra queste rientrano approcci basati su degradazione enzimatica del glutine, modulazione della risposta immunitaria e intervento sul microbiota intestinale. Risulta perciò fondamentale un approccio multidisciplinare per affrontare la malattia, coinvolgendo diverse figure professionali, tra cui il ruolo sempre più rilevante del farmacista, essenziale per il counselling del paziente, l'educazione all'aderenza alla terapia e l'identificazione di eventuali problematiche correlate alla gestione quotidiana della malattia. L'obiettivo della presente tesi è

fornire una panoramica aggiornata della malattia celiaca attraverso l'analisi dei principali aspetti epidemiologici, patogenetici, diagnostici e terapeutici con particolare attenzione ai biomarcatori emergenti, alle nuove prospettive terapeutiche attualmente in fase di sviluppo e al ruolo del farmacista nella gestione del paziente. La tesi è articolata in diversi capitoli. Il primo capitolo introduce la malattia celiaca attraverso una panoramica generale della sua epidemiologia e scoperta, delle principali forme cliniche e delle caratteristiche strutturali del glutine. Il secondo capitolo approfondisce i principali fattori di rischio e i meccanismi patogenetici e immunologici alla base della malattia. Il terzo capitolo è dedicato agli aspetti diagnostici e descrive l'approccio attualmente utilizzato per la diagnosi. Il quarto capitolo affronta le varie forme e manifestazioni cliniche, le complicanze della malattia e le principali patologie associate, evidenziando l'importanza di una diagnosi e un monitoraggio adeguati. Nel quinto capitolo vengono analizzate le strategie terapeutiche attualmente disponibili e le prospettive future. Infine, il sesto capitolo approfondisce il ruolo del farmacista nella gestione del paziente celiaco e la conclusione propone una riflessione sull'impatto della malattia nella vita quotidiana attraverso l'esperienza diretta di una persona affetta da celiachia.

CAPITOLO 1

1.1 Definizione di celiachia come malattia autoimmune cronica dell'intestino tenue indotta dal glutine.

La celiachia è una malattia autoimmune che si manifesta in persone geneticamente predisposte quando il sistema immunitario reagisce al glutine. Il glutine è un termine generico che indica le proteine solubili in alcol presenti in diversi cereali, tra cui grano, segale, orzo, farro e kamut. Queste proteine contengono specifiche frazioni peptidiche in grado di attivare una risposta immunitaria anomala, responsabile del danno alla mucosa intestinale che si manifesta tipicamente con atrofia dei villi intestinali e infiltrazioni di cellule infiammatorie, con conseguente compromissione dei processi di digestione e assorbimento dei nutrienti (1). Il glutine è utile in quanto conferisce elasticità agli impasti. Tuttavia, è costituito da diverse proteine, tra cui la gliadina, particolarmente importante in ambito di celiachia, che è costituita da sequenze di amminoacidi, tra cui glutammina e prolina, che la rendono non completamente digeribile dal sistema gastrointestinale. A causa di questa scarsa digeribilità, si formano peptidi anche lunghi fino a 33 amminoacidi che, nei soggetti predisposti, possono attivare una risposta immunitaria adattativa che dipende dalla deamidazione delle molecole di gliadina da parte dell'enzima transglutaminasi tissutale (tTG), il principale autoantigene della malattia celiaca (2). La rimozione di un gruppo ammidico ($-NH_2$) dalla gliadina, in particolare dalla glutammina, la trasforma in acido glutammico, passando da una carica neutra a una carica negativa e aumentandone di conseguenza l'immunogenicità facilitando il legame con specifiche molecole di HLA o antigene leucocitario umano (*Human Leukocyte Antigen*) presenti sulle cellule che presentano l'antigene (APC). I peptidi della gliadina vengono quindi presentati ai linfociti T helper CD4 positivi ($CD4^+$) reattivi e, durante questo processo, si formano anticorpi (Ab) contro la tTG (anti-tTG), la gliadina (AGA) e l'endomysio (EMA) (1,3). A questa risposta immunitaria adattativa, che coinvolge la lamina propria dell'intestino tenue, si affianca una risposta immunitaria innata a livello dell'epitelio intestinale. Durante la patogenesi della malattia, i linfociti intraepiteliali (IEL, *Intraepithelial Lymphocytes*) esprimono recettori tipici dei linfociti T natural killer, come NKG2D e CD94/NKG2A, in grado di riconoscere i prodotti dei geni indotti dallo stress (MIC-A e MIC-B) e la proteina HLA-E espressa sulla superficie delle cellule epiteliali (4). In seguito a questo riconoscimento, gli IEL diventano citotossici e iniziano ad attaccare le cellule dell'epitelio intestinale, l'interleuchina 15 (IL-15) svolge un ruolo fondamentale, poiché aumenta l'espressione di questi recettori e

contribuisce all'attivazione degli IEL citotossici (5). Per lo sviluppo della lesione tipica della malattia celiaca, sembrano quindi essere necessarie sia la risposta immunitaria adattativa della lamina propria, sia la risposta immunitaria innata del compartimento epiteliale. La malattia ha uno spettro clinico molto ampio e può comparire a qualsiasi età; spesso, inoltre, l'esordio avviene molti anni prima della diagnosi. Numerosi studi evidenziano anche un aumento di morbilità e mortalità nei soggetti affetti (6). Negli ultimi decenni, la comprensione della malattia è profondamente cambiata, con un significativo incremento delle diagnosi. Questo fenomeno è attribuibile a diversi fattori. Da un lato, la disponibilità di test sierologici sempre più sensibili e specifici ha permesso di identificare con maggiore accuratezza i gruppi a rischio; dall'altro, il miglioramento delle conoscenze cliniche ha portato a una maggiore consapevolezza della malattia ed ad una più ampia identificazione delle sue diverse presentazioni (7). Un ulteriore fattore che ha contribuito all'aumento delle diagnosi è rappresentato dall'ampliamento dello spettro clinico della malattia con forme classiche, ma anche, sempre più frequenti forme atipiche o silenti, che possono manifestarsi con sintomi non specifici oppure risultare completamente asintomatiche (6,7). È stato inoltre ipotizzato che l'aumento della prevalenza non sia dovuto esclusivamente al miglioramento delle capacità diagnostiche, ma possa riflettere anche un reale incremento della malattia. In questo contesto, fattori ambientali, come modificazioni delle abitudini alimentari e alterazioni del microbiota intestinale, potrebbero contribuire a tale fenomeno (1,3). Altri autori suggeriscono invece che l'aumento della prevalenza possa essere legato alla diffusione di una dieta occidentale "estremizzata", caratterizzata da un consumo molto elevato di glutine e dalla produzione di nuove varietà di cereali per motivi prevalentemente tecnologici (8). Negli ultimi anni è stata inoltre descritta la sensibilità al glutine non celiaca (NCGS, *Non-Celiac Gluten Sensitivity*), una condizione caratterizzata da sintomi correlati all'ingestione di glutine in assenza di celiachia o allergia al grano, la cui fisiopatologia non è ancora del tutto chiara (9). In alcuni contesti, in particolare in ambito pediatrico, questi progressi hanno reso possibile la diagnosi anche senza ricorrere alla biopsia intestinale, in presenza di specifici criteri clinici e sierologici. La celiachia rappresenta, quindi, un valido modello di malattia immunologica, in quanto è il risultato dell'interazione tra fattori genetici e fattori ambientali (1,6).

1.2 Epidemiologia, incidenza e prevalenza della malattia celiaca

La celiachia è uno dei disordini autoimmuni più comuni, con una prevalenza stimata pari allo 0,5-1% della popolazione generale a livello globale, ad eccezione di aree caratterizzate

da una bassa diffusione di alplotipi genetici predisponenti (HLA-DQ2 e HLA-DQ8, appartenenti al sistema HLA, antigene leucocitario umano) e da un ridotto consumo di glutine (10-12). Nonostante il ruolo noto dei fattori genetici e ambientali, esistono significative variazioni geografiche nella prevalenza che non sono completamente spiegate. In Europa, ad esempio, la Germania presenta tassi inferiori rispetto ad altri Paesi, mentre le prevalenze più elevate si osservano in Svezia e Finlandia. Analogamente, negli Stati Uniti, la malattia è meno frequente nella popolazione afroamericana rispetto a quella caucasica, e in Brasile si osservano tassi più bassi tra i soggetti di origine africana (11,14,18). Queste osservazioni evidenziano l'esistenza di differenze geografiche ed etniche, anche tra popolazioni relativamente vicine. Un ulteriore esempio è rappresentato dall'India, dove la prevalenza è maggiore nelle regioni settentrionali del Paese rispetto a quelle meridionali, nonostante una distribuzione simile di alplotipi HLA predisponenti. Tale differenza è stata correlata a un più elevato consumo di grano nel Nord del Paese (13). Queste variazioni hanno portato a ipotizzare un ruolo importante di fattori ambientali nello sviluppo della malattia e numerosi studi hanno dimostrato un aumento della prevalenza della celiachia nel tempo. Analisi condotte su campioni sierici conservati, hanno evidenziato, negli Stati Uniti, un incremento di circa 4-4,5 volte nell'arco di 50 anni nel periodo 1948-1954 a oggi, ed un raddoppio nell'arco di 15 anni tra il 1974 e il 1989 (15). Parallelamente, anche l'incidenza della malattia è aumentata negli ultimi decenni, passando da meno di 2 casi per 100.000 persone/anno negli anni '80-'90 a oltre 20 casi per 100.000 persone/anno negli anni più recenti (16). Nonostante l'aumento della prevalenza, il tasso di diagnosi è cresciuto più lentamente. I dati del National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), mostrano che oltre l'80% dei soggetti affetti da celiachia risultava non diagnosticato nel 2009, percentuale progressivamente ridottasi negli anni successivi (17). Complessivamente, si stima che circa il 70% dei casi rimanga non diagnosticato, configurando il fenomeno del cosiddetto "iceberg celiaco", in cui la maggior parte dei pazienti si colloca nella porzione sommersa della malattia (17). La sotto diagnosi è attribuibile a diversi fattori. In primo luogo, la malattia può presentarsi con sintomi lievi, atipici o assenti, oppure con manifestazioni erroneamente attribuite ad altre condizioni, come la sindrome dell'intestino irritabile (IBS). Inoltre, anche quando viene eseguita un'endoscopia digestiva alta, la biopsia duodenale può non essere effettuata in presenza di una mucosa apparentemente normale, nonostante possano essere presenti alterazioni istologiche come l'atrofia dei villi. Un ulteriore elemento che ha contribuito alla sotto diagnosi è rappresentato dalla storica considerazione della celiachia come una patologia rara, che ha portato a limitare lo screening ai soli pazienti con sintomi tipici, come diarrea cronica o familiarità per la malattia. Dal punto di vista

diagnostico, è importante considerare che la prevalenza basata sulla sierologia, circa 1,4%, può sovrastimare la reale diffusione della malattia a causa della specificità non assoluta dei test, mentre quella confermata mediante biopsia, circa 0,7% può sottostimarla, poiché non tutti i soggetti sieropositivi vengono sottoposti a conferma istologica (10-12). Negli ultimi anni, l'aumento della consapevolezza clinica e la maggiore diffusione dei test sierologici hanno contribuito a migliorare l'identificazione dei casi. Inoltre, il crescente interesse della popolazione generale verso la dieta senza glutine (GFD, *Gluten-Free Diet*) ha indirettamente favorito un aumento dei test diagnostici (17,18).

La celiachia può insorgere a qualsiasi età, inclusa quella geriatrica (22). In alcuni casi, la diagnosi in età adulta può riflettere una perdita di tolleranza al glutine sviluppatasi *de novo*, come suggerito da studi su campioni sierici, tuttavia, evidenze prospettiche indicano che nella maggior parte dei casi la popolazione sviluppa la celiachia prima dei 10 anni di età (19,20). La malattia è più frequente nel sesso femminile rispetto a quello maschile, sia negli studi epidemiologici sia in quelli clinici (21) e tale differenza potrebbe essere in parte spiegata da una maggiore sotto diagnosi negli uomini, i quali sono meno frequentemente sottoposti a indagini diagnostiche, come la biopsia duodenale, anche in presenza di sintomi suggestivi. La prevalenza della celiachia è più elevata nei parenti di primo grado di soggetti affetti (10-15%) e in altri gruppi a rischio, in particolare nei pazienti con sindrome di Down, diabete mellito di tipo 1 o deficit selettivo di immunoglobulina A (IgA). Infine, è importante considerare che, anche in assenza di diagnosi di celiachia, molte persone adottano una dieta priva di glutine. Le motivazioni includono il miglioramento dei sintomi gastrointestinali in caso di presenza di sensibilità al grano o al glutine non celiaca, NCGS e la diffusa convinzione, non dimostrata scientificamente, che tale dieta apporti diversi benefici generali per la salute, tra cui quello cardiovascolare e neurologico. Questo comportamento è più frequente nei soggetti con livello socioeconomico elevato e nei Paesi ad alto reddito (17,18). Nel complesso, questi dati evidenziano come la celiachia rappresenti una patologia ampiamente diffusa ma ancora in parte sottodiagnosticata, la cui reale dimensione epidemiologica è probabilmente sottostimata.

1.3 Storia della scoperta della malattia e dei test diagnostici

La comprensione della malattia celiaca è cambiata profondamente nel corso del tempo: inizialmente considerata una condizione idiopatica, oggi è riconosciuta come una patologia ben definita sia dal punto di vista eziologico che diagnostico. Uno dei primi contributi fondamentali risale al 1957, quando Schwartz e collaboratori dimostrarono il beneficio dell'eliminazione del

glutine nei pazienti con sprue idiopatica. Questo lavoro ha avuto un impatto importante, perché ha permesso di identificare il glutine come principale fattore scatenante della malattia anche in età adulta, modificando in modo significativo l'approccio clinico (23). Un lavoro pubblicato negli anni '60, ha inoltre reso possibile la comprensione della distribuzione e dell'estensione del danno indotto dal glutine nell'intestino tenue, evidenziando come tale danno possa essere riprodotto in diversi tratti dell'intestino stesso (25). Negli anni successivi, numerosi studi hanno contribuito a chiarire meglio i meccanismi alla base del danno intestinale. È stato infatti dimostrato che l'esposizione al glutine induce una risposta immunitaria a livello della mucosa dell'intestino tenue, responsabile delle tipiche alterazioni istologiche e in questo contesto, il lavoro di Michael Marsh ha rappresentato un punto di riferimento, introducendo il concetto di spettro delle lesioni intestinali, ancora oggi usato nella pratica clinica (24). Parallelamente ai progressi nella comprensione dei meccanismi patogenetici, alcuni studi hanno approfondito il ruolo dell'immunità mucosale, in particolare, uno studio del 2000 ha analizzato le modificazioni delle popolazioni cellulari della mucosa intestinale nei pazienti celiaci. Gli autori hanno osservato che gli IEL comprendono una popolazione ricca di cellule T con caratteristiche simili alle cellule natural killer (NK), che aumentano di numero nella mucosa dei pazienti affetti (26). È stato anche evidenziato che la proliferazione e la differenziazione di queste cellule sono in parte regolate dall'IL-15, suggerendo così un ruolo centrale di questa citochina nella risposta immunitaria della celiachia. Poiché le cellule epiteliali intestinali esprimono IL-15, e tale espressione risulta aumentata nella malattia, questi dati hanno portato a ipotizzare che l'epitelio non sia soltanto una barriera passiva, ma possa partecipare attivamente alla regolazione del sistema immunitario. Nello stesso anno, un ulteriore studio, ha approfondito il ruolo dell'IL-15, dimostrando che essa è in grado di indurre livelli di apoptosi negli enterociti simili a quelli provocati dalla gliadina (27). Per quanto riguarda la diagnosi, i primi test sierologici sono stati introdotti nei primi anni '80 e si basavano sulla ricerca degli anticorpi immunoglobulina G (IgG), IgA e antigliadina. Tuttavia, questi test presentavano alcuni limiti, soprattutto in termini di accuratezza, con valori di sensibilità e specificità compresi tra l'80% e il 90%. Successivamente, a metà degli anni '80, l'introduzione degli anticorpi anti-endomisio (EMA) ha migliorato la specificità diagnostica. Tuttavia, questo metodo risultava complesso e poco adatto allo screening su larga scala in quanto il test richiedeva tecniche di immunofluorescenza e l'utilizzo di substrati biologici, come esofago di scimmia o cordone ombelicale umano e inoltre, ogni campione doveva essere valutato singolarmente al microscopio, con conseguente aumento dei costi e una certa variabilità tra osservatori e tra diversi centri. Alla luce di questi limiti, è emersa la necessità di sviluppare test più semplici da

eseguire ma allo stesso tempo affidabili, con elevata sensibilità e specificità e soprattutto adatti a essere usati su larga scala nell'ambito dello screening. Una vera svolta si è avuta nel 1998, con l'identificazione degli anticorpi IgA diretti contro la (tTG), considerata il principale autoantigene della celiachia. L'introduzione dei test ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) per la loro determinazione ha reso possibile disporre di uno strumento semplice, relativamente economico e altamente accurato, con sensibilità e specificità superiori al 95%. Questo ha facilitato l'utilizzo dello screening su larga scala e ha contribuito in modo significativo all'aumento delle diagnosi (28,29). La maggiore accessibilità e affidabilità dei test sierologici ha inoltre permesso di individuare un numero sempre maggiore di casi, molti dei quali in precedenza non diagnosticati. Questo ha reso possibile la realizzazione di studi epidemiologici su ampie popolazioni, contribuendo a una migliore comprensione della cosiddetta "celiachia nascosta" (30-32). Più recentemente, l'elevata accuratezza dei test sierologici ha aperto la possibilità, in specifiche condizioni cliniche, di formulare una diagnosi senza ricorrere alla biopsia intestinale. In particolare, i livelli di anticorpi IgA anti-tTG superiori a 10 volte il limite normale risultano fortemente associati alla presenza di atrofia dei villi chiamata lesione Marsh3. Per questo motivo, in alcune situazioni, come nei bambini sintomatici, è stato proposto di basare la diagnosi esclusivamente sui dati sierologici, evitando la biopsia intestinale. Nonostante questi progressi, restano ancora alcune criticità, in particolare la necessità di disporre di marcatori più affidabili per monitorare l'aderenza alla GFD e il recupero della mucosa intestinale e difficoltà legate all'interpretazione istologica, come problemi di campionamento, orientamento dei preparati e variabilità tra osservatori. Negli ultimi anni è emersa una crescente consapevolezza del fatto che alcuni pazienti possono presentare sintomi correlati al glutine o al grano in assenza di una diagnosi di celiachia e studi recenti suggeriscono che esista un numero significativo di individui che seguono una GFD senza una chiara evidenza che i sintomi siano effettivamente legati al glutine. Allo stesso tempo, una quota di pazienti affetti da celiachia rimane ancora non diagnosticata e quindi non adeguatamente trattata (33). La celiachia è quindi passata dall'essere considerata una malattia rara e poco conosciuta a una condizione ampiamente studiata, con strumenti diagnostici sempre più accurati e una migliore comprensione dei meccanismi alla base della patologia. Tuttavia, nonostante i numerosi progressi, restano ancora diversi aspetti da chiarire, in particolare per quanto riguarda la diagnosi precoce e la gestione delle forme non classiche.

1.4 Composizione del Glutine

Il glutine è comunemente definito come la frazione proteica che si ottiene dopo il lavaggio di un impasto di farina di frumento e acqua, processo durante il quale vengono rimossi l'amido e le componenti solubili (34). Il materiale che si ottiene è di consistenza elastica ed è costituito per circa il 75-80% da proteine sul peso secco e rappresenta quello che viene indicato come "proteine del glutine". Il glutine non è una singola proteina, ma un sistema complesso formato principalmente da gliadine e glutenine (35,36). Queste proteine sono caratteristiche del frumento *Triticum*, anche se è comune confondere con lo stesso termine proteine strutturalmente simili presenti in altri cereali. Dal punto di vista biochimico, le proteine del glutine appartengono alla classe delle prolamine, ovvero proteine definite come tali per la loro solubilità in soluzioni idroalcoliche e per l'elevato contenuto di prolina e glutammina (34). Secondo la classificazione proposta da Osborne, le proteine dei cereali si dividono in albumine solubili in acqua, globuline solubili in soluzioni saline, prolamine solubili in alcol e gluteline solubili solo in condizioni alcaline. Nel frumento, le prolamine includono le gliadine, mentre le gluteline sono rappresentate principalmente dalle glutenine e l'insieme di queste due frazioni costituisce il glutine (35). Questa classificazione, sebbene storica, è ancora oggi utilizzata per comprendere le proprietà funzionali e tecnologiche delle proteine dei cereali. Le proteine del glutine rappresentano la principale riserva proteica del chicco e si trovano nelle cellule dell'endosperma amilaceo. Durante lo sviluppo del seme, vengono inizialmente accumulate in strutture che, con la maturazione, si fondono formando una matrice continua attorno ai granuli di amido (Figura 1A) (40). Questa organizzazione è particolarmente importante perché, durante la lavorazione dell'impasto e la conseguente rimozione dell'amido, permette di creare la rete tridimensionale del glutine (Figura 1), responsabile delle proprietà tipiche di questi impasti (36,37). La distribuzione di queste proteine all'interno del chicco non è uniforme; infatti, si osserva una maggiore concentrazione negli strati più esterni dell'endosperma, mentre le regioni centrali ne contengono quantità inferiori (40). Anche la composizione tende a variare, con un aumento delle subunità gluteniniche ad alto peso molecolare (HMW) e una riduzione relativa delle gliadine e delle subunità a basso peso molecolare (LMW), influenzando le caratteristiche delle farine ottenute e, di conseguenza, anche le proprietà tecnologiche e nutrizionali (35,40).

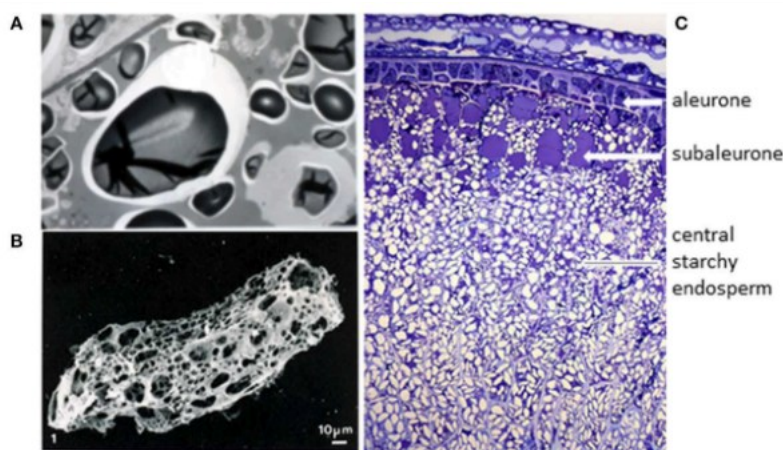


Figura 1. Origine e organizzazione delle proteine del glutine nel chicco di frumento. (A) Nelle cellule dell'endosperma amilaceo, i corpi proteici si fondono durante la maturazione formando una matrice proteica continua (36). (B) La rimozione dell'amido da una particella di farina mette in evidenza la rete tridimensionale del glutine responsabile delle proprietà reologiche dell'impasto (37). (C) Sezione trasversale di un chicco di frumento in sviluppo, colorata con blu di toluidina, che mostra la distribuzione delle proteine all'interno dei tessuti dell'endosperma (in blu).

Le proteine del glutine costituiscono un sistema complesso che può essere suddiviso in diverse classi mediante tecniche elettroforetiche, in base alla loro mobilità. Le gliadine sono proteine monomeriche e sono distinte in α -, β -, γ - e ω -gliadine, anche se le prime due appartengono in realtà ad un unico gruppo. Le glutenine, invece, sono delle proteine polimeriche non separabili direttamente con tecniche elettroforetiche convenzionali e che, una volta separati i ponti disolfuro che stabilizzano i polimeri, si distinguono in subunità HMW e LMW, ulteriormente suddivise in sottogruppi (35). Queste proteine possono essere ulteriormente raggruppate in 3 famiglie: prolamine ad alto peso molecolare (HMW), prolamine ricche in zolfo (S-rich) e prolamine povere in zolfo (S-poor) (35). Una delle caratteristiche più rilevanti del glutine è la sua elevata variabilità. Questa dipende dalla presenza di famiglie multi-geniche e dal fatto che il frumento comune, *Triticum aestivum*, possiede tre genomi distinti A, B e D comportando una maggiore complessità della frazione proteica rispetto ad altre specie di frumento (35,40). Di conseguenza, le proteine del glutine sono codificate da numerosi geni, con differenze sia nel numero di proteine espresse ad esempio 2-5 subunità HMW, sia nelle sequenze amminoacidiche (19, 24). In una singola varietà di frumento, infatti, possono essere espresse decine di proteine del glutine, generalmente comprese tra circa 50 e 100 (40) e a questa variabilità contribuiscono anche modificazioni post-traduzionali come la deamidazione e altre modificazioni come glicosilazione o fosforilazione ad esempio. Anche l'ambiente è molto importante, infatti, fattori come la disponibilità di azoto e zolfo durante lo sviluppo del chicco influenzano la composizione proteica, modificandone il rapporto tra gliadine e glutenine. Un

aspetto distintivo delle proteine del glutine è la presenza di sequenze ripetute, circa il 30-50% nelle gliadine e nelle subunità LMW, fino al 75-85% nelle subunità HMW e quasi l'intera sequenza nelle ω -gliadine, che possono costituire una parte molto significativa della struttura proteica. Queste sequenze sono ricche in prolina e glutammina e conferiscono alle proteine caratteristiche specifiche, tra cui la scarsa solubilità in acqua. Nonostante la glutammina sia un amminoacido idrofilo, la sua disposizione ripetitiva favorisce la formazione di legami a idrogeno tra le proteine, determinando l'insolubilità (38). Dal punto di vista clinico, queste regioni dei peptidi, sono particolarmente rilevanti perché contengono la maggior parte degli epitopi, ovvero delle sequenze peptidiche, riconosciute dal sistema immunitario nei soggetti celiaci (Figura 2) (41) e la loro elevata ripetizione rappresenta uno dei principali ostacoli nello sviluppo di varietà di frumento prive di componenti tossici per questi soggetti.

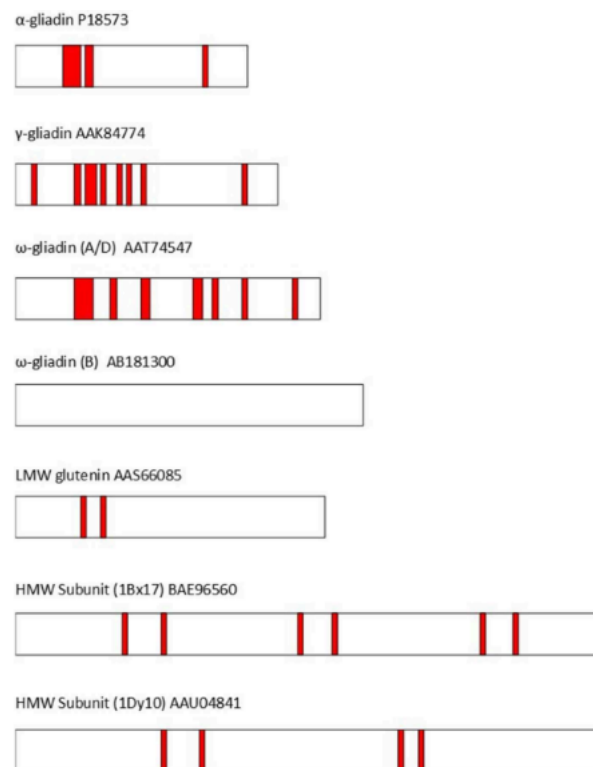


Figura 2. Distribuzione degli epitopi riconosciuti dai linfociti T nelle principali proteine del glutine del frumento. Le barre rosse indicano le regioni contenenti epitopi immunogenici associati alla celiachia, localizzati principalmente nelle gliadine (36).

Le proprietà fisiche del glutine derivano dalla capacità di formare una rete proteica tridimensionale all'interno dell'impasto, in cui le glutenine contribuiscono alla struttura elastica formando polimeri stabilizzati dai ponti disolfuro, mentre le gliadine conferiscono viscosità e plasticità (36). La stabilità di questa rete dipende da una combinazione di legami

covalenti e interazioni non covalenti, in particolare legami a idrogeno, che risultano fondamentali durante la lavorazione dell'impasto (39). Queste sono le caratteristiche che rendono il frumento unico tra i cereali per la produzione di pane e altri prodotti lievitati. Oltre alle proteine del glutine, nel frumento sono presenti altre proteine con possibili implicazioni biologiche, come ad esempio, le *lipid transfer proteins* o LTPs, coinvolte nei meccanismi di difesa della pianta e per il ruolo allergenico oppure, gli inibitori dell' α -amilasi e della tripsina (ATI) associati sia a reazioni allergiche sia a forme di sensibilità al grano, o ancora, le proteine come le puroindoline che influenzano caratteristiche come la durezza del chicco. La complessità e la variabilità delle proteine del glutine rendono difficile identificare e rimuovere selettivamente le componenti responsabili della celiachia e la presenza di altre proteine del grano suggerisce che le reazioni avverse possano dipendere da un insieme di fattori, inoltre, va anche tenuto in considerazione il fatto che eventuali modifiche della composizione del glutine potrebbero compromettere le proprietà tecnologiche del frumento, rendendo difficile la produzione di prodotti accettabili dal punto di vista qualitativo. Le caratteristiche strutturali delle proteine del glutine, in particolare l'elevato contenuto di prolina e glutammina e la presenza di domini ripetitivi, ne rendono difficile la digestione completa a livello gastrointestinale, portando di conseguenza, alla formazione di peptidi resistenti e biologicamente attivi che possono avere effetti biologici rilevanti. Ciò è dovuto anche alla limitata capacità degli enzimi digestivi umani di idrolizzare legami peptidici in prossimità di residui di prolina (42,44). Questi frammenti non sono solo semplici prodotti di degradazione, ma possono assumere proprietà strutturali specifiche che influenzano direttamente la loro attività biologica. Nello specifico, è stato evidenziato come i peptidi derivati dalla gliadina possano auto-assemblarsi in soluzione formando strutture quali oligomeri e fibrille, con caratteristiche simili a quelle degli amiloidi (43) (Figura 3). L'analisi dei prodotti ottenuti in seguito alla digestione della gliadina ha dimostrato che i peptidi resistenti alla proteolisi, infatti, tendono ad aggregarsi spontaneamente, dando origine a strutture di dimensioni maggiori rispetto alla proteina di partenza e capaci di interagire con sistemi biologici complessi. Questi aggregati sono stati associati all'attivazione di risposte infiammatorie a livello intestinale, suggerendo che l'elemento chiave della patogenicità non è solo la sequenza peptidica ma anche la sua organizzazione strutturale. Altre evidenze mostrano che questi peptidi possono anche formare nanoparticelle capaci di attraversare lo strato mucoso intestinale e interagire con membrane cellulari favorendo il processo infiammatorio.

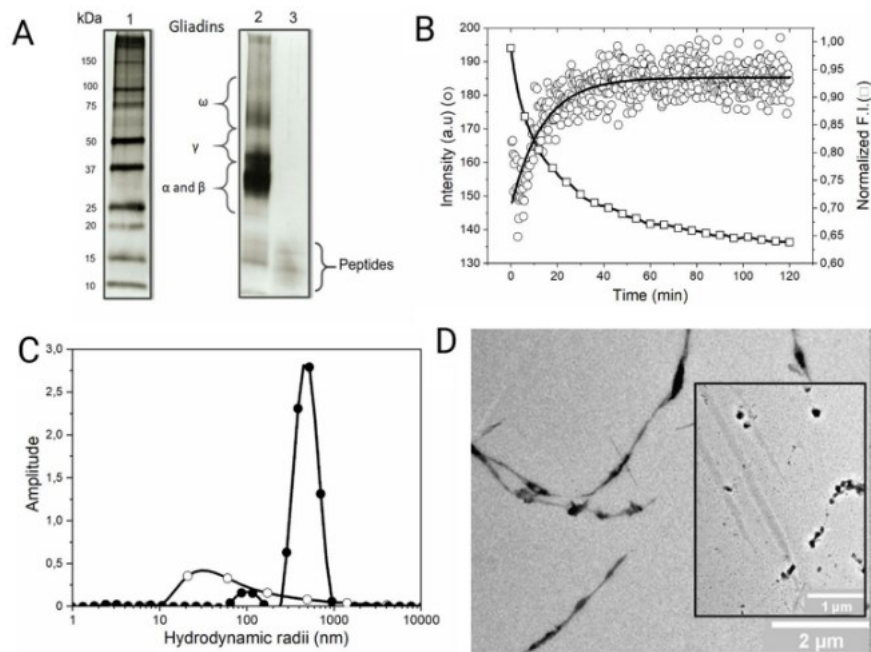


Figura 3. Analisi biochimica e biofisica dei peptidi della gliadina ottenuti mediante digestione con pepsina. (A) Analisi che evidenzia i peptidi resistenti alla digestione proteolitica, (B) Analisi cinetica della degradazione mediante fluorescenza e dynamic light scattering (DLS), che mostra la formazione progressiva di aggregati di ordine superiore. (C) Distribuzione dimensionale della gliadina nativa e dei peptidi derivati dopo digestione, determinata mediante DLS. (D) Microscopia elettronica a trasmissione (TEM) che evidenzia la presenza di oligomeri e strutture fibrillari nel digerito della gliadina (43).

Tra questi peptidi specifici spicca il 33-mer. Esso deriva dalla digestione della α -gliadina ed è in grado di attivare sia la risposta immunitaria adattativa, attraverso il legame con HLA-DQ2 dopo deamidazione da parte della transglutaminasi-2 (TG2) (45), sia l'immunità innata attraverso l'interazione con recettori Toll-like (TLR) (46). Strutturalmente questo peptide adotta una conformazione secondaria di tipo poliprolina II (PPII), che si presenta come un'elica aperta e allungata, non compatta e priva di legami a idrogeno intramolecolari, a differenza dell'alfa elica. Questa conformazione è tipica delle sequenze ricche di prolina, in quanto la rigidità di questi amminoacidi limita le rotazioni della catena polipeptidica e ostacola la formazione di strutture più compatte contribuendo alla resistenza alla digestione e favorendo una marcata tendenza all'auto-assemblaggio in oligomeri e fibrille, processo che dipende dalla concentrazione e dalle condizioni ambientali. Un altro peptide rilevante è il p31-43, che agisce principalmente sull'immunità innata. Esso induce stress cellulare, altera i processi intracellulari e contribuisce all'attivazione dell'infiammazione intestinale (47). Anche questo peptide mostra conformazione PPII, capacità di auto-assemblaggio e proprietà strutturali dipendenti dalla concentrazione (48). Questi dati sottolineano come la patogenicità dei peptidi della gliadina

non dipenda esclusivamente dalla loro sequenza, ma anche dalle loro proprietà strutturali e dalla capacità di auto-organizzarsi in strutture sopra molecolari.

CAPITOLO 2

2.1 Fattori di rischio genetici e ambientali

La celiachia è una malattia con caratteristiche simili alle patologie autoimmuni e, come molte di queste, è fortemente associata alle varianti del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe II, in particolare agli aplotipi HLA-DQ2 e HLA-DQ8. Nonostante circa il 30-40% della popolazione generale esprima uno o entrambi questi aplotipi predisponenti, essi non sono sufficienti da soli a determinare lo sviluppo della malattia e richiedono il coinvolgimento di ulteriori fattori genetici e ambientali. La malattia è altamente ereditaria e i geni del MHCII rappresentano il principale determinante genetico, ma non l'unico, poiché le varianti HLA associate alla celiachia sono presenti anche negli individui sani, e questo suggerisce che contribuiscono alla predisposizione alla malattia, ma non sono sufficienti a causarla, indicando il coinvolgimento di altri loci di suscettibilità non appartenenti al MHC II. Circa il 90% dei pazienti celiaci presenta l'aplotipo HLA-DQ2.5, mentre una minoranza presenta HLA-DQ2.2 o HLA-DQ8, associati a un rischio inferiore. Queste molecole appartengono al MHC di classe II e svolgono un ruolo fondamentale nella presentazione degli antigeni ai linfociti T e nella successiva risposta immunitaria (49). È stato dimostrato che le molecole HLA-DQ2 e HLA-DQ8 presentano i peptidi derivati dal glutine, gli stessi che favoriscono l'attivazione di una risposta immunitaria anomala nei soggetti geneticamente predisposti. A questo si aggiunge l'effetto di "dose genica", legato al numero di copie dell'allele DQB1*02. Nello specifico, gli individui omozigoti per HLA-DQ2.5 presentano una risposta immunitaria più intensa, con un'attivazione dei linfociti T fino a quattro volte superiore rispetto agli eterozigoti e un rischio aumentato di sviluppare la malattia. Inoltre, questa condizione è associata a un fenotipo clinico più severo, con esordio precoce e maggiore danno intestinale (50,51). Sebbene sia un evento raro, è possibile che si sviluppi la malattia anche in assenza degli aplotipi sopra citati, a conferma del coinvolgimento di ulteriori fattori genetici e ambientali. A supporto della componente genetica, circa il 10% dei parenti di primo grado di soggetti celiaci risulta affetto, e studi sui gemelli mostrano una concordanza significativamente maggiore nei monozigoti (75%) rispetto agli eterozigoti (10%) (52). Gli studi di associazione genome-wide (GWAS) hanno identificato oltre 40 loci di rischio non-HLA per la malattia celiaca. Questo indica che, oltre ai geni HLA, esistono numerosi altri geni coinvolti, sebbene nessuno abbia un effetto particolarmente rilevante. Questi geni non modificano direttamente le proteine, ma regolano l'espressione genica, localizzandosi in regioni non codificanti del

genoma (53). I geni non-HLA identificati sono coinvolti principalmente nella regolazione del sistema immunitario, in particolare nell'attivazione dei linfociti T e B e nella produzione di citochine, e mostrano una sovrapposizione con quelli associati ad altre malattie autoimmuni, come diabete mellito di tipo 1 o artrite reumatoide (54). La componente genetica responsabile dello sviluppo della malattia non è ancora del tutto nota e sono in corso studi sempre più approfonditi per capire meglio il ruolo dei diversi geni coinvolti. Sembra chiaro, tuttavia, che pur essendo coinvolti numerosi fattori genetici, gli allotipi HLA rappresentano il principale elemento predisponente. È importante sottolineare che, anche in presenza di un elevato rischio genetico, non tutti gli individui sviluppano la malattia e alcuni presentano esclusivamente la comparsa di anticorpi. Riguardo ai fattori ambientali che portano ad una maggiore insorgenza della malattia, troviamo il microbiota intestinale, che sembra avere un ruolo rilevante sia nel mantenimento della tolleranza immunitaria, sia nei processi che portano allo sviluppo della risposta patologica. L'interazione tra quest'ultimo e il sistema immunitario sembra svolgere un ruolo fondamentale. Sebbene il glutine rappresenti il fattore scatenante indispensabile, la sua assunzione non è quindi sufficiente a spiegare perché solo una parte degli individui predisposti sviluppi celiachia, infatti la differenza di prevalenza osservata tra popolazioni con caratteristiche genetiche e abitudini alimentari simili suggerisce il coinvolgimento di ulteriori fattori ambientali e tra questi sono stati ampiamente studiati l'alimentazione nei primi anni di vita, l'uso di antibiotici e le modalità di parto (Tabella 1). L'interesse verso il ruolo dell'alimentazione infantile è nato in seguito all'aumento dell'incidenza della celiachia nei bambini in Svezia negli anni '80, in concomitanza con modifiche delle raccomandazioni nutrizionali che prevedevano il posticipo dell'introduzione del glutine (55). Questo fenomeno, tuttavia, si è verificato parallelamente ad un incremento del contenuto di glutine negli alimenti per lattanti a variazioni nelle abitudini di allattamento, rendendo così difficile identificare con precisione quale fattore fosse il responsabile dell'aumento dei casi riscontrati (56). Inizialmente alcuni studi avevano suggerito che sia un'introduzione troppo precoce (<4 mesi) sia troppo tardiva (>7 mesi) del glutine potesse aumentare il rischio di sviluppare la malattia, in realtà, dati più recenti non hanno confermato in modo significativo il ruolo del timing di introduzione del glutine né quello dell'allattamento al seno (57,58). Importante, non è stata approfondita solo l'analisi sulle tempistiche di somministrazione di glutine, ma anche la quantità di glutine somministrata durante la prima infanzia, in quanto alcuni studi hanno evidenziato un'associazione tra un consumo maggiore di glutine nei primi anni di vita e un aumento dello sviluppo della celiachia, mentre altri non hanno riscontrato una correlazione significativa, se non in specifici sottogruppi con predisposizioni genetiche, indicando ulteriormente che il ruolo

del glutine, pur essendo fondamentale, non è l'unico fattore che entra in gioco quando si tratta dell'insorgenza della malattia.

Risk factor	Effect on CeD risk
GLUTEN INGESTION	
Age at gluten introduction (timing)	No association
Amount of gluten introduction	Conflicting data
INFECTIONS	
Infections (overall)	Increased
Infections (gastrointestinal)	Increased
Rotavirus	Increased
Reovirus	Past infection associated with CeD and possible mechanism established
<i>Helicobacter pylori</i>	Conflicting data
PERI-NATAL FACTORS	
Season of birth	Increased risk if born in summer
Elective cesarean section	No association
Geographic location	Possibly increased with northern latitude (single study)
Socio-economic status	Increased risk with higher SES
Maternal gluten consumption	No association
MEDICATIONS	
Proton Pump Inhibitors (PPI)	Increased
Antibiotics	No increased risk
Maternal iron supplementation	Conflicting data
Vitamin D	No association

Tabella 1: Fattori ambientali potenzialmente associati all'insorgenza della malattia celiaca (206).

Riguardo alle infezioni, invece, sono state proposte come possibili fattori di rischio se contratte durante i primi anni di vita del bambino, tant'è che diversi studi hanno osservato una maggiore frequenza di infezioni nei bambini che successivamente sviluppano la malattia (59). I meccanismi di questa associazione non sono stati ancora del tutto chiariti, ma si pensa che le infezioni gastrointestinali possano aumentare la permeabilità della mucosa intestinale, facilitando il passaggio dei peptidi del glutine e potrebbero stimolare l'espressione della tTG, favorendo la formazione di peptidi maggiormente immunogenici. Un'ulteriore ipotesi è rappresentata dal mimetismo molecolare, attraverso il quale antigeni di origine microbica potrebbero indurre una risposta immunitaria crociata contro il glutine. L'uso invece, di antibiotici nei primi anni di vita e le modalità di parto sono stati studiati come possibili fattori di rischio, in quanto in grado di influenzare la composizione del microbiota intestinale influenzando a sua volta lo sviluppo della celiachia (59), ma i risultati dei vari studi non sono

ancora concordanti. In particolare, studi più recenti e su larga scala non hanno evidenziato un'associazione significativa tra parto cesareo o uso di antibiotici e aumento del rischio di malattia, tuttavia, non si può escludere che tali fattori possano contribuire indirettamente allo sviluppo della celiachia attraverso, come già evidenziato, modificazioni del microbiota. Il già citato microbiota intestinale rappresenta quindi uno dei principali fattori ambientali emergenti nello studio della celiachia, in quanto svolge un ruolo cruciale nella regolazione del sistema immunitario e nel mantenimento della tolleranza verso gli antigeni alimentari, quindi, alterazioni della sua composizione, note come disbiosi, possono contribuire alla perdita di tolleranza al glutine nei soggetti predisposti. Studi più recenti hanno evidenziato differenze nella composizione del microbiota intestinale nei pazienti celiaci rispetto ai soggetti sani, sia a livello fecale e sia duodenale. In particolare, è stato osservato un aumento di batteri potenzialmente pro-infiammatori, come quelli appartenenti ai generi *Bacteroides* e *Proteobacteria* e una riduzione di specie buone, come *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Alcuni studi suggeriscono quindi, che questa disbiosi intestinale sia in grado di influenzare la risposta immunitaria e l'integrità della barriera intestinale. Inoltre, alcuni microrganismi intestinali sono coinvolti nel metabolismo del glutine stesso, potendo influenzare la produzione di peptidi più o meno immunogenici (60). Oltre ai fattori già descritti, un ulteriore interesse va ai soggetti geneticamente definiti a rischio, nei quali sono state osservate differenze nella composizione del microbiota già nelle prime fasi della vita, che potrebbero contribuire a modulare la risposta immunitaria e influenzare il rischio di sviluppo della malattia. Per cui diversi fattori, tra cui infezioni, uso di antibiotici e modalità di nascita, possono influenzarne la composizione, modificando l'equilibrio tra risposta immunitaria e tolleranza e modificando di conseguenza la permeabilità intestinale e la risposta immunitaria al glutine, rappresentando quindi un elemento chiave nell'interazione tra fattori ambientali e predisposizione genetica.

2.2 Patogenesi e meccanismi immunitari

Dal punto di vista immunopatogenico, la malattia celiaca rappresenta un modello di interazione tra antigeni alimentari, modificazioni post-traduzionali e risposta immunitaria, coinvolgendo sia l'immunità innata sia quella adattativa e determinando un danno tissutale specifico. I peptidi del glutine vengono deamidati dalla TG2, un enzima rilasciato da diversi tipi cellulari, tra cui cellule epiteliali intestinali e fibroblasti. La sua espressione aumenta in condizioni infiammatorie e in presenza di disbiosi intestinale. I peptidi deamidati vengono quindi presentati ai linfociti TCD4⁺ nei siti induttivi del sistema immunitario intestinale

(GALT), inducendo una risposta adattativa caratterizzata dalla produzione di citochine pro-infiammatorie (61,62). I complessi TG2-glutine possono inoltre essere riconosciuti dalle cellule B specifiche per TG2 o per il glutine. Dopo l'internalizzazione del complesso, le cellule B presentano peptidi del glutine ai linfociti TCD4⁺, favorendo la produzione di autoanticorpi anti-TG2 e anti-peptidi del glutine deamidati e contribuendo al mantenimento di un circuito immunitario pro-infiammatorio. Allo stesso tempo, citochine come IL-15 promuovono l'attivazione dei linfociti intraepiteliali citotossici (IEL), che riconoscono segnali di stress espressi dagli enterociti e ne mediano la distruzione, contribuendo allo sviluppo della lesione mucosale (63) (Figura 4).

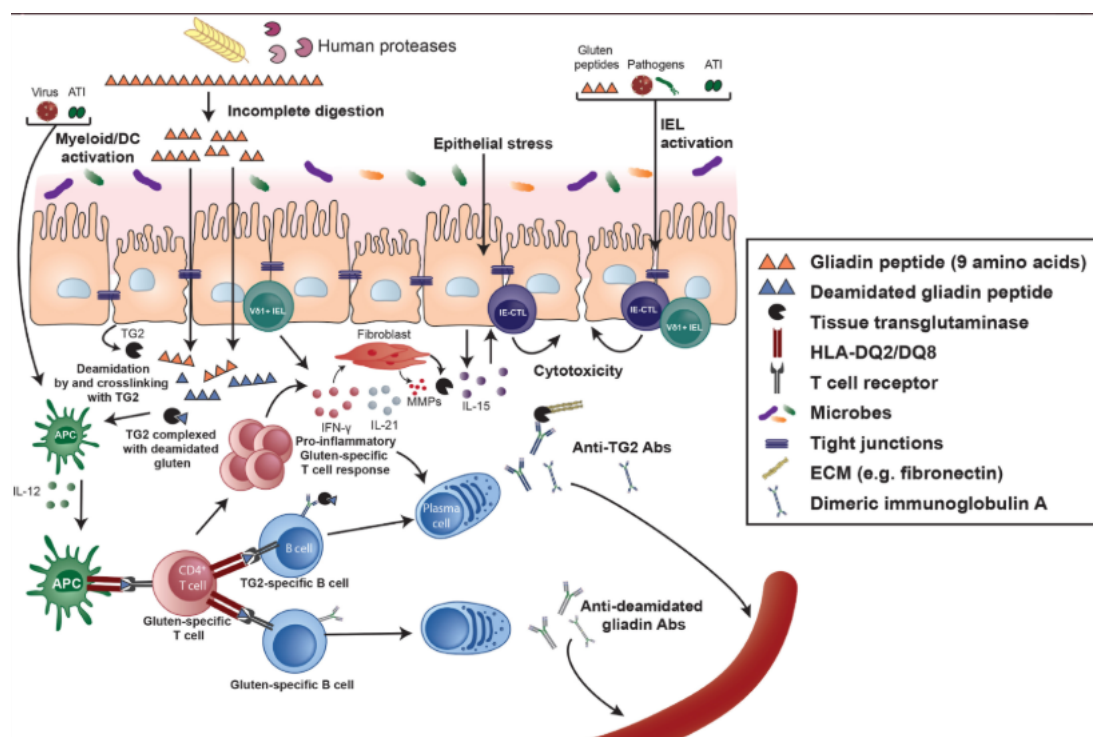


Figura 4. Interazione tra glutine, TG2 e sistema immunitario nella patogenesi della celiachia. I peptidi del glutine, parzialmente digeriti dagli enzimi dell'ospite e dal microbiota intestinale, raggiungono la lamina propria dove vengono deamidati dalla TG2. I peptidi deamidati si legano con elevata affinità alle molecole HLA-DQ2/DQ8 sulle APC, determinando l'attivazione dei linfociti T specifici per il glutine e la successiva attivazione delle cellule B produttrici di anticorpi anti-glutine e anti-TG2. I complessi TG2-glutine sostengono un circuito pro-infiammatorio che contribuisce al danno mucosale intestinale. Il microbiota intestinale può inoltre modulare l'immunogenicità del glutine e la risposta immune associata alla malattia (72).

Il glutine rappresenta l'antigene scatenante della malattia, le sue proteine sono ricche in prolina e glutammina, sono resistenti alla degradazione enzimatica intestinale e determinano la persistenza di lunghi peptidi nel lume intestinale (64). Tra questi, il peptide 33-mer costituisce uno dei principali frammenti immunogenici, essendo altamente resistente alla proteolisi e

contenendo numerosi epitopi immunodominanti (65). I peptidi del glutine possono attraversare l'epitelio intestinale attraverso meccanismi sia transcellulari sia paracellulari. In condizioni di malattia attiva, l'aumentata permeabilità intestinale altera l'integrità delle tight junctions, facilitando il passaggio degli antigeni. Questo fenomeno è mediato anche dall'interazione della gliadina con il recettore CXCR3 e dal rilascio di zonulina, una proteina regolatrice delle tight junctions che ne promuove la disgregazione e facilita il passaggio paracellulare dei peptidi del glutine nella lamina propria (66). Una volta nella lamina propria, questi peptidi rappresentano substrati per la TG2, che ne catalizza la deamidazione convertendo residui di glutammina in acido glutammico e aumentandone l'immunogenicità (62). La TG2 è un enzima calcio-dipendente ubiquitariamente espresso e svolge un ruolo cruciale nella patogenesi della malattia attraverso la modificazione post-traduzionale dei peptidi del glutine. Dal punto di vista biochimico, catalizza reazioni attraverso la formazione di un intermedio tioestere tra il residuo catalitico di cisteina e il substrato proteico. Questo intermedio può evolvere verso reazioni di transamidazione o deamidazione e nel contesto intestinale, il pH leggermente acido favorisce prevalentemente la deamidazione (Figura 5).

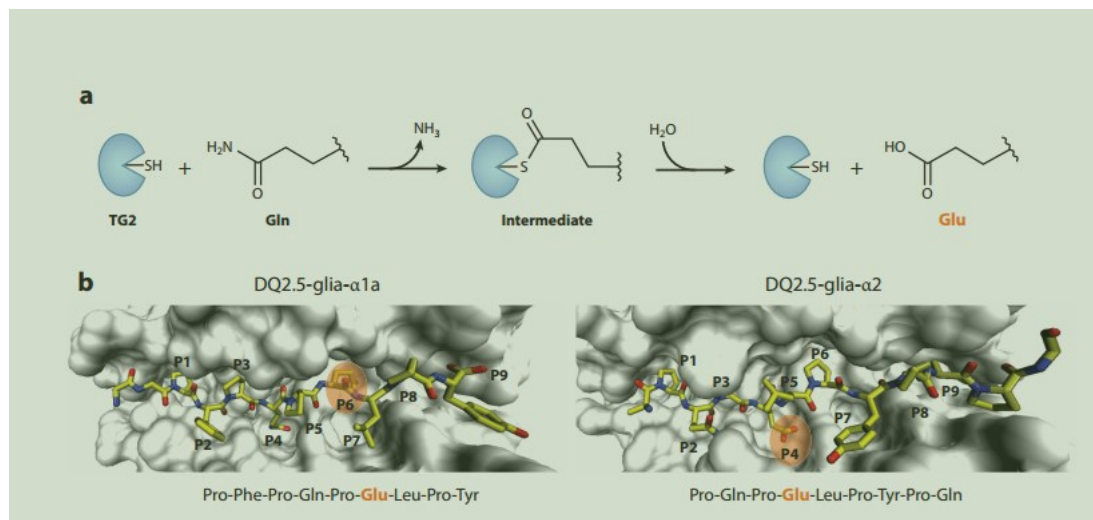


Figura 5. Ruolo della TG2 nella deamidazione dei peptidi del glutine. La TG2 catalizza la conversione dei residui di glutammina in acido glutammico, introducendo, al pH fisiologico intestinale, cariche negative nei peptidi del glutine (COO⁻). Questa modificazione aumenta l'affinità per le molecole HLA-DQ2 e DQ8, favorendo la presentazione antigenica ai linfociti T CD4⁺ e la generazione di epitopi immunogenici (207).

La conversione dei residui di glutammina in glutammato modifica le proprietà di legame dei peptidi del glutine con le molecole HLA-DQ2 e HLA-DQ8, favorendone la presentazione antigenica ai linfociti TCD4⁺ (61). Inoltre, la formazione di complessi TG2-glutine contribuisce all'attivazione delle cellule B specifiche per TG2, collegando direttamente la risposta autoimmune alla presenza dell'antigene alimentare. L'attività della TG2 aumenta in

condizioni infiammatorie e la sua elevata espressione negli enterociti ne facilita l'interazione con il glutine. (67). Il ruolo centrale del glutine è confermato dal fatto che la sua eliminazione dalla dieta determina regressione delle lesioni mucosali, mentre la sua reintroduzione induce nuovamente la risposta immunitaria e la produzione di citochine pro-infiammatorie (64). La predisposizione genetica alla malattia è strettamente associata alle molecole HLA-DQ2 e HLA-DQ8, che mediano la presentazione antigenica ai linfociti TCD4⁺. I peptidi deamidati del glutine si legano con elevata affinità al solco di legame HLA grazie alle cariche negative introdotte dalla reazione di deamidazione. L'attivazione e l'espansione dei linfociti TCD4⁺ rappresentano un passaggio centrale nello sviluppo della malattia e contribuiscono alla progressione verso l'atrofia dei villi. Queste cellule producono IFN- γ , IL-21 e CXCL13, mostrando caratteristiche di cellule memoria effettrice e T follicolari helper (61, 68). L'intensità della risposta dipende dal genotipo HLA e dalla disponibilità di epitopi immunogenici. L'attivazione dei linfociti T avviene nei siti induttivi del sistema immunitario intestinale, come il GALT e i linfonodi mesenterici, seguita dalla migrazione delle cellule effettrici verso la mucosa intestinale. In condizioni fisiologiche si instaura una condizione di tolleranza immunologica, mentre nella malattia si sviluppa una risposta immune anomala e persistente. I linfociti B contribuiscono alla patogenesi producendo autoanticorpi anti-TG2 e anti-peptidi deamidati. Possono inoltre agire come APC, internalizzando i complessi TG2-glutine e presentando i peptidi ai linfociti TCD4⁺. La cooperazione tra i linfociti T e B è fondamentale per la produzione anticorpale e l'amplificazione della risposta immunitaria. Nella lamina propria si osserva una marcata plasmocitosi con produzione di IgA, IgM e IgG. Gli anticorpi non sono direttamente responsabili del danno tissutale, ma riflettono lo stato di attivazione immunitaria (69). Gli IEL aumentano significativamente nella mucosa intestinale e rappresentano i principali effettori del danno tissutale. Essi acquisiscono un fenotipo citotossico caratterizzato dall'espressione di recettori NK-like (NKG2D, CD94/NKG2C) e dalla perdita di recettori inibitori. Gli enterociti, in condizioni di stress, esprimono ligandi come MIC-A/MIC-B e HLA-E, che attivano gli IEL e ne promuovono la citotossicità (Figura 6). Gli IEL producono perforina, granzima B e IFN- γ contribuendo al danno epiteliale. L'IL-15 svolge un ruolo fondamentale nell'attivazione, nell'espansione e nella riduzione della soglia di attivazione degli IEL (63,70).

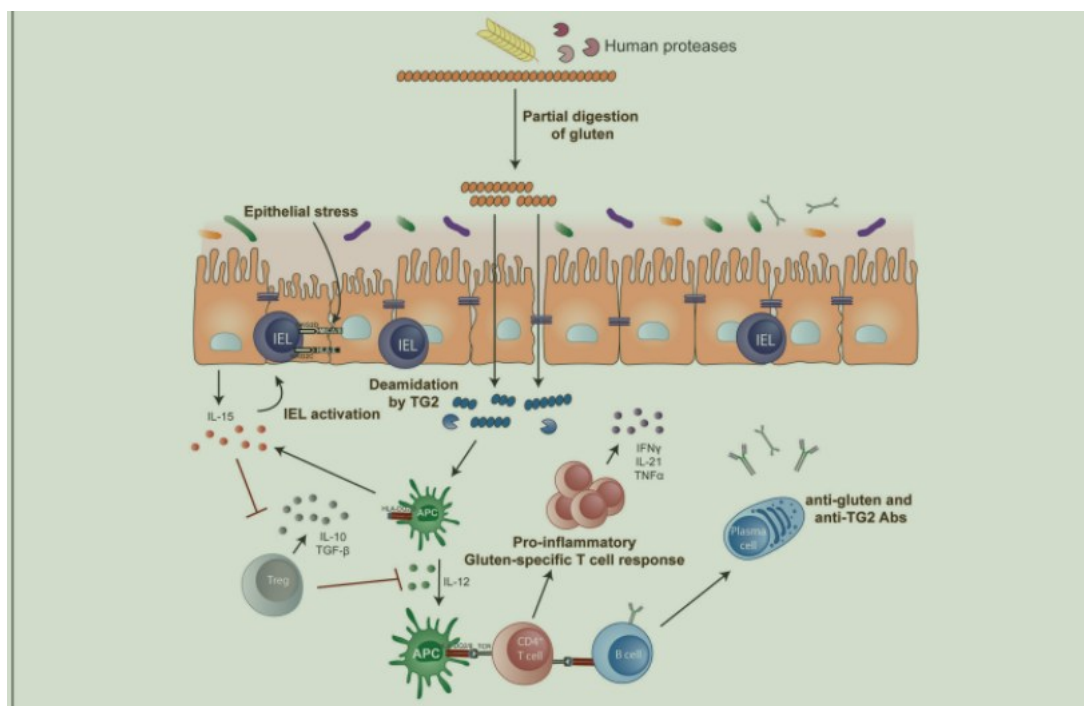


Figura 6. Attivazione degli IEL e danno mucosale nella celiachia. Gli enterociti in condizioni di stress esprimono ligandi come MIC-A/MIC-B e HLA-E, che attivano IEL tramite recettori NK-like. L'IL-15 potenzia la risposta citotossica, favorendo il rilascio di perforina e granzimi e la distruzione degli enterociti (206).

L'ambiente citochinico della mucosa intestinale è dominato da IFN- γ . Le chemochine CXCL10 e CXCL11 favoriscono il reclutamento cellulare, mentre l'IL-15 amplifica la risposta citotossica. L'IL-21 supporta invece la differenziazione delle plasmacellule e il mantenimento della risposta immunitaria. La perdita di tolleranza immunologica è associata a una disfunzione delle cellule T regolatorie e all'azione dell'IL-15, che interferisce con i meccanismi immunoregolatori mediati da TGF- β (71). La perdita della tolleranza immunologica al glutine rappresenta un passaggio fondamentale nella patogenesi della malattia. In condizioni fisiologiche, le cellule T regolatorie contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi intestinale e della tolleranza verso gli antigeni alimentari. Nella celiachia, tuttavia, l'ambiente pro-infiammatorio caratterizzato da elevate concentrazioni di IFN- γ e IL-15 compromette i meccanismi immunoregolatori, rendendo insufficiente l'azione soppressiva delle cellule T regolatorie e favorendo il mantenimento della risposta immune patologica.

2.3 Danno alla mucosa intestinale con atrofia dei villi

Il danno della mucosa intestinale rappresenta la fase finale del processo patogenetico della malattia celiaca ed è il responsabile delle principali alterazioni strutturali e funzionali dell'intestino tenue. L'interazione tra risposta immunitaria adattativa, attivazione degli IEL e

stress epiteliale svolge un ruolo determinante nella distruzione degli enterociti e nel progressivo rimodellamento della mucosa intestinale, che porta allo sviluppo dell'atrofia dei villi e dell'iperplasia delle cripte (61,63,70). Dal punto di vista morfologico, queste alterazioni si caratterizzano per l'appiattimento dei villi, l'iperplasia delle cripte e la perdita della normale architettura mucosale, con conseguente riduzione della superficie assorbente e compromissione dei processi di digestione e assorbimento (67). L'atrofia dei villi comporta una riduzione della loro altezza fino alla completa scomparsa della normale struttura, determinando una superficie mucosale appiattita e meno efficiente nell'assorbimento dei nutrienti. Allo stesso modo, le cripte intestinali appaiono allungate e iperplastiche, espressione di un aumento dell'attività proliferativa delle cellule staminali epiteliali. Tale fenomeno rappresenta un tentativo compensatorio di rigenerazione della mucosa danneggiata (67,69) (Figura 7).



Figura 7. Differenti popolazioni di linfociti T della mucosa intestinale nelle varie fasi attraversate da un soggetto celiaco. Nella mucosa sana predominano IEL CD8+ con fenotipo regolatorio (rosa) e linfociti fisiologici (grigio). Nella celiachia attiva aumentano gli IEL citotossici NK-like (rosso e blu), associati alla produzione di perforina e granzimi e al danno epiteliale. Nella lamina propria si accumulano linfociti T CD4+ glutine-specifici (giallo) produttori di citochine pro-infiammatorie. Dopo il trattamento con dieta senza glutine si osserva una riduzione dell'attivazione immunitaria, con persistenza di alcune popolazioni linfocitarie (blu) (208).

Un elemento caratteristico della lesione è l'infiltrato infiammatorio presente sia a livello dell'epitelio, sia della lamina propria. Si osserva un aumento degli IEL, considerato uno dei segni istologico più precoci della malattia. Nella lamina propria è inoltre presente un accumulo di plasmacellule e altre cellule infiammatorie che contribuiscono al mantenimento dello stato infiammatorio (63,67). A livello epiteliale c'è un'alterazione del normale turnover cellulare ed infatti gli enterociti vengono prodotti più rapidamente, ma presentano un grado di maturazione ridotto e questa condizione determina una perdita precoce delle cellule funzionalmente competenti sulla superficie dei villi, con ulteriore compromissione della funzione assorbente (69). La distruzione degli enterociti compromette l'integrità della barriera intestinale e favorisce il progressivo rimodellamento della mucosa. La combinazione tra atrofia dei villi e iperplasie delle cripte determina una marcata riduzione della superficie disponibile per

l'assorbimento, causando malassorbimento di nutrienti, vitamine e minerali (67,70). Come evidenziato in Figura 7 l'eliminazione del glutine dalla dieta consente, nella maggior parte dei casi, una regressione almeno parziale delle alterazioni morfologiche della mucosa intestinale, confermando il ruolo centrale del glutine nel mantenimento del danno alla mucosa (64).

CAPITOLO 3

3.1 Approccio diagnostico alla malattia celiaca

La diagnosi della celiachia rappresenta un processo complesso che richiede l'integrazione di dati clinici, sierologici, istologici e genetici. La comprensione dei meccanismi immunopatogenetici alla base della malattia ha permesso, nel corso degli anni, lo sviluppo di strumenti diagnostici sempre più sensibili e specifici, in grado di identificare precocemente i soggetti affetti e quindi ridurre il rischio di complicanze associate a una diagnosi tardiva. Attualmente non esiste un singolo test in grado di confermare la presenza della celiachia. Infatti, la diagnosi si basa sulla combinazione di manifestazioni cliniche, positività dei test sierologici specifici, evidenza di alterazioni dei villi intestinali mediante biopsia della mucosa duodenale e, in casi selezionati, valutazione della predisposizione genetica. L'impiego di biomarcatori ha l'obiettivo di migliorare la diagnosi anche nelle forme meno tipiche della malattia, che sfociano in episodi extra intestinali. Negli ultimi anni, inoltre, le linee guida internazionali hanno introdotto nuovi algoritmi diagnostici volti a semplificare il percorso diagnostico, riducendo in alcuni casi la necessità della biopsia intestinale. I biomarcatori nella celiachia risultano quindi essere necessari per diversi scopi tra cui, screening della malattia, identificazione e previsione dell'enteropatia, individuazione delle complicanze, monitoraggio della malattia e valutazione dell'aderenza alla GFD (Figura 8).

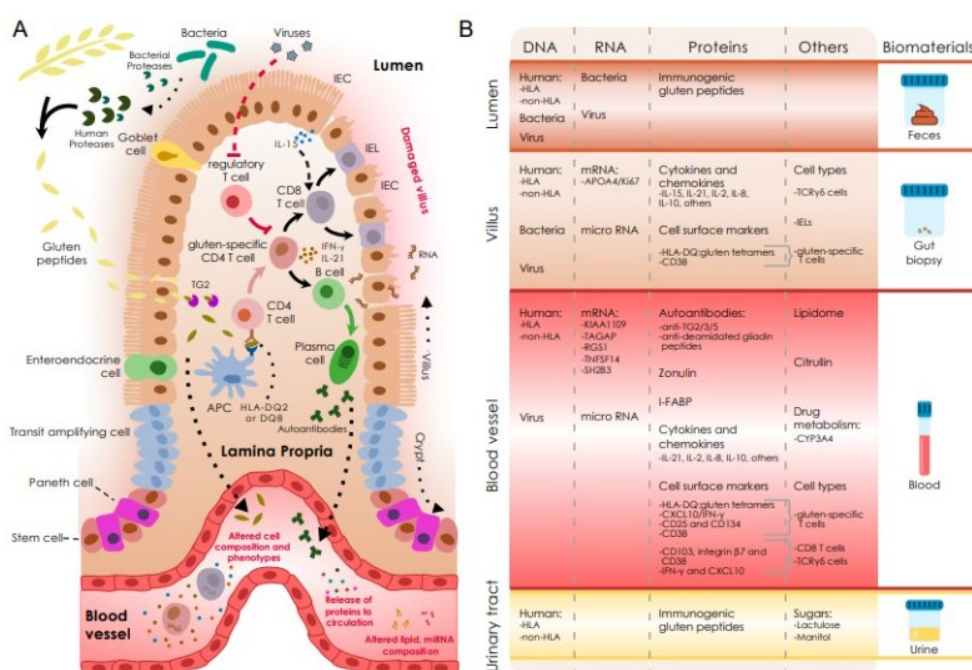


Figura 8: Principali biomarcatori studiati nella celiachia, con relative applicazioni diagnostiche e di monitoraggio (73)

3.2 Biomarcatori sierologici

I test sierologici rappresentano il primo livello di indagine nello screening dei pazienti con sospetta malattia celiaca. Essi consentono di identificare la presenza di anticorpi specifici correlati alla risposta autoimmune indotta dal glutine e costituiscono uno strumento fondamentale nella pratica clinica.

- ***Anticorpi anti-transglutaminasi tissutale***

Gli Anticorpi anti-transglutaminasi tissutale (anti-tTG) rappresentano gli anticorpi più comunemente utilizzati in quanto hanno un'elevata sensibilità e specificità e la loro rilevazione sierica tramite test ELISA riduce i costi e abbrevia i tempi diagnostici. Gli anti-tTG comunemente impiegati nello screening della malattia sono diretti contro l'isoenzima TG2, tuttavia, sono state identificate altre isoforme coinvolte in differenti patologie glutine-correlate, come gli anticorpi anti-tTG3 nella dermatite erpetiforme (76), o gli anti-tTG6 nell'atassia da glutine.

- ***Test point-of-care (POCT)***

I Test point-of-care (POCT) sono semplici da eseguire e non richiedono né laboratori specializzati né personale altamente qualificato e garantiscono tempi di risposta rapidi. La maggior parte dei POCT è costituita da test immunocromatografici eseguiti mediante sangue intero o siero applicati su una striscia reattiva (78). Il risultato viene interpretato visivamente dopo pochi minuti tramite la presenza di una linea nel campo di lettura che ne indica la positività. Il test si basa principalmente sulla ricerca degli anticorpi anti-transglutaminasi tissutale di classe IgA (tTG-IgA), o in alcuni casi su anticorpi anti-gliadina deamidata (DGP).

Tra gli anticorpi utilizzati in un secondo livello della diagnosi della malattia celiaca troviamo quelli elencati di seguito.

- ***Anticorpi anti-gliadina***

Gli anticorpi anti-gliadina (AGA) sono diretti contro la gliadina, una prolamina presente nel grano e in altri cereali quali orzo, farro e segale. Esistono due principali classi di AGA: IgA-AGA e IgG-AGA. Questi vengono oggi usati nell'identificazione di altri disturbi glutine-correlati, quali sensibilità al glutine non celiaca o atassia da glutine, mentre non vengono più utilizzati in modo routinario nell'ambito della diagnosi di celiachia in quanto sono stati sostituiti da test sierologici più affidabili.

- ***Anticorpi anti-endomisio***

Gli Anticorpi anti-endomisio (EMA) sono diretti contro la muscolatura liscia. All'inizio veniva usato come substrato l'esofago di scimmia, e successivamente l'impiego di cordone ombelicale umano che ha migliorato la sensibilità e la specificità del test. Nonostante l'elevata specificità, il dosaggio degli EMA richiede una metodica di analisi molto laboriosa e dispendiosa (74).

- ***Anticorpi anti-peptidi deamidati della gliadina***

Gli anticorpi anti-peptidi deamidati della gliadina (DGP) sono diretti contro i peptidi della gliadina sottoposti a deamidazione. Inizialmente sono stati considerati sensibili e specifici come gli anti-tTG, tuttavia studi più recenti hanno dimostrato che gli anti-tTG rimangono il test sierologico più affidabile per questo tipo di diagnosi (75)

I test sierologici potrebbero dare risultati falsi positivi in quanto potrebbero verificarsi reazioni crociate tra gli anticorpi, in condizioni quali ad esempio infezioni enteriche. Inoltre, i test dovrebbero essere eseguiti quando il paziente assume una dieta contenente glutine, poiché una dieta povera o priva di glutine può determinare falsi negativi come risultati. Oltre a questo, anche il deficit di IgA, presente in un 2-3% della popolazione generale, può causare risultati falsi negativi, per cui conviene ricorrere a test basati sulle IgG, come IgG anti-DGP o IgG anti-tTG. Fortunatamente, diversi kit commerciali danno la possibilità di utilizzare antigeni differenti e quindi mostrare sensibilità e specificità diverse. In aggiunta l'accuratezza dei test potrebbe variare anche in base all'etnia. Per cui è sempre bene interpretare i risultati dei test sierologici tenendo conto del contesto clinico e, quando necessario, integrarli con altri esami diagnostici più specifici anche se più invasivi.

3.3 Biopsia duodenale e danno mucosale

La biopsia duodenale rappresenta ancora oggi il gold standard per la conferma diagnostica della celiachia, soprattutto nei pazienti adulti. L'esame istologico consente infatti di valutare direttamente le alterazioni della mucosa intestinale indotte dall'esposizione al glutine, permettendo di definire il grado di enteropatia e di distinguere la celiachia da altre condizioni associate a malassorbimento o atrofia dei villi. Le principali alterazioni caratteristiche della malattia comprendono:

- aumento dei Linfociti Intraepiteliali (IEL)

- iperplasia delle cripte
- atrofia dei villi intestinali

Queste lesioni sono state descritte nella classificazione di Marsh, successivamente modificata da Oberhuber, ancora oggi ampiamente utilizzata nella pratica clinica per definire la gravità del danno alla mucosa (79,81). Dal punto di vista endoscopico, la celiachia può presentarsi con alterazioni macroscopiche della mucosa duodenale, come fissurazioni o il caratteristico aspetto nodulare “a mosaico”. Tuttavia, una parte dei pazienti di nuova diagnosi, presenta una mucosa apparentemente normale all’endoscopia e per questo motivo, quando vi è il sospetto clinico di celiachia è necessario eseguire comunque biopsie duodenali.

La classificazione di Marsh distingue i diversi gradi di danno mucosale (Figura 9):

- Marsh 0: mucosa normale
- Marsh 1: aumento degli IEL (>25 IEL/100 enterociti) con architettura villare conservata
- Marsh 2: aumento degli IEL associato a iperplasia delle cripte
- Marsh 3: presenza di atrofia villare di grado variabile, suddivisa in parziale (3a), subtotala (3b) e totale (3c) (81).

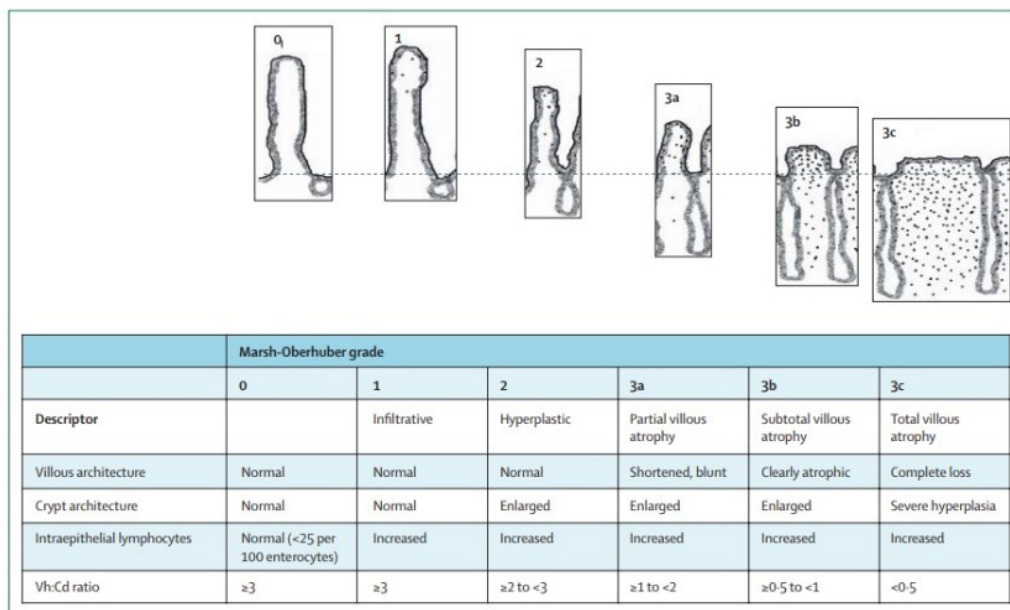


Figura 9: Rappresentazione della classificazione di Marsh-Oberhuber per definire la gravità del danno alla mucosa (80).

Tra le alterazioni istologiche, l’aumento diffuso e uniforme degli IEL rappresenta una delle manifestazioni più precoci e sensibili della celiachia, pur non essendo specifico esclusivamente di questa malattia. Per questo motivo, nelle forme Marsh 1 è necessario effettuare una diagnosi differenziale con altre condizioni, tra cui infezione da *Helicobacter pylori*, utilizzo di farmaci

o presenza di altre patologie autoimmuni. L'atrofia dei villi costituisce invece il principale segno istologico della malattia e tende a regredire dopo l'introduzione della GFD. Tuttavia, il recupero completo della mucosa può richiedere mesi o anni e, in alcuni pazienti, potrebbe non essere raggiunto completamente nonostante una rigorosa aderenza alla dieta (83). Dal punto di vista della procedura, le linee guida raccomandano l'esecuzione di multiple biopsie duodenali, comprendenti campioni prelevati sia dal bulbo duodenale sia dalla seconda porzione del duodeno, al fine di ridurre il rischio di falsi negativi dovuti alla distribuzione disomogenea delle lesioni mucosali (82). Inoltre, il corretto orientamento dei campioni biopsici è fondamentale per una valutazione accurata dell'atrofia dei villi. Negli ultimi anni, l'introduzione di nuove tecniche endoscopiche ha migliorato la valutazione del danno mucosale. Tra queste ci sono la cromoendoscopia, l'endomicroscopia confocale e la videocapsula endoscopica, tutte metodiche che consentono una visualizzazione più dettagliata dell'atrofia villare e dell'estensione delle lesioni intestinali, pur senza sostituire completamente l'esame istologico tradizionale (86). Nonostante il ruolo centrale della biopsia nella diagnosi della celiachia, la natura invasiva dell'esame, la possibilità di errori di campionamento e la variabilità interpretativa tra patologi hanno stimolato la ricerca di biomarcatori non invasivi in grado di identificare il danno intestinale e monitorare la risposta alla GFD. Come già accennato, negli ultimi anni il ruolo della biopsia duodenale nella diagnosi della celiachia è stato progressivamente rivalutato. Le più recenti linee guida hanno infatti introdotto, anche nell'adulto, la possibilità di una diagnosi "no-biopsy" in casi selezionati, in particolare nei soggetti di Et  <45 anni, con valori di IgA anti-TG2 ≥ 10 volte il limite superiore della norma e che non presentano sintomi allarmanti, come disfagia, sanguinamento gastrointestinale o segni di ostruzione intestinale che renderebbero necessaria l'endoscopia. Questo approccio deriva dall'elevata accuratezza diagnostica dei moderni test sierologici dimostrata negli ultimi anni (84,85). Tuttavia, l'approccio no-biopsy richiede alcune condizioni fondamentali, tra cui la conferma del risultato sierologico su un secondo campione ematico indipendente, il mantenimento di una dieta contenente glutine fino a conclusione dell'iter diagnostico e la valutazione del paziente in un contesto specialistico. Nonostante queste nuove prospettive diagnostiche, la biopsia continua a mantenere un ruolo centrale nella pratica clinica. Le linee guida ribadiscono infatti che nei pazienti non candidabili all'approccio no-biopsy, devono essere comunque eseguite almeno quattro biopsie del duodeno distale e due del bulbo duodenale (82).

3.4 Test genetici

Tipizzazione degli aplogruppi HLA-DQ

Come precedentemente accennato, la celiachia è fortemente associata agli antigeni leucocitari umani (HLA). Circa il 95% dei pazienti affetti dalla malattia esprime infatti l'aplotipo HLA-DQ2, mentre il restante 5% presenta gli alleli HLA-DQ8. Si stima che i geni HLA contribuiscano a circa il 40% della predisposizione genetica alla celiachia, mentre il restante rischio genetico sia attribuibile a geni non-HLA (87). Nonostante la forte associazione genetica, la tipizzazione HLA non è sufficiente da sola per diagnosticare la malattia, poiché gli aplogruppi HLA-DQ2 e HLA-DQ8 sono presenti anche in una parte significativa della popolazione generale sana. Tuttavia, il test HLA-DQ possiede un elevato valore predittivo negativo e ciò significa che un soggetto negativo per HLA-DQ2/DQ8 ha una probabilità molto bassa di essere celiaco (87). Per questo motivo, la tipizzazione HLA trova maggiore utilità nei casi dubbi o nei pazienti che abbiano già intrapreso una GFD prima del completamento dell'iter diagnostico.

3.5 Biomarcatori dell'enteropatia e del danno intestinale

L'atrofia dei villi rappresenta il principale segno istologico della celiachia e tende a regredire dopo l'introduzione della GFD. Tuttavia, il recupero completo della mucosa intestinale può richiedere mesi o addirittura anni e, in alcuni pazienti, potrebbe non essere raggiunto completamente nonostante una rigorosa aderenza alla dieta (83). Gli enterociti sono cellule altamente specializzate coinvolte nell'assorbimento dei nutrienti e nella secrezione enzimatica. Poiché il tratto intestinale è costantemente esposto a stimoli meccanici e chimici, l'epitelio intestinale è caratterizzato da un rapido turnover cellulare e la maggior parte delle cellule epiteliali viene infatti sostituita ogni 3-5 giorni. Questo continuo rinnovamento dipende dalle cellule staminali localizzate alla base delle cripte intestinali, che migrano progressivamente verso l'apice dei villi differenziandosi in enterociti assorbenti o in cellule secernenti mature (88). Nella mucosa intestinale dei pazienti celiaci si osservano numerose alterazioni strutturali e cellulari, tra cui aumento degli IEL, incremento dell'apoptosi enterocitaria, accelerazione dei processi rigenerativi, riduzione dell'altezza dei villi e diminuzione della massa enterocitaria. A queste modificazioni si associa inoltre un aumento delle cellule infiammatorie della mucosa, determinando uno squilibrio tra danno epiteliale e capacità rigenerativa dell'intestino (89). Negli ultimi anni è cresciuto l'interesse verso biomarcatori capaci di identificare il danno enterocitario e l'atrofia dei villi in modo non

invasivo. L'utilizzo di questi marker potrebbe infatti ridurre il ricorso alla biopsia duodenale e facilitare il monitoraggio della malattia e della risposta alla GFD.

Citrullina

La citrullina è un amminoacido non proteico prodotto principalmente dagli enterociti e rappresenta un intermedio del ciclo dell'urea. La sua concentrazione plasmatica riflette indirettamente la massa degli enterociti funzionanti, motivo per cui è stata proposta come marker del danno intestinale e dell'atrofia dei villi. Diversi studi hanno evidenziato una diminuzione dei livelli di citrullina nei pazienti celiaci rispetto a quelli sani ed un incremento dei valori in seguito a GFD. È stato inoltre osservato che i suoi livelli plasmatici diminuiscono progressivamente con l'aumentare della gravità dell'atrofia villare, tuttavia, non sono state rilevate differenze significative tra pazienti con mucosa normale (Marsh 0) e soggetti con enterite linfocitaria (Marsh 1) (90).

Citocromo P4503A4

Oltre al fegato, anche la mucosa intestinale è caratterizzata da enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci e tra questi c'è il citocromo P450 3A4 (CYP3A4), espresso prevalentemente nei villi intestinali. Nei pazienti celiaci si riscontra una riduzione dell'espressione di questo citocromo nella mucosa intestinale a causa del danno che subiscono i villi (92). Alcuni studi hanno valutato l'attività del CYP3A4 tramite il metabolismo del farmaco simvastatina, un suo substrato enzimatico ed è stato rilevato che nei pazienti con la malattia attiva i livelli sierici del farmaco risultavano più elevati rispetto ai soggetti in trattamento con la GFD, suggerendo una ridotta attività del citocromo associata al danno villare in corso. Questi risultati sottolineano l'importanza dell'integrità della mucosa intestinale anche nel metabolismo dei farmaci (92).

Proteine leganti gli acidi grassi

Le fatty acid-binding proteins (FABP), sono piccole proteine coinvolte nel metabolismo dei lipidi e nel trasporto di acidi grassi a lunga catena. Tra queste, la intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) è espressa lungo tutto il tratto gastrointestinale, soprattutto all'apice dei villi e viene rilasciata nel circolo sanguigno in seguito a danno enterocitario. I livelli di I-FABP sono inoltre correlati sia con gli anti-tTG sia con il danno istologico di diverso grado secondo la classificazione di Marsh ed è stato rilevato che l'introduzione della GFD riduce significativamente i valori di tale proteina, normalizzandoli più rapidamente nei bambini piuttosto che negli adulti, dove a volte è necessario aspettare anche 3-4 anni. È stato osservato che in seguito a esposizione al glutine in pazienti che seguono la dieta, i livelli di FABP aumentano già dopo due settimane, a differenza degli anticorpi, la cui variazione risulta più lenta. Valori più elevati di questa proteina si riscontrano anche nei familiari dei pazienti celiaci

con predisposizione genetica HLA-DQ2-8, indicando la proteina come un marker precoce di danno intestinale nei soggetti ad alto rischio (91).

Calprotectina fecale

La calprotectina fecale (FCP) è una proteina legante calcio e zinco rilasciata prevalentemente dai neutrofili durante i processi infiammatori intestinali. In diversi studi sono stati rilevati livelli molto elevati di FCP e sono state riscontrate differenze tra pazienti con sintomi gastrointestinali e pazienti con manifestazioni extra intestinali, risultando molto più elevati nel primo caso, 142,8 µg/g vs 79,7 µg/g. Questi valori dopo introduzione di GFD si sono notevolmente ridotti fino a un valore medio di 4,2 µg/g. Al contrario di quanto appena descritto, uno studio condotto su una popolazione pediatrica non ha riscontrato una correlazione significativa tra i livelli di FCP e alterazioni istologiche intestinali, mentre dati provenienti da una coorte italiana adulta suggeriscono che la FCP non rappresenta un biomarcatore affidabile per diagnosi o per il monitoraggio della celiachia (95).

High Mobility Group Box 1

La proteina High Mobility Group Box 1 (HMGB1) è una molecola coinvolta nei processi infiammatori e nella risposta immunitaria mucosale, agendo come segnale del danno cellulare. Diversi studi hanno osservato livelli fecali di questa proteina significativamente elevati nei pazienti celiaci ed è stata inoltre rilevata una grande differenza tra forme tipiche e atipiche o silenti della malattia. Dopo l'introduzione della GFD, i livelli di HMGB1 tendono a diminuire e dopo circa 12 mesi, risulta significativamente rilevabile solo nei pazienti che riferiscono piccole trasgressioni alla dieta (96).

Regenerating Gene 1α (Reg 1α)

La sequenza codificante Regenerating Gene 1α (Reg1α) appartiene ad una famiglia di geni coinvolti nei processi di rigenerazione cellulare. Nell'intestino, la proteina codificata da questo gene agisce come regolatore della crescita cellulare necessario al mantenimento della struttura dei villi. Nei pazienti con malattia attiva, si riscontrano livelli più elevati che indicano il tentativo della mucosa intestinale di compensare l'accelerata apoptosi, necrosi e perdita della struttura enterocitaria tipica della malattia. Questi livelli sembrano diminuire in seguito a introduzione della GFD. Sebbene i dati disponibili siano ancora limitati, questo biomarcatore potrebbe rappresentare un ulteriore indicatore dei processi di rigenerazione mucosale nella celiachia (93).

3.6 Biomarcatori per il monitoraggio della dieta priva di glutine

Attualmente, il trattamento della celiachia si basa esclusivamente sulla rigorosa aderenza alla dieta priva di glutine. Tuttavia, il monitoraggio della compliance dietetica risulta spesso difficile, in quanto piccole contaminazioni possono mantenere attiva la risposta immunitaria, per questo motivo sono stati studiati alcuni marcatori utili a monitorare l'effettiva aderenza alla dieta.

Neoepitopi del complesso transglutaminasi-gliadina

Di recente sono stati studiati nuovi epitopi del complesso tG2-gliadina deamidata, complessivamente 172 neoepitopi, che presentano sensibilità e specificità del 99% per la diagnosi della malattia. Il loro dosaggio è risultato importante per valutare il grado di aderenza alla GFD, in quanto i loro livelli risultano elevati nei pazienti che assumono glutine rispetto a quelli che seguono rigorosamente la dieta (77).

Peptidi immunogenici del glutine

I peptidi immunogenici del glutine (GIP) sono frammenti di glutine escreti e non completamente digeriti, eliminati attraverso urine e feci, considerati responsabili dell'immunogenicità del glutine nei pazienti celiaci. Tra questi, particolare interesse è stato rivolto ai peptidi derivati dal 33-mer della gliadina, uno dei principali frammenti immunodominanti coinvolti nella risposta immunitaria della malattia. Diversi studi hanno dimostrato che i GIP possono essere rilevati nelle feci fino a circa 4 giorni dopo il consumo di glutine e che i loro livelli correlano con la quantità ingerita. In uno studio condotto su pazienti celiaci pediatrici e adulti in GFD, la ricerca dei GIP fecali è stata confrontata con questionari alimentari e marker sierologici tradizionali evidenziando la presenza di GIP in circa il 30% dei pazienti, nonostante la rigorosa dieta. La positività risultava inoltre più frequente nei soggetti adulti e nei maschi (97). I GIP possono anche essere misurati nelle urine, dove risultano rilevabili già 4-6 ore dopo l'ingestione del glutine e persistono per 24-48 ore. Nelle feci, invece, la loro presenza riflette un'esposizione avvenuta nei precedenti 2-7 giorni, in relazione al tempo di transito intestinale. Alcuni studi hanno dimostrato che la maggior parte dei pazienti con alterazioni istologiche Marsh 2-3 mostra GIP urinari positivi mentre la maggior parte dei soggetti con istologia negativa (Marsh 0) presenta GIP urinari negativi (98,99). L'analisi dei GIP sembra quindi offrire risultati più rapidi rispetto alla sierologia tradizionale per identificare una mancata aderenza alla dieta, probabilmente perché gli anticorpi richiedono più tempo per svilupparsi e diventare rilevabili. Anche altri biomarcatori, come FABP e citrullina, potrebbero essere utili non solo nella diagnosi della malattia ma anche nel monitoraggio della GFD.

Volume piastrinico medio (MPV)

Il volume piastrinico medio (MPV) rappresenta un marker infiammatorio in diverse patologie, tra cui colite ulcerosa, pancreatite acuta e infarto al miocardio. Anche nella celiachia, i valori di MPV sono significativamente più elevati rispetto ai soggetti sani, e tendono ad abbassarsi in seguito a GFD (100).

3.7 Biomarcatori emergenti e approcci innovativi

La celiachia è una malattia in cui si ha attivazione simultanea di risposta immunitaria innata e adattativa con attivazione di vie infiammatorie che coinvolgono diverse citochine e mediatori dell'infiammazione responsabili del danno mucosale intestinale (107). Negli ultimi anni, l'interesse di ricerca si è concentrato sull'identificazione di nuovi biomarcatori immunologici potenzialmente utili nella comprensione dei meccanismi patogenetici della malattia e nel suo monitoraggio.

Microbioma e viroma

Recentemente è stato ipotizzato un possibile ruolo del microbioma intestinale nella patogenesi della malattia. Alcuni studi hanno infatti evidenziato, nei pazienti celiaci, una riduzione dei batteri considerati benefici, come *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e un aumento di quelli pro-infiammatori (106). Anche il viroma intestinale risulta essere importante, in quanto alcune infezioni virali precoci, come le infezioni da rotavirus, potrebbero contribuire alla perdita di tolleranza orale al glutine e favorire l'attivazione della risposta immunitaria nei soggetti geneticamente predisposti.

MicroRNA (miRNA)

I microRNA sono piccole molecole di RNA endogeno non codificante che regolano l'espressione genica a livello post-trascrizionale. In seguito a danno o a morte cellulare, possono essere rilasciati nell'ambiente extracellulare e raggiungere il circolo sanguigno o altri fluidi biologici, dove risultano rilevabili. Per queste caratteristiche, i miRNA sono attualmente oggetto di studio come potenziali biomarcatori per identificare il danno tissutale della mucosa intestinale e lo stadio della malattia (112,113).

Tecniche Elispot

Di recente è stato sviluppato un metodo basato sulla valutazione della risposta dei linfociti T intestinali ai peptidi della gliadina mediante tecnica Elispot, già utilizzata nello studio delle citochine in diverse malattie infettive (101). La tecnica si basa sull'assunzione di glutine per 3 giorni, pari circa a 200 g di pane al giorno, nei soggetti che seguono già la GFD. Vengono

raccolti campioni ematici prima del test e dopo 6 giorni dall'esposizione al glutine. Il glutine che viene ingerito induce la mobilitazione dei linfociti T intestinali nel sangue periferico, dove possono essere identificati tramite la tecnica Elispot. L'assunzione di questa quantità di glutine nei soggetti celiaci per 3 giorni non causa un aumento significativo di anticorpi sierici o lesioni duodenali, ma induce un aumento superiore al 600% dei Linfociti T produttori di IFN- γ (101,111). Questa tecnica permette anche l'identificazione dei peptidi del glutine in grado di attivare la risposta immunitaria, la valutazione di nuovi trattamenti in grado di consentire l'assunzione di glutine o lo studio di farine a basso potenziale immunogenico. Inoltre, la breve durata dell'esposizione al glutine rende questo metodo utile anche nei pazienti ancora non diagnosticati ma già in dieta priva di glutine, riducendo il disagio legato a una prolungata reintroduzione del glutine.

Interleuchina-2 (IL-2)

E' stata studiata anche la possibilità di valutare i livelli sierici di IL-2 dopo esposizione al glutine nei pazienti celiaci. I risultati hanno evidenziato valori di IL-2 $>0,5$ pg/ml dopo 4 ore a differenza della sua assenza nei controlli sani. I livelli di IL-2 corrispondono alla gravità dei sintomi dopo esposizione al glutine e sembra quindi rappresentare un biomarcatore sensibile e precoce di mancata aderenza alla GFD (101,111).

Chemochina epiteliale associata alle mucose

La Chemochina epiteliale associata alle mucose (CCL28) è una chemochina espressa in diversi tessuti mucosali, tra cui intestino, polmone, ghiandola mammaria e ghiandole salivari, e partecipa alla migrazione dei linfociti T e B verso i tessuti in condizioni di infiammazione e presenza di patogeni. Questa chemochina sembra svolgere un ruolo di collegamento tra risposta immunitaria innata e adattativa, favorendo la tolleranza verso gli antigeni self e prevenendo così lo sviluppo di malattie autoimmuni. Nella celiachia, la CCL28 è coinvolta nella migrazione dei linfociti B produttori di IgA verso la mucosa intestinale. Nei pazienti celiaci non trattati, sono stati osservati livelli elevati di questa chemochina rispetto ai soggetti che seguono la GFD (102).

Interleuchina-33 e recettore ST2

L' Interleuchina-33 (IL-33) sembra essere coinvolta in diverse patologie infiammatorie, tra cui la celiachia, con aumento anche del suo recettore ST2 (103).

Interleuchina-17

L' Interleuchina-17 (IL-17) è una citochina pro-infiammatoria prodotta da diverse cellule del sistema immunitario, tra cui macrofagi, cellule NK e neutrofili. Le sue principali funzioni comprendono l'attivazione e la migrazione dei neutrofili. Nei pazienti celiaci sono stati

osservati livelli aumentati di IL-17 sia nel siero, sia nella lamina propria delle biopsie duodenali. Inoltre, i livelli di questa citochina correlano con il titolo degli autoanticorpi e risultano essere più elevati nei pazienti che non seguono la dieta e che hanno atrofia dei villi intestinali (104,105).

TNF-like weak inducer of apoptosis

Il TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) è una citochina pro-infiammatoria che appartiene alla famiglia del Tumor Necrosis Factor (TNF), coinvolta in processi di infiammazione e apoptosi. Di recente è stato osservato che i livelli sierici di questa citochina risultano essere inferiori nei pazienti celiaci rispetto ai controlli sani. Questa riduzione potrebbe essere dovuta al legame di TWEAK con i suoi recettori tissutali, determinando una riduzione delle citochine libere e rilevabili nel circolo sanguigno (105).

Tecnologie “omiche”

Le tecnologie “omiche” ad alta processività, come trascrittomica, proteomica e metabolomica, stanno assumendo un ruolo sempre più importante nell’identificazione di nuovi biomarcatori per la celiachia. Questi approcci consentono rispettivamente di analizzare l’espressione genica, il profilo proteico e le alterazioni metaboliche nei pazienti, in modo da individuare caratteristiche molecolari utili per una diagnosi precoce, un monitoraggio e valutazione del danno adeguati. Nel primo caso, si tratta di studi che richiedono quantità ridotte di materiale biologico, come biopsie della mucosa intestinale per identificare la presenza di circa 25 geni coinvolti nella risposta immunitaria e nei processi infiammatori, tra cui NFκB, IL-21 o CXCL10 (107). Per quanto riguarda gli approcci proteomici invece, richiedono quantità maggiori di materiale biologico per evidenziare le alterazioni dell’espressione proteica che potrebbero rappresentare marker di attivazione immunitaria nella celiachia. Queste tecniche hanno permesso di identificare numerosi potenziali marker di attivazione immunitaria e diversi autoantigeni, oltre alla tTG, verso cui i pazienti celiaci potrebbero sviluppare autoanticorpi (108). Gli approcci metabolomici sono importanti per identificare marcatori metabolici specifici, grazie a una maggiore sensibilità della tecnica e una minore quantità di materiale biologico necessaria. Vengono utilizzate ad esempio spettroscopia di massa (MS) o risonanza magnetica nucleare (NMR) condotta su urine e siero di pazienti. Alcuni studi hanno evidenziato nei pazienti celiaci ridotti livelli di amminoacidi, lipidi e aumentati livelli di glucosio rispetto ai controlli sani (109,110). Tuttavia, questi approcci sono ancora sperimentali in quanto si basano su ampi pannelli molecolari piuttosto che su specifici biomarcatori.

3.8 Biomarcatori della permeabilità intestinale

La misurazione della permeabilità intestinale si basa sull'escrezione tramite le urine di disaccaridi e monosaccaridi e questa può essere studiata attraverso diversi marker come lattulosio, mannitolo o polietilenglicole 400 (PEG400). Tra i test disponibili, il rapporto lattulosio/mannitolo rappresenta quello maggiormente utilizzato nella pratica clinica e nella ricerca. Nei pazienti celiaci non trattati, si riscontra un'aumentata permeabilità intestinale (114).

Zonulina

Un altro biomarcatore studiato per valutare la funzione della barriera intestinale è la zonulina, una proteina coinvolta nella regolazione delle *Tight Junctions* dell'epitelio intestinale. Diversi studi hanno evidenziato un aumento dei suoi livelli sierici nei pazienti celiaci; tuttavia, questi valori non sembrano modificarsi significativamente dopo l'introduzione della GFD (115).

3.9 Algoritmi diagnostici attuali e possibili situazioni complesse

La diagnosi della celiachia non può basarsi esclusivamente sulla risposta clinica alla dieta priva di glutine o sulla ricomparsa dei sintomi dopo la reintroduzione del glutine, poiché questi elementi, se considerati isolatamente, hanno un basso valore predittivo. Secondo le linee guida della European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD), la conferma diagnostica richiede infatti l'insieme di dati clinici, sierologici e istologici compatibili (116). Negli adulti, la biopsia dell'intestino tenue continua a rappresentare un passaggio fondamentale per la conferma diagnostica della celiachia. Tuttavia, le più recenti linee guida hanno introdotto, per la prima volta anche nell'adulto, la possibilità di una diagnosi no-biopsy, come precedentemente anticipato. Nonostante questa importante innovazione nella diagnosi della malattia, la biopsia mantiene ancora un ruolo centrale nella pratica clinica, soprattutto nei casi dubbi, nelle forme negative ai test sierologici o quando è necessario escludere altre condizioni associate come esofagite eosinofila, gastrite autoimmune o gastrite linfocitaria, oltre a eventuali complicanze già presenti all'esordio, come adenocarcinoma del piccolo intestino o linfoma T associato a enteropatia (116,121). Nel paziente con sospetto clinico, la presenza di sierologia specifica positiva, come anticorpi anti-TG2, anti-DGP o EMA, associata ad atrofia dei villi, conferma la diagnosi di celiachia. Tuttavia, è importante ricordare che gli anticorpi IgA anti-TG2 possono risultare negativi nel 5–15% dei pazienti con celiachia confermata alla biopsia, anche se testati durante una dieta contenente glutine. In questi casi, la risposta istologica alla dieta priva di glutine e la tipizzazione HLA possono contribuire a confermare o escludere la

diagnosi, soprattutto nelle forme sieronegative (116,118). Un primo scenario particolare è rappresentato dai pazienti con sierologia positiva ma biopsia normale. In questi casi devono essere considerate possibili false positività degli anticorpi anti-TG2, che possono verificarsi in condizioni quali ipergammaglobulinemia, malattie autoimmuni, epatopatie croniche, insufficienza cardiaca congestizia o infezioni enteriche. L'approccio raccomandato prevede la revisione delle biopsie per ricercare alterazioni minime, la conferma che il paziente stesse assumendo glutine al momento dell'endoscopia e, se necessario, la ripetizione della biopsia. In presenza di HLA-DQ2/DQ8 e sierologia positiva, ma mucosa intestinale normale, il paziente viene definito come affetto da "celiachia potenziale" (116,119,120). Un secondo scenario riguarda i pazienti con struttura dei villi conservata ma aumento degli IEL, quadro corrispondente al Marsh 1. Tale reperto non è specifico per la celiachia, poiché può essere osservato anche in altre condizioni patologiche o in seguito all'assunzione di alcuni farmaci (117). In questo caso si richiede quindi l'integrazione di dati clinici, sierologici e istopatologici. In pazienti sintomatici o con alterazioni sierologiche, la positività contemporanea di anti-TG2 ed EMA rende probabile la diagnosi di celiachia, mentre, l'assenza di HLA-DQ2/DQ8 permette di escluderla. Se HLA-DQ2/DQ8 è presente, è consigliabile ripetere la sierologia dopo 6–12 mesi ed eventualmente considerare una nuova biopsia (116). Un ulteriore quadro complesso è quello della celiachia sieronegativa, definita dalla presenza di atrofia dei villi, negatività dei test sierologici, positività HLA-DQ2/DQ8 e risposta alla dieta priva di glutine, dopo esclusione di altre cause di atrofia villare sieronegativa. Questa condizione richiede un'attenta valutazione clinica, genetica e istologica, poiché può essere difficile distinguerla da altre enteropatie non celiache (116,118). Infine, un problema frequente riguarda i pazienti che hanno iniziato una dieta priva di glutine prima di completare l'iter diagnostico. In questi soggetti, la normalizzazione della sierologia e dell'istologia durante la dieta non consente di escludere definitivamente la celiachia. In caso di HLA-DQ2/DQ8 negativo, ulteriori accertamenti non sono generalmente necessari, se invece il paziente è HLA-DQ2/DQ8 positivo e la sierologia è negativa, può essere indicata una gluten challenge, ovvero la somministrazione controllata di glutine per un certo periodo di tempo per consentire una corretta rivalutazione diagnostica (116). I vari studi suggeriscono quindi, che gli algoritmi diagnostici attuali prevedono un approccio basato sulla combinazione di clinica, sierologia, istologia e genetica. La diagnosi viene confermata con maggiore sicurezza quando test sierologici specifici e atrofia dei villi sono entrambi presenti, mentre nei casi eccezionali è necessario ricorrere a strategie aggiuntive, come revisione istologica, tipizzazione HLA, monitoraggio degli esami sierologici nel tempo, gluten challenge o ripetizione della biopsia (116).

CAPITOLO 4

4.1 Forme cliniche della celiachia

In passato la celiachia era considerata prevalentemente una patologia caratterizzata da diarrea cronica, sindrome da malassorbimento e arresto della crescita in età pediatrica. Oggi è invece riconosciuta come una malattia autoimmune sistemica caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni cliniche, che possono coinvolgere numerosi organi e apparati. L'eterogeneità della presentazione clinica rappresenta una delle principali cause di ritardo diagnostico e sottodiagnosi della malattia (122-125). Negli ultimi decenni si è osservata una profonda trasformazione del quadro clinico. Infatti, mentre in passato prevalevano le forme classiche caratterizzate da sintomi gastrointestinali evidenti, oggi vengono diagnosticati sempre più frequentemente pazienti con forme non classiche, manifestazioni extraintestinali predominanti o addirittura assenza di sintomi rilevanti (Figura 10) (122,123,125).

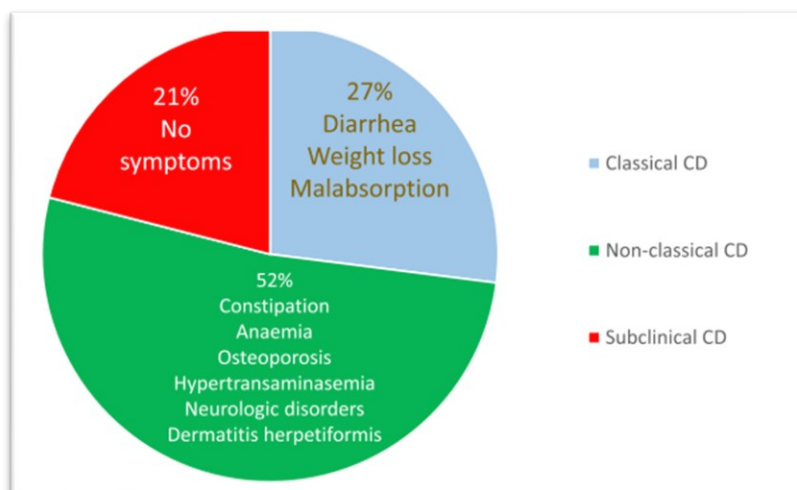


Figura 10: Distribuzione dei fenotipi clinici della celiachia nell'adulto. Le forme non classiche rappresentano attualmente la modalità di presentazione più frequente della malattia (205).

Forma classica

La forma classica si identifica nella presentazione tradizionalmente associata alla celiachia ed è caratterizzata dalla predominanza di sintomi gastrointestinali conseguenti al malassorbimento determinato dall'atrofia dei villi intestinali. Le manifestazioni comprendono diarrea cronica, steatorrea, dolore addominale, distensione addominale, perdita di peso e segni di malnutrizione (122,124). Nei bambini il quadro clinico può includere rallentamento della crescita staturponderale, scarso accrescimento e ritardo puberale. Il danno della mucosa intestinale determina infatti una riduzione della superficie assorbente con conseguente deficit nell'assorbimento di nutrienti, vitamine e minerali essenziali.

Forma non classica

La forma non classica si manifesta prevalentemente con sintomi gastrointestinali aspecifici o con manifestazioni extraintestinali. I sintomi digestivi più frequentemente riportati comprendono gonfiore, dolore addominale ricorrente, dispepsia, reflusso gastroesofageo, nausea e stipsi (123,125). Studi recenti hanno dimostrato che oltre la metà dei pazienti non presenta diarrea al momento della diagnosi (125). Un aspetto interessante è che numerosi soggetti affetti da celiachia presentano un peso corporeo normale o addirittura un quadro di sovrappeso e obesità al momento della diagnosi, contrariamente alla tradizionale immagine del paziente celiaco sottopeso e malnutrito (126,127). La sintomatologia può sovrapporsi a quella dei disturbi gastrointestinali funzionali, in particolare della sindrome dell'intestino irritabile, rendendo talvolta difficile il riconoscimento della malattia (128) e contribuendo di conseguenza al ritardo nella diagnosi.

Forma silente

La forma silente è caratterizzata dall'assenza di sintomi clinicamente evidenti in presenza di sierologia positiva e lesioni istologiche compatibili con la malattia (122). Questa forma viene frequentemente identificata durante programmi di screening effettuati in soggetti appartenenti a gruppi a rischio, quali familiari di primo grado di pazienti celiaci o individui affetti da patologie autoimmuni associate. Nonostante l'assenza di sintomi, tali pazienti possono comunque sviluppare complicanze correlate alla malattia e beneficiare del trattamento dietetico (122).

Forma potenziale

La celiachia potenziale è definita dalla presenza di autoanticorpi specifici per la celiachia associata a una mucosa duodenale istologicamente normale (122,129). L'evoluzione clinica di questi soggetti è variabile, in quanto una parte dei pazienti sviluppa nel tempo una vera enteropatia con atrofia dei villi continuando a consumare glutine, mentre altri mantengono una mucosa normale per molti anni o possono addirittura negativizzare i test sierologici (129).

4.2 Manifestazioni cliniche della celiachia

Le manifestazioni della celiachia possono essere distinte in sintomi correlati al malassorbimento intestinale e manifestazioni extraintestinali dovute ai meccanismi immunitari sistemici che caratterizzano la malattia.

Manifestazioni gastrointestinali

Le manifestazioni gastrointestinali comprendono (122-124):

- diarrea cronica
- steatorrea
- dolore addominale
- meteorismo
- distensione addominale
- nausea
- vomito
- perdita di peso.

Nelle forme non classiche possono essere presenti sintomi più sfumati quali (123,125):

- reflusso gastroesofageo
- dispepsia
- gonfiore addominale
- stipsi.

In molti casi tali manifestazioni mimano altre patologie gastrointestinali e possono determinare un ritardo significativo nella diagnosi (128).

Manifestazioni correlate al malassorbimento

L'atrofia dei villi intestinali determina un ridotto assorbimento di nutrienti essenziali con conseguenti carenze vitaminiche e di minerali, malnutrizione, perdita di peso e fatigue cronica. Il deficit di calcio e vitamina D può inoltre favorire lo sviluppo di alterazioni del metabolismo osseo (131-134).

Manifestazioni ematologiche

Le alterazioni ematologiche rappresentano una delle manifestazioni extraintestinali più frequenti della celiachia. L'anemia sideropenica costituisce spesso il primo segno clinico della malattia e può alle volte rappresentarne l'unica manifestazione. Essa deriva principalmente dal ridotto assorbimento del ferro a livello del duodeno e del digiuno prossimale, sedi maggiormente interessate dal danno mucosale. In alcuni pazienti possono inoltre essere presenti deficit di folati e vitamina B12, responsabili di quadri di anemia megaloblastica o mista. Più raramente possono essere osservate alterazioni della conta piastrinica e fenomeni di iposplenismo funzionale (131,132).

Manifestazioni osteoarticolari

Le manifestazioni osteoarticolari rappresentano un'altra comune manifestazione extraintestinale della celiachia (135-137). Tra le principali sono state descritte:

- osteopenia
- osteoporosi
- aumentato rischio di fratture
- artralgie
- artrite periferica
- artrite assiale

Queste alterazioni derivano sia dal malassorbimento di calcio e vitamina D sia dall'infiammazione sistemica cronica associata alla malattia. La riduzione della densità minerale ossea osservata nei pazienti celiaci è il risultato di molteplici meccanismi patogenetici, infatti oltre al malassorbimento di calcio e vitamina D, contribuiscono l'iperparatiroidismo secondario e l'attivazione cronica di mediatori dell'infiammazione che favoriscono il riassorbimento osseo. Nei pazienti non trattati il rischio di osteoporosi e di fratture da fragilità risulta significativamente aumentato (133-136).

Manifestazioni neurologiche e neuropsichiatriche

Le manifestazioni neurologiche rappresentano alcune delle più importanti espressioni extraintestinali della celiachia e possono precedere di diversi anni la diagnosi gastroenterologica. La loro patogenesi sembra coinvolgere sia meccanismi autoimmuni sia conseguenze secondarie alle carenze nutrizionali (130,138-140). Tra le principali manifestazioni sono riportate:

- neuropatia periferica
- parestesie
- emicrania
- cefalea cronica
- epilessia
- atassia da glutine
- fatigue cronica

L'atassia da glutine è una forma di degenerazione cerebellare immunomediata caratterizzata da progressiva incoordinazione motoria e disturbi dell'equilibrio (138). Sul piano neuropsichiatrico sono state inoltre descritte associazioni con ansia, depressione e altri disturbi cognitivi e comportamentali ed è stata inoltre descritta una condizione comunemente definita

"brain fog", caratterizzata da difficoltà di concentrazione, rallentamento cognitivo, riduzione dell'attenzione e deficit della memoria a breve termine. Nonostante i meccanismi fisiopatologici non siano ancora del tutto chiari, si pensa che tale condizione possa essere correlata a fenomeni infiammatori sistemici e alle alterazioni immunitarie associate alla malattia (132).

Manifestazioni dermatologiche

La manifestazione cutanea più caratteristica della celiachia è la dermatite erpetiforme, considerata l'espressione cutanea della malattia (131,132). Essa si presenta con papule e vescicole molto pruriginose localizzate prevalentemente a livello di gomiti, ginocchia, glutei e regione lombosacrale. Sono state inoltre riportate associazioni con altre patologie dermatologiche quali (132):

- psoriasi
- alopecia areata
- vitiligine
- eczema
- orticaria cronica

Manifestazioni del cavo orale

Le alterazioni del cavo orale comprendono (141,142):

- stomatite aftosa ricorrente
- difetti dello smalto dentario
- ipoplasia dello smalto

Queste manifestazioni possono rappresentare importanti indicatori clinici soprattutto in età pediatrica.

Manifestazioni epatiche

La celiachia può essere accompagnata da livelli elevati di transaminasi, epatite autoimmune e altre alterazioni della funzionalità epatica (143,144). Nella maggior parte dei casi l'aumento degli enzimi epatici tende a normalizzarsi dopo l'inizio della dieta senza glutine.

Manifestazioni riproduttive

La celiachia non diagnosticata è stata associata a diverse alterazioni della funzione riproduttiva, tra cui infertilità, abortività spontanea ricorrente, ritardo puberale e irregolarità del ciclo mestruale (131,132).

Celiachia come malattia sistemica

Visto il ruolo centrale dell'intestino, le evidenze attuali indicano che la celiachia non deve essere considerata esclusivamente una patologia da malassorbimento intestinale, ma una vera e propria malattia autoimmune sistemica (Figura 11).

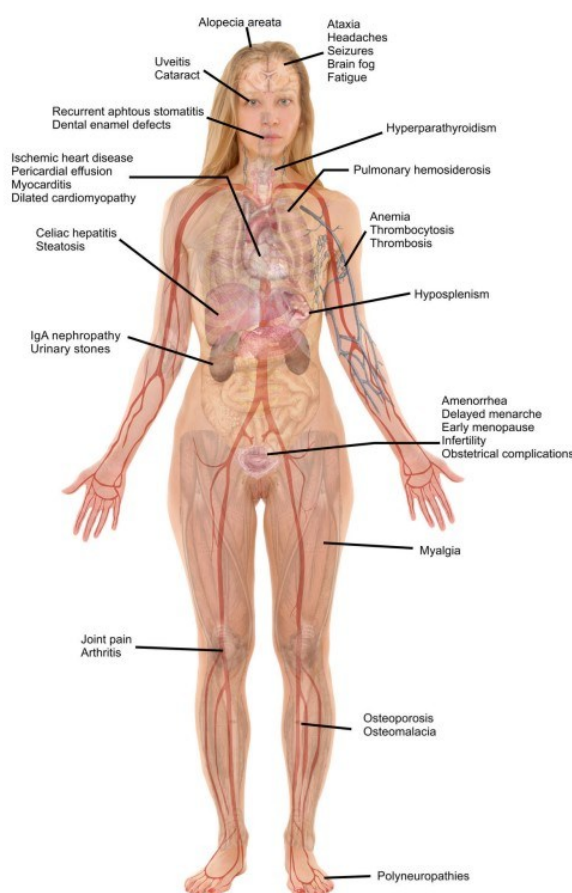


Figura 11: Manifestazioni intestinali ed extraintestinali della celiachia. La malattia può coinvolgere numerosi organi e apparati attraverso meccanismi correlati sia al malassorbimento sia all'attivazione immunitaria sistemica (204).

Le manifestazioni cliniche possono derivare sia dalle conseguenze nutrizionali del danno alla mucosa intestinale sia da meccanismi immunitari extraintestinali, inclusi fenomeni autoimmuni, produzione di autoanticorpi e processi infiammatori sistemici (131,132). Questa natura multisistemica spiega l'estrema eterogeneità della presentazione clinica e la possibilità che la malattia si manifesti anche in assenza di sintomi gastrointestinali evidenti.

4.3 Complicanze della celiachia e associazione con altre patologie autoimmuni

La celiachia è una malattia autoimmune sistemica che, se non diagnosticata o non adeguatamente trattata, può evolvere verso complicanze anche severe. Sebbene molte di queste siano oggi meno frequenti grazie alla sempre maggiore diffusione dei programmi di screening e all'efficacia della GFD, il ritardo nella diagnosi e la mancata aderenza alla terapia continuano a rappresentare importanti fattori di rischio (131,132). Tra le principali conseguenze a lungo termine della malattia rientrano le alterazioni del metabolismo osseo a causa della persistente infiammazione intestinale e del cronico malassorbimento di calcio e vitamina D con progressiva riduzione della densità minerale ossea e sviluppo di osteopenia e osteoporosi. Nei pazienti con danno mucosale persistente è stato inoltre osservato un aumento del rischio di fratture da fragilità rispetto alla popolazione generale (133-136). Particolare attenzione merita la celiachia refrattaria, una rara ma grave complicanza caratterizzata dalla persistenza dell'atrofia dei villi intestinali e dell'attivazione del sistema immunitario nonostante una rigorosa dieta priva di glutine mantenuta per almeno dodici mesi. La malattia viene distinta in tipo I e tipo II sulla base delle caratteristiche degli IEL e la forma di tipo II presenta una prognosi meno favorevole ed è considerata una condizione prelinfomatosa, richiedendo di conseguenza un monitoraggio specialistico continuativo (145). Le complicanze più severe della celiachia riguardano infine il rischio neoplastico. Nei pazienti con malattia non diagnosticata o scarsamente controllata è stato descritto un aumentato rischio di sviluppare alcune neoplasie gastrointestinali, in particolare il linfoma a cellule T associato a enteropatia o *Enteropathy-Associated T-cell Lymphoma* (EATL), una forma rara ma aggressiva di linfoma. È stato inoltre segnalato un incremento del rischio di adenocarcinoma dell'intestino tenue e di altre neoplasie del tratto gastrointestinale (146). La maggior parte delle complicanze della celiachia può essere prevenuta attraverso una diagnosi precoce e una rigorosa adesione alla dieta priva di glutine. Il riconoscimento tempestivo della malattia non consente solo il controllo delle manifestazioni cliniche, ma rappresenta anche il principale strumento per ridurre il rischio di complicanze irreversibili e migliorare la prognosi a lungo termine. Un ulteriore aspetto rilevante riguarda l'associazione tra celiachia e altre patologie autoimmuni; infatti, numerosi studi hanno evidenziato una maggiore frequenza di condizioni quali diabete mellito di tipo 1, patologie autoimmuni della tiroide, sindrome di Sjögren ed epatite autoimmune nei soggetti

affetti da celiachia. Tale associazione è probabilmente riconducibile alla condivisione di fattori genetici predisponenti e alla persistente attivazione del sistema immunitario (132,143,144).

CAPITOLO 5

5.1 Dieta priva di glutine

La dieta priva di glutine GFD rappresenta attualmente il cardine della terapia della malattia celiaca e, ad oggi, costituisce l'unico trattamento efficace universalmente riconosciuto. Essa consiste nell'eliminazione permanente e rigorosa di tutti gli alimenti contenenti glutine, incluse le principali fonti di cereali quali frumento, orzo e segale, nonché dei prodotti derivati. Lo scopo della dieta è quello di rimuovere il fattore ambientale responsabile dell'attivazione della risposta immunitaria, consentendo la progressiva riduzione dell'infiammazione intestinale e il recupero graduale della mucosa duodenale (147,148). Secondo le più recenti raccomandazioni internazionali, possono essere considerati idonei alla dieta gli alimenti che contengono meno di 20 mg/kg di glutine, limite attualmente accettato come sicuro per la maggior parte dei pazienti celiaci. Oltre ai cereali naturalmente privi di glutine, come riso e mais, possono essere consumati pseudocereali quali grano saraceno, quinoa e amaranto, che rappresentano importanti fonti di carboidrati complessi, fibre, vitamine e minerali, ma anche l'avena certificata priva di contaminazioni può essere introdotta nella dieta della maggior parte dei pazienti, sebbene il suo utilizzo debba essere tenuto monitorato (147). L'eliminazione del glutine determina nella maggior parte dei casi un rapido miglioramento dei sintomi, tant'è che i sintomi gastrointestinali, quali diarrea, dolore addominale e gonfiore, tendono a ridursi nelle settimane successive all'inizio della dieta, mentre le manifestazioni extraintestinali e le alterazioni nutrizionali possono richiedere tempi più lunghi per normalizzarsi (147,149). Parallelamente al miglioramento sintomatologico si osserva una progressiva riduzione dei livelli sierici degli anticorpi specifici anti-tTG, che rappresentano uno dei principali indicatori della risposta terapeutica e dell'aderenza alla dieta. La guarigione della mucosa intestinale costituisce però un processo più lento e variabile rispetto alla riduzione dei sintomi, infatti, studi prospettici hanno dimostrato che il recupero istologico può richiedere diversi anni e che non tutti i pazienti raggiungono una completa normalizzazione della mucosa in tempi brevi. È stato infatti evidenziato come l'introduzione della GFD determini un miglioramento significativo della struttura dei villi e una riduzione dell'infiammazione intestinale sia nelle forme classiche sia nei pazienti con lesioni mucosali più lievi (150). Allo stesso modo è stata identificata una progressiva rigenerazione dei villi intestinali durante i primi due anni di trattamento dietetico (151). Nonostante ciò, il recupero mucosale appare meno rapido negli adulti rispetto ai bambini e può risultare incompleto nei soggetti diagnosticati in età avanzata o con lunga durata della malattia non trattata (152). L'efficacia della GFD è

ulteriormente confermata dalla riduzione del rischio di complicanze a lungo termine associate alla celiachia. Infatti, la correzione del malassorbimento favorisce il recupero dello stato nutrizionale e contribuisce alla prevenzione di condizioni quali anemia sideropenica, osteopenia e osteoporosi (150,151,161). Inoltre, una corretta aderenza alla terapia sembra ridurre il rischio di alcune complicanze neoplastiche associate alla persistenza dell'infiammazione intestinale cronica, comprese alcune forme di linfoma e adenocarcinoma dell'intestino tenue (152). Nonostante i suoi benefici, la dieta priva di glutine presenta numerose criticità. La completa eliminazione del glutine dalla dieta quotidiana è infatti particolarmente complessa a causa della sua ampia diffusione nell'industria alimentare e della elevata presenza di glutine nascosto in prodotti apparentemente sicuri come salse, zuppe industriali, insaccati, prodotti trasformati e numerosi alimenti confezionati, che possono contenere quantità variabili di glutine o essere soggetti a contaminazione crociata durante le fasi di produzione e confezionamento (153,154). Per questo motivo, il termine "gluten-free" non implica l'assoluta assenza di glutine, ma indica la presenza di una quantità considerata sicura secondo gli standard internazionali (157). Le contaminazioni accidentali rappresentano una delle principali difficoltà nella gestione della malattia; infatti, anche basse quantità di glutine assunte quotidianamente possono determinare alterazioni della mucosa nei soggetti predisposti (157,158) e allo stesso modo, numerosi studi hanno evidenziato come un'importante quota dei pazienti assuma inconsapevolmente tracce di glutine, nonostante l'impegno nel seguire una dieta rigorosa (166). Questa problematica assume particolare rilevanza nei pasti consumati fuori casa, durante i viaggi o nelle occasioni sociali, contesti nei quali il controllo delle possibili contaminazioni risulta più difficile. Un ulteriore limite della dieta riguarda il suo impatto nutrizionale. Molti prodotti commerciali senza glutine presentano una composizione diversa rispetto agli equivalenti tradizionali, essendo spesso caratterizzati da un maggiore contenuto di grassi e zuccheri semplici e da una minore quantità di fibre alimentari (158,159). Di conseguenza, nonostante la guarigione della mucosa intestinale permetta sempre di più l'assorbimento dei nutrienti, i pazienti possono sviluppare squilibri nutrizionali secondari alla composizione della dieta stessa. Le carenze più frequentemente descritte riguardano ferro, calcio, vitamina D, folati e vitamine del gruppo B (160-163). Il deficit di ferro può persistere anche dopo l'inizio della terapia e rappresenta una delle principali cause di anemia residua nei pazienti adulti (162). Allo stesso modo, una ridotta assunzione di calcio e vitamina D può contribuire al mantenimento di una bassa densità minerale ossea, rendendo alle volte necessaria un'integrazione specifica (151,161). Soggetti in dieta priva di glutine da lungo tempo possono presentare livelli subottimali di vitamine del gruppo B, suggerendo l'importanza di un

monitoraggio nutrizionale periodico (164,165). Oltre agli aspetti clinici e nutrizionali, la GFD comporta anche rilevanti implicazioni economiche e sociali, in quanto gli alimenti gluten-free risultano generalmente più costosi rispetto ai corrispondenti prodotti convenzionali e richiedono una costante attenzione nella scelta e preparazione dei pasti (164). Questa condizione può influenzare negativamente la qualità di vita del paziente, favorendo sentimenti di isolamento sociale, ansia e preoccupazione legati alla possibilità di assumere glutine accidentalmente. E' facile immaginare che questi aspetti assumono particolare importanza nell'adolescenza e nell'età adulta giovane, periodi nei quali l'aderenza alla dieta può risultare maggiormente problematica. Infine, è importante sottolineare che una piccola percentuale di pazienti continua a presentare sintomi e atrofia dei villi nonostante una rigorosa aderenza alla GFD. In questi casi si parla, come già precedentemente anticipato, di celiachia refrattaria, una condizione rara ma clinicamente rilevante che richiede ulteriori approfondimenti diagnostici e specifiche strategie terapeutiche (165). Per cui, sebbene la dieta priva di glutine rappresenti una terapia altamente efficace e indispensabile per il controllo della malattia celiaca, la sua applicazione pratica presenta numerose sfide. Il successo terapeutico non dipende esclusivamente dall'eliminazione del glutine, ma richiede un'attenta educazione alimentare, un adeguato monitoraggio clinico e nutrizionale e il supporto continuativo di una squadra multidisciplinare. Questi aspetti risultano fondamentali per garantire il mantenimento della remissione clinica, la guarigione della mucosa intestinale e una soddisfacente qualità di vita nel lungo periodo.

5.2 Monitoraggio del paziente

Il monitoraggio del paziente celiaco rappresenta una componente essenziale della gestione della malattia e costituisce il naturale completamento della GFD. Sebbene la dieta priva di glutine sia in grado di determinare la remissione clinica e la progressiva guarigione della mucosa intestinale, il raggiungimento di tali obiettivi non può essere dato per scontato e richiede una valutazione periodica nel tempo. Il follow-up consente infatti di verificare l'aderenza alla dieta, monitorare il recupero clinico e nutrizionale, identificare eventuali esposizioni accidentali al glutine e riconoscere precocemente possibili complicanze o forme di malattia persistente (170,171). Le principali linee guida internazionali raccomandano che il monitoraggio venga effettuato regolarmente fin dal momento della diagnosi, attraverso un approccio multidisciplinare che coinvolga gastroenterologi, dietisti e, quando necessario, altri specialisti. Gli obiettivi fondamentali del follow-up comprendono la valutazione della

remissione dei sintomi, la normalizzazione dei marker sierologici, il recupero dello stato nutrizionale e la prevenzione delle complicanze a lungo termine, quali osteoporosi, malassorbimento persistente e neoplasie associate alla celiachia (148,170,171). Dal punto di vista clinico, la scomparsa o la riduzione dei sintomi rappresenta generalmente il primo indicatore di efficacia della dieta, tuttavia, il miglioramento clinico non sempre riflette l'effettivo stato della mucosa intestinale, infatti, numerosi studi hanno dimostrato che alcuni pazienti possono presentare una persistente atrofia dei villi nonostante l'assenza di sintomi significativi, mentre altri continuano a manifestare disturbi gastrointestinali pur avendo ottenuto una sostanziale guarigione della mucosa intestinale (172,173). Per questo motivo, la sola valutazione clinica non è considerata sufficiente per monitorare adeguatamente l'andamento della malattia e tra gli strumenti più utilizzati nella pratica clinica vi è il monitoraggio sierologico mediante ricerca degli anticorpi anti-tTG, generalmente di classe IgA. Dopo l'introduzione della dieta priva di glutine, i livelli degli anticorpi tendono a ridursi progressivamente fino alla normalizzazione, che nella maggior parte dei pazienti avviene entro 18-24 mesi (147,148). La diminuzione dei livelli degli anticorpi rappresenta pertanto un indicatore utile della risposta alla terapia e dell'aderenza alla dieta, ma, nonostante ciò, il valore degli anticorpi anti-tTG nel follow-up presenta alcune limitazioni, in quanto diversi studi hanno evidenziato come la negativizzazione sierologica non corrisponda necessariamente alla completa guarigione della mucosa intestinale ed è stato dimostrato che i test sierologici possiedono una sensibilità limitata nell'identificare la persistenza dell'atrofia dei villi nei pazienti già in dieta. Di conseguenza, un risultato sierologico negativo non può essere considerato una prova certa di guarigione della mucosa, mentre una persistente positività deve portare il soggetto a valutare possibili esposizioni al glutine o una scarsa aderenza alla terapia (172,173). Come già discusso nel capitolo legato ai biomarcatori, negli ultimi anni sono stati studiati nuovi strumenti di monitoraggio, tra cui i peptidi immunogenici del glutine (GIP) e la *intestinal fatty acid-binding protein* (I-FABP), che potrebbero contribuire a migliorare la valutazione dell'aderenza alla dieta e dello stato della mucosa intestinale, tuttavia, il loro impiego rimane attualmente complementare alle metodiche tradizionali e necessita di ulteriori studi approfonditi (175-179). Accanto al monitoraggio sierologico, assume particolare importanza la valutazione dello stato nutrizionale. Come già anticipato, al momento della diagnosi molti pazienti presentano carenze di ferro, folati, vitamina B12, vitamina D e altri micronutrienti secondarie al malassorbimento intestinale e sebbene tali alterazioni tendano generalmente a migliorare dopo l'inizio della dieta, il loro recupero può richiedere tempi variabili e non sempre risulta completo e per questo motivo, durante il follow-up è

raccomandato il controllo periodico dei principali parametri ematochimici e nutrizionali, per poter identificare precocemente eventuali deficit persistenti e impostare adeguate strategie di supplementazione ove necessarie (148,171). Il ruolo della biopsia duodenale nel follow-up rappresenta ancora oggi un argomento di dibattito. Attualmente non esiste consenso sull'esecuzione sistematica di biopsie di controllo in tutti i pazienti celiaci, alcune linee guida suggeriscono un approccio selettivo, riservando l'esame ai soggetti con persistenza dei sintomi, positività sierologica persistente, sospetta mancata aderenza alla dieta o elevato rischio di complicanze (170,180). Questo orientamento deriva dall'osservazione che la guarigione della mucosa può richiedere diversi anni e che procedure invasive non risultano sempre necessarie nei pazienti clinicamente stabili. Un aspetto rilevante del monitoraggio riguarda l'identificazione dei pazienti con malattia non responsiva alla dieta e questa condizione viene definita dalla persistenza di sintomi, alterazioni sierologiche o danno mucosale nonostante almeno dodici mesi di dieta rigorosa. Nella maggior parte dei casi la causa è rappresentata da una continua esposizione al glutine, spesso involontaria; tuttavia, devono essere considerate anche altre condizioni, tra cui sindrome dell'intestino irritabile, sovra crescita batterica intestinale, colite microscopica e, nei casi più rari, celiachia refrattaria (149,152,170). Pertanto, il follow-up del paziente celiaco non deve essere considerato una semplice verifica dell'aderenza alla dieta, ma un processo dinamico finalizzato a garantire il controllo della malattia nel lungo periodo. L'insieme di una valutazione clinica, sierologia, monitoraggio nutrizionale e nuovi biomarcatori dà la possibilità di una gestione sempre più accurata del paziente, contribuendo a migliorare la qualità di vita e a ridurre il rischio di complicanze associate alla celiachia.

5.3 Aderenza alla dieta e qualità di vita

L'aderenza alla dieta rappresenta uno degli aspetti più importanti nella gestione della malattia. Sebbene la GFD rappresenti una terapia efficace nel controllo della malattia e nella prevenzione delle complicanze, il suo successo dipende dalla capacità del paziente di mantenerla rigorosamente nel lungo periodo e a differenza di molte altre patologie croniche, la terapia della celiachia richiede un costante controllo delle abitudini alimentari quotidiane e una continua attenzione alla possibile presenza di glutine negli alimenti consumati (163,184). Numerosi studi hanno dimostrato che il grado di aderenza alla dieta è strettamente associato alla remissione clinica, alla normalizzazione dei parametri sierologici e al recupero della mucosa intestinale mentre una scarsa aderenza alla terapia può determinare la persistenza dei

sintomi, il mantenimento dell'infiammazione intestinale e un aumento del rischio di complicanze a lungo termine (153,162,147). La valutazione dell'aderenza alla dieta rappresenta però una sfida complessa, nel corso degli anni sono stati sviluppati diversi strumenti per monitorare il rispetto della terapia, tra cui questionari validati, interviste dietetiche e scale di valutazione specifiche e tra queste, il questionario proposto da Biagi et al. è oggi uno degli strumenti più utilizzati nella pratica clinica per stimare il grado di compliance alla GFD, questo strumento si basa su quattro semplici domande riguardanti il consumo volontario di glutine, il comportamento adottato durante i pasti fuori casa, il controllo delle etichette alimentari e l'utilizzo di prodotti certificati. Il questionario genera un punteggio compreso tra 0 e IV, i punteggi 0-I identificano una scarsa aderenza alla dieta, il punteggio II indica una dieta seguita con errori significativi, mentre i punteggi III-IV riflettono una buona o eccellente compliance alla GFD. Grazie a diversi studi è stata evidenziata una correlazione tra punteggi più bassi del test e una maggiore persistenza di positività ai test sierologici, atrofia dei villi intestinali e complicanze della malattia, confermando l'utilità del questionario come strumento rapido di monitoraggio dell'aderenza alla dieta (Tabella 2) (181).

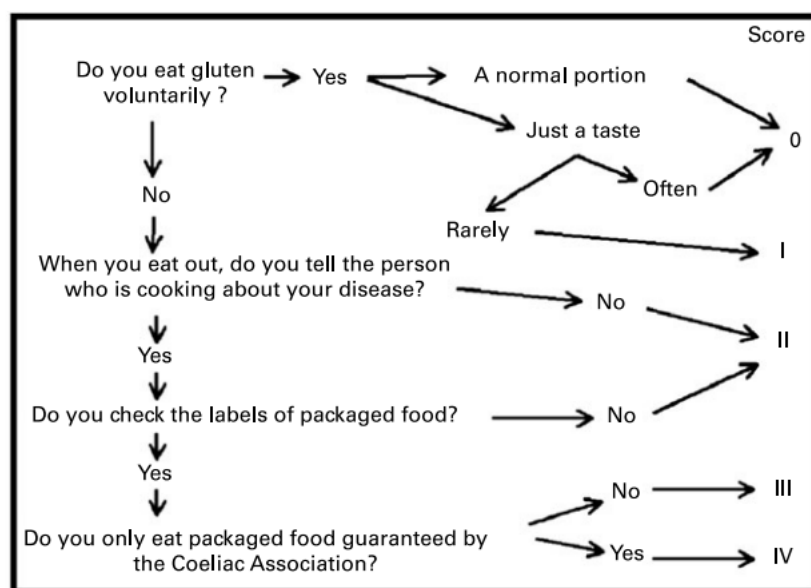


Tabella 2: Questionario somministrato ai pazienti celiaci. “Rarely” significa che il paziente ricorda quando e quante volte ha mangiato il glutine volontariamente. “Often” significa che il paziente non riesce a ricordare l’esatto numero di volte (181).

Più recentemente sono stati sviluppati ulteriori strumenti standardizzati con l’obiettivo di migliorare l’accuratezza della valutazione e identificare precocemente i pazienti a rischio di scarsa aderenza (182). Nonostante la crescente disponibilità di alimenti senza glutine e il

miglioramento delle conoscenze sulla malattia, mantenere una dieta rigorosa rimane spesso difficile e le principali problematiche riportate dai pazienti riguardano il rischio di contaminazione crociata, la necessità di leggere attentamente le etichette alimentari, la limitata disponibilità di prodotti idonei in alcuni contesti e la gestione dei pasti consumati fuori casa (183-186). Inoltre, l'assunzione involontaria di glutine rappresenta un evento relativamente frequente anche nei soggetti che dichiarano una buona aderenza alla dieta (171). L'impatto della malattia si estende ben oltre gli aspetti strettamente clinici e coinvolge numerose dimensioni della vita quotidiana, a tal proposito, diversi studi hanno evidenziato come il peso percepito della terapia possa essere paragonabile o addirittura superiore a quello osservato in altre patologie croniche, infatti, molti pazienti considerano la gestione della GFD particolarmente impegnativa a causa delle limitazioni sociali, economiche e organizzative che essa comporta (186). Le difficoltà descritte risultano particolarmente evidenti nei contesti delle attività sociali, pasti in ristoranti, viaggi, eventi familiari e occasioni conviviali, dove la paura di contaminazioni accidentali può indurre il paziente a limitare la partecipazione alle attività sociali od a sperimentare sentimenti di ansia e preoccupazione legati all'alimentazione (183,184,186). Queste problematiche possono contribuire allo sviluppo di isolamento sociale, riduzione del benessere psicologico e peggioramento della qualità di vita percepita. L'adolescenza e la giovane età adulta rappresentano periodi particolarmente delicati, sono fasi della vita in cui la necessità di aderire rigidamente a una dieta restrittiva può entrare in conflitto con il desiderio di integrazione sociale e con la crescente autonomia personale. Infatti, diversi studi hanno evidenziato come gli adolescenti presentino maggiori difficoltà nel mantenimento della dieta rispetto ad altre fasce d'età, con conseguente riduzione dell'aderenza alla terapia (183,184). Anche l'aspetto economico del mantenimento della terapia può influenzare significativamente la qualità di vita, in quanto i prodotti senza glutine presentano spesso costi superiori rispetto agli alimenti convenzionali e richiedono una maggiore pianificazione nella spesa e nella preparazione dei pasti, soprattutto nei Paesi in cui il supporto economico ai pazienti è limitato (169). Nonostante tali difficoltà, numerosi studi hanno dimostrato che una diagnosi precoce e una corretta gestione della malattia sono associate a un miglioramento significativo della qualità di vita e che un ritardo diagnostico può comportare una riduzione del benessere percepito e un maggiore utilizzo delle risorse sanitarie, mentre l'introduzione della GFD consente nella maggior parte dei casi un recupero progressivo dello stato di salute (159). Per questo motivo, il supporto educativo e psicologico assume un ruolo molto importante nel percorso di assistenza del paziente celiaco e l'intervento di dietisti esperti, l'educazione

alimentare continua e il coinvolgimento della famiglia possono favorire una migliore adesione terapeutica e contribuire a ridurre l'impatto della malattia sulla vita quotidiana (171,182).

5.4 Strategie terapeutiche innovative e prospettive future

Sebbene la dieta priva di glutine rappresenti attualmente il trattamento di riferimento per la malattia celiaca (148,189,190) esistono potenziali approcci terapeutici. I principali attualmente in studio agiscono su differenti fasi della patogenesi celiaca, dalla degradazione dei peptidi del glutine alla modulazione della permeabilità intestinale, dall'inibizione della tTG fino all'induzione della tolleranza immunologica e all'impiego di farmaci biologici mirati. La figura 12 riassume schematicamente i principali bersagli terapeutici attualmente oggetto di ricerca.

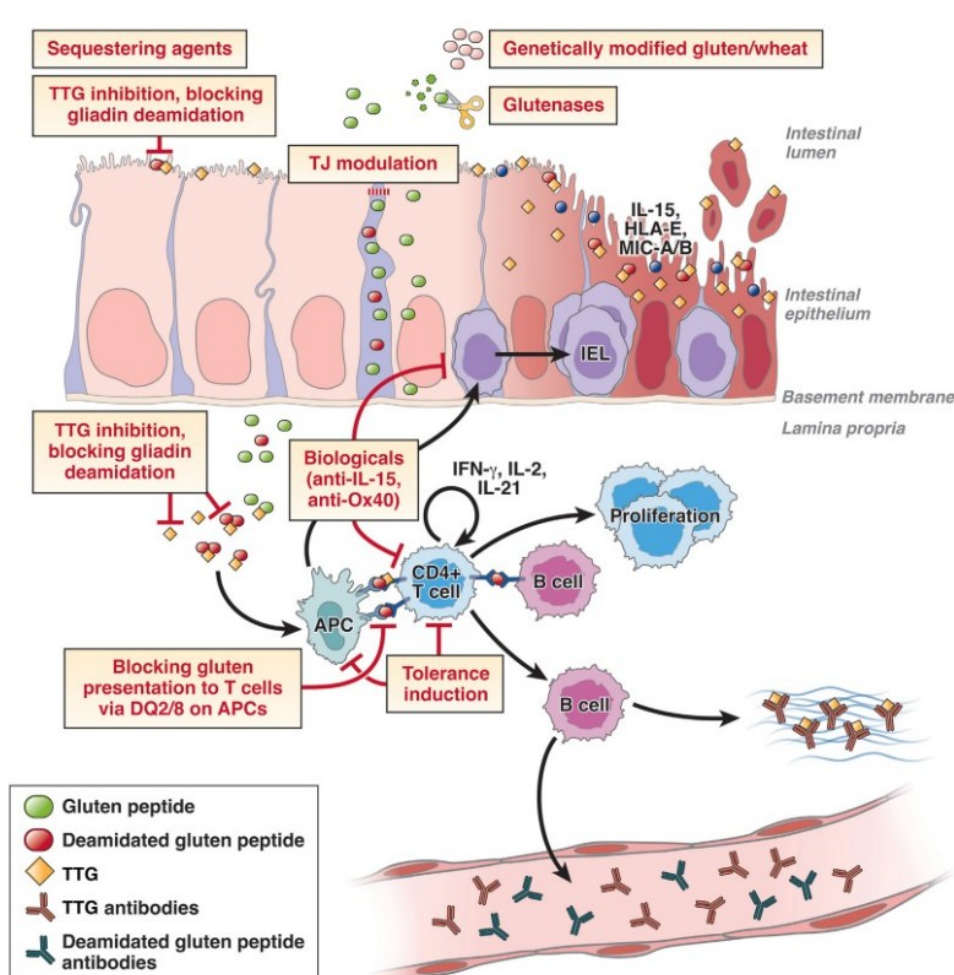


Figura 12: Principali strategie terapeutiche innovative attualmente in studio per la malattia celiaca. Sono rappresentati i principali bersagli terapeutici lungo la patogenesi della malattia, inclusi gli enzimi degradanti il glutine, gli inibitori della transglutaminasi tissutale 2, i modulatori delle tight junctions, le immunoterapie antigene-specifiche, le strategie di induzione della tolleranza immunologica e i farmaci biologici diretti contro le principali vie infiammatorie coinvolte nella risposta al glutine (203).

Enzimi degradanti il glutine

Uno degli approcci più studiati consiste nell'impiego di enzimi in grado di degradare il glutine all'interno del tratto gastrointestinale prima che i peptidi immunogenici raggiungano la mucosa intestinale. Questa strategia sfrutta le particolari caratteristiche biochimiche delle proteine del glutine, ricche di residui di prolina e glutamina che le rendono resistenti alla digestione da parte degli enzimi gastrointestinali umani, di conseguenza, durante la digestione si formano peptidi relativamente lunghi che possono attraversare la barriera intestinale ed essere riconosciuti dal sistema immunitario dei soggetti geneticamente predisposti (187,188). Le cosiddette glutenasi sono enzimi progettati per frammentare questi peptidi tossici in sequenze più piccole e meno immunogeniche. L'obiettivo non è consentire il consumo libero di alimenti contenenti glutine, ma ridurre gli effetti derivanti da contaminazioni accidentali o da esposizioni involontarie di lieve entità (189,190). Tra i primi farmaci sviluppati in questa categoria vi è la latiglutenase (IMGX003), una miscela di due proteasi orali in grado di degradare specifiche sequenze del glutine. I primi studi clinici hanno mostrato una buona tollerabilità del trattamento e una riduzione di alcuni sintomi gastrointestinali nei pazienti celiaci esposti a quantità controllate di glutine, tuttavia, gli studi successivi non hanno dimostrato un beneficio sufficiente sulla guarigione mucosale e sul controllo complessivo della malattia, limitandone lo sviluppo clinico (189). Più recentemente l'attenzione si è concentrata sul TAK-062, una glutenasi ingegnerizzata caratterizzata da un'elevata capacità di degradazione del glutine nello stomaco. Studi sperimentali hanno evidenziato che questo enzima è in grado di neutralizzare rapidamente elevate quantità di glutine prima che raggiungano l'intestino tenue, riducendo in modo significativo l'esposizione ai peptidi immunogenici responsabili dell'attivazione della risposta immunitaria (190). I risultati preliminari ottenuti negli studi di fase iniziale sono stati positivi e hanno permesso di rinnovare l'interesse verso questo approccio terapeutico ma nonostante questi risultati promettenti, gli enzimi degradanti il glutine presentano ancora alcuni limiti, in particolare, la loro efficacia può dipendere dalla quantità di glutine ingerita, dal tempo di permanenza gastrica e dalle condizioni fisiologiche del tratto digestivo e inoltre, nessuno dei prodotti attualmente in fase di studio ha dimostrato di poter sostituire la dieta priva di glutine o di garantire una protezione completa nei confronti dell'esposizione alimentare al glutine (189,190). Perciò, allo stato attuale delle conoscenze, le glutenasi devono essere considerate strategie terapeutiche complementari e non alternative alla dieta, ma nonostante questo, i progressi ottenuti nello sviluppo di enzimi sempre più efficienti suggeriscono che questo approccio potrebbe in futuro contribuire a ridurre il peso terapeutico della malattia e migliorare

la qualità di vita dei pazienti celiaci, soprattutto in relazione alle frequenti contaminazioni accidentali che si verificano nella vita quotidiana.

Immunoterapia e induzione della tolleranza immunologica

La comprensione dei meccanismi immunologici alla base della malattia celiaca ha portato allo sviluppo di strategie terapeutiche innovative finalizzate a modulare la risposta immunitaria responsabile del danno intestinale. A differenza della dieta priva di glutine, che agisce eliminando il fattore ambientale scatenante della malattia, l'immunoterapia mira a intervenire direttamente sui processi immunopatogenetici che determinano l'attivazione dei linfociti T glutine-specifici e il conseguente sviluppo dell'infiammazione della mucosa. Uno degli obiettivi principali della ricerca è l'induzione della tolleranza immunologica nei confronti del glutine. Questo approccio si basa sul principio secondo cui l'esposizione controllata a specifici epitopi immunogenici potrebbe modificare la risposta immunitaria patologica e favorire il ripristino della tolleranza verso l'antigene alimentare. Questa strategia è simile a quella utilizzata nell'immunoterapia allergene-specifica per alcune patologie allergiche (191). Tra i trattamenti più studiati rientra Nexvax2, un vaccino terapeutico costituito da tre peptidi immunodominanti derivati dal glutine e riconosciuti dai linfociti T CD4⁺ dei pazienti portatori dell'aplotipo HLA-DQ2.5. L'obiettivo del trattamento era indurre una progressiva desensibilizzazione immunologica attraverso la somministrazione ripetuta degli epitopi responsabili dell'attivazione della risposta autoimmune (191,192). I primi studi clinici di fase I hanno dimostrato la sicurezza del trattamento e hanno confermato la capacità del vaccino di interagire con i linfociti T glutine-specifici, tuttavia, il successivo studio multicentrico di fase II non ha evidenziato un beneficio clinico significativo rispetto al placebo, determinando l'interruzione dello sviluppo del farmaco (192). Nonostante questo risultato, l'esperienza acquisita ha fornito importanti informazioni sui meccanismi immunologici della malattia e sulle possibili strategie di immunomodulazione futura. Un approccio più recente è rappresentato dalle terapie tollerogeniche mirate al fegato, progettate per sfruttare il ruolo fisiologico di questo organo nell'induzione della tolleranza immunitaria periferica e tra queste, particolare interesse ha suscitato KAN-101, una terapia sperimentale che veicola antigeni derivati dal glutine a specifiche cellule epatiche con l'obiettivo di ridurre l'attivazione dei linfociti T patogeni e promuovere una risposta immunitaria tollerogenica (193). I risultati degli studi clinici di fase I hanno evidenziato un buon profilo di sicurezza e hanno suggerito la possibilità di modulare la risposta immunitaria glutine-specifica, ma nonostante questo, sono ancora necessari ulteriori studi per confermarne l'efficacia clinica. Parallelamente, la ricerca

sta anche esplorando nuove piattaforme terapeutiche basate su nanoparticelle e sistemi di veicolazione antigenica capaci di indurre tolleranza immunologica in maniera più selettiva. Questi approcci mirano a modificare la risposta dei linfociti T senza determinare una soppressione generalizzata del sistema immunitario, riducendo così il rischio di effetti collaterali associati alle tradizionali terapie immunosoppressive. Oltre alle strategie antigene-specifiche, sono stati studiati farmaci in grado di interferire con le principali vie immunitarie coinvolte nella patogenesi della malattia e in particolare, l'interleuchina-15 (IL-15) rappresenta uno dei mediatori più importanti dell'attivazione degli IEL citotossici responsabili del danno alla mucosa, per questo motivo sono stati sviluppati anticorpi monoclonali e altri agenti biologici diretti contro questa citochina o contro i suoi recettori, con l'obiettivo di limitare la risposta infiammatoria intestinale (170). Sebbene nessuna immunoterapia abbia finora raggiunto l'approvazione per l'utilizzo clinico nella malattia celiaca, i risultati ottenuti negli ultimi anni hanno confermato la possibilità di intervenire direttamente sui meccanismi immunologici responsabili della patologia. L'immunoterapia rappresenta quindi uno dei settori più promettenti della ricerca, poiché potrebbe in futuro consentire di affiancare o, almeno in parte, ridurre la dipendenza dalla dieta priva di glutine, migliorando la gestione della malattia e la qualità di vita dei pazienti.

Probiotici e modulazione del microbiota intestinale

Negli ultimi anni il microbiota intestinale ha attirato crescente interesse come possibile fattore coinvolto nella patogenesi e nella progressione della malattia celiaca. La predisposizione genetica e l'esposizione al glutine rappresentano ancora i principali elementi necessari per lo sviluppo della patologia ma numerose evidenze suggeriscono che la composizione del microbiota possa influenzare la risposta immunitaria intestinale e contribuire alla comparsa dello stato infiammatorio caratteristico della malattia. Sono state evidenziate alterazioni della composizione del microbiota nei pazienti celiaci rispetto ai soggetti sani, con una riduzione di batteri considerati benefici, e un aumento di microrganismi potenzialmente pro-infiammatori; queste alterazioni, spesso indicate con il termine disbiosi, sono state osservate sia nei pazienti con malattia attiva sia, in alcuni casi, nei soggetti già in terapia dietetica (194,182). L'interesse nei confronti del microbiota deriva anche dall'osservazione che alcuni microrganismi intestinali possiedono la capacità di metabolizzare parzialmente i peptidi derivati dal glutine, riducendone il potenziale immunogenico e dal fatto che il microbiota contribuisce al mantenimento dell'integrità della barriera intestinale e alla regolazione delle risposte immunitarie locali, processi entrambi alterati nella malattia celiaca. La modulazione quindi,

della flora intestinale, è stata proposta come possibile strategia terapeutica complementare alla dieta priva di glutine e tra gli approcci più studiati c'è l'utilizzo di probiotici, definiti come microrganismi vivi che, se somministrati in quantità adeguate, conferiscono benefici alla salute dell'ospite o ancora l'impiego di ceppi appartenenti ai generi *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* nei pazienti celiaci, con risultati generalmente incoraggianti ma non sempre uguali tra loro. In alcuni casi è stata osservata una riduzione dei sintomi gastrointestinali, in particolare gonfiore addominale e alterazione intestinale, mentre in altri studi non sono risultate differenze significative rispetto al placebo. Oltre ai probiotici, sono stati presi in considerazione anche prebiotici, simbiotici e altre strategie di modulazione del microbiota, con l'obiettivo di favorire la crescita di batteri benefici e migliorare l'equilibrio dell'intero sistema intestinale. La variabilità nella composizione del microbiota tra individui diversi però, rende difficile trarre conclusioni definitive sull'efficacia di questi interventi, infatti, attualmente le evidenze disponibili non consentono di raccomandare l'impiego quotidiano dei probiotici come trattamento della malattia celiaca e le principali linee guida continuano a considerare la dieta priva di glutine come l'unica terapia standard, mentre l'utilizzo di probiotici viene valutato principalmente come possibile intervento complementare per il controllo di specifici sintomi gastrointestinali persistenti (163,182). Nonostante queste limitazioni, la ricerca sul microbiota intestinale continua a rappresentare uno dei settori più promettenti nello studio della malattia celiaca e una migliore comprensione delle interazioni tra microbiota, barriera intestinale e sistema immunitario potrebbe infatti favorire lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative capaci di affiancare la dieta priva di glutine e contribuire al mantenimento della salute intestinale nel lungo periodo.

Nuove strategie farmacologiche in studio

Negli ultimi anni la crescente comprensione dei meccanismi patogenetici della malattia ha consentito di identificare numerosi potenziali bersagli terapeutici, aprendo la strada allo sviluppo di farmaci capaci di intervenire in diverse fasi del processo patologico. Uno degli approcci più studiati riguarda la modulazione della permeabilità intestinale. È noto infatti che, nei pazienti celiaci, il glutine induce un aumento della permeabilità della barriera intestinale attraverso il rilascio di zonulina, favorendo il passaggio dei peptidi immunogenici dal lume intestinale alla lamina propria e proprio in questo contesto è stato sviluppato il larazotide acetate, un peptide sintetico capace di modulare le giunzioni serrate dell'epitelio intestinale e limitare il passaggio del glutine attraverso la barriera mucosale. Gli studi clinici hanno evidenziato una buona tollerabilità del farmaco e una riduzione di alcuni sintomi

gastrointestinali associati all'esposizione al glutine, nonostante i risultati ottenuti sulla guarigione mucosale siano stati variabili (195,196). Una seconda ricerca è rappresentata dagli inibitori della transglutaminasi tissutale 2 (TG2), enzima centrale nella patogenesi della malattia celiaca, responsabile della deamidazione dei peptidi del glutine, processo che ne aumenta l'affinità per le molecole HLA-DQ2 e HLA-DQ8 e favorisce l'attivazione dei linfociti T glutine-specifici. L'inibizione di questo enzima rappresenta pertanto una strategia particolarmente interessante per interrompere precocemente la cascata immunologica responsabile del danno intestinale. Tra i farmaci sviluppati con questo obiettivo, troviamo ZED1227 che ha dimostrato di riuscire portare una significativa riduzione del danno mucosale e dell'infiammazione intestinale rispetto al placebo, accompagnata da un buon profilo di sicurezza (197,198). Questi risultati hanno suscitato notevole interesse nella comunità scientifica, rendendo ZED1227 una delle molecole più promettenti nel gruppo delle terapie sperimentali per la celiachia. Un altro approccio consiste nell'impiego di farmaci biologici diretti contro specifiche molecole coinvolte nella risposta immunitaria, in particolare, l'interleuchina-15 (IL-15) che svolge un ruolo fondamentale nell'attivazione e nella sopravvivenza dei linfociti intraepiteliali citotossici responsabili del danno della mucosa intestinale. Sono stati quindi sviluppati anticorpi monoclonali e altre molecole in grado di bloccare il segnale mediato da questa citochina, dando risultati iniziali incoraggianti ma ancora nelle fasi iniziali di sviluppo e richiedono ulteriori studi per definirne efficacia e sicurezza nel lungo termine (170). La ricerca sta inoltre esplorando altre strategie terapeutiche innovative, tra cui molecole capaci di sequestrare il glutine all'interno del lume intestinale, nanoparticelle utilizzate per modulare selettivamente la risposta immunitaria e farmaci in grado di interferire con i meccanismi cellulari coinvolti nell'infiammazione mucosale. Nonostante i progressi ottenuti, nessuna delle strategie farmacologiche attualmente studiate ha ancora dimostrato di poter sostituire la dieta priva di glutine. Le evidenze disponibili suggeriscono piuttosto che tali trattamenti potrebbero essere impiegati come terapie complementari, con l'obiettivo di ridurre gli effetti delle contaminazioni accidentali e migliorare il controllo della malattia.

Prevenzione della malattia celiaca

La prevenzione della malattia celiaca rappresenta ancora oggi una delle principali sfide della ricerca. Come discusso nel capitolo dedicato ai fattori ambientali, numerosi studi hanno valutato il possibile ruolo dell'introduzione del glutine nella dieta infantile, dell'allattamento al seno, del microbiota intestinale e di altri fattori ambientali precoci nello sviluppo della malattia, ma le evidenze attualmente disponibili non hanno identificato strategie preventive

efficaci e universalmente applicabili ai soggetti geneticamente predisposti (182). Le più recenti linee guida internazionali non raccomandano modifiche particolari alle pratiche alimentari pediatriche con l'obiettivo di prevenire l'insorgenza della malattia, poiché né il momento di introduzione del glutine né l'allattamento al seno hanno dimostrato di influenzare in modo significativo il rischio di sviluppare la celiachia (182). L'interesse della ricerca si è quindi spostato verso nuovi approcci basati sulla comprensione dei meccanismi immunologici e dei fattori che regolano la tolleranza al glutine. In particolar modo, lo studio delle interazioni tra genetica, microbiota e sistema immunitario potrebbe consentire in futuro di identificare soggetti ad alto rischio e sviluppare strategie preventive più mirate (182). Attualmente, non esistono interventi in grado di prevenire con certezza l'insorgenza della malattia celiaca, per cui, nei soggetti appartenenti a gruppi a rischio, il monitoraggio clinico e sierologico rimane lo strumento più efficace per consentire una diagnosi precoce e l'avvio tempestivo della terapia dietetica e anche se le conoscenze sulla patogenesi della celiachia sono notevolmente migliorate negli ultimi anni, la prevenzione primaria della malattia non è ancora una realtà attuabile. Le future strategie preventive dipenderanno probabilmente dall'integrazione delle conoscenze genetiche, immunologiche e microbiologiche che stanno emergendo dalla ricerca contemporanea.

CAPITOLO 6

6.1 Il ruolo del farmacista

La gestione della malattia celiaca richiede un approccio multidisciplinare che coinvolga gastroenterologi, medici di medicina generale, dietisti e altri professionisti sanitari. In questo contesto, il farmacista rappresenta una figura di riferimento facilmente accessibile al paziente e può contribuire in maniera significativa sia all'educazione sanitaria sia al monitoraggio dell'aderenza terapeutica (199,200). Uno degli aspetti più importanti riguarda l'attività di counselling, tramite cui il farmacista può fornire informazioni sulla dieta priva di glutine, sensibilizzare il paziente riguardo al rischio di contaminazioni accidentali e supportare il corretto utilizzo di integratori e prodotti destinati a correggere le carenze nutrizionali frequentemente associate alla malattia. Alcuni studi hanno evidenziato come il livello di conoscenza dei farmacisti sulla celiachia possa influenzare positivamente la qualità dell'assistenza fornita ai pazienti e favorire una maggiore consapevolezza della malattia (199). La farmacia territoriale può inoltre contribuire all'identificazione precoce di soggetti a rischio, grazie a pazienti che si rivolgono al farmacista per sintomi gastrointestinali persistenti, anemia sideropenica ricorrente, disturbi addominali o altre manifestazioni compatibili con la celiachia che possono essere indirizzati verso un approfondimento diagnostico, favorendo un'identificazione della malattia più tempestiva e riducendo il rischio di complicanze associate a un ritardo nella diagnosi (200). Un ambito particolarmente importante per il farmacista riguarda la sicurezza dei medicinali. Nonostante il fatto che la maggior parte dei farmaci disponibili in commercio non contenga quantità clinicamente rilevanti di glutine, la presenza di eccipienti derivati da cereali può rappresentare una fonte di preoccupazione per il paziente celiaco e in questo contesto, il farmacista svolge un ruolo fondamentale nella verifica della composizione dei medicinali, nell'interpretazione delle informazioni presenti nei fogli illustrativi e, quando necessario, nel contatto con le aziende produttrici per ottenere informazioni aggiuntive sulla presenza di glutine o derivati del frumento (201). La corretta identificazione dei medicinali idonei contribuisce ad aumentare la sicurezza terapeutica e la fiducia del paziente nel trattamento farmacologico. Infine, il farmacista può collaborare al monitoraggio delle condizioni nutrizionali e allo sviluppo di programmi educativi rivolti ai pazienti affetti da celiachia. L'evoluzione delle conoscenze sulla malattia e l'introduzione di nuove strategie terapeutiche rendono sempre più importante il coinvolgimento del farmacista nel percorso assistenziale. In futuro, l'eventuale disponibilità di terapie farmacologiche complementari alla dieta priva di glutine potrebbe ampliare ulteriormente il suo ruolo nella

gestione della malattia, rendendolo una figura chiave nell'educazione del paziente e nel supporto all'aderenza alla terapia (202).

L'analisi della letteratura scientifica evidenzia come la celiachia rappresenti una patologia complessa e in continua evoluzione. I progressi compiuti negli ultimi decenni hanno permesso la comprensione sempre più approfondita dei meccanismi alla base della malattia, migliorando le possibilità diagnostiche e favorendo l'identificazione di un numero crescente di pazienti. Grazie all'aumento delle conoscenze diagnostiche ed epidemiologiche, oggi la celiachia è riconosciuta come una condizione diffusa e caratterizzata da manifestazioni cliniche molto eterogenee e questo sottolinea l'importanza di mantenere un elevato livello di attenzione diagnostica soprattutto nei pazienti con sintomi non specifici ed extraintestinali difficili da correlare. L'introduzione di test sierologici altamente sensibili e specifici e la ricerca di nuovi biomarcatori hanno reso possibile una diagnosi più tempestiva e un monitoraggio più efficace rispetto al passato e la continua ricerca di biomarcatori innovativi potrebbe consentire, in futuro, approcci diagnostici e di follow-up ancora più precisi e meno invasivi. Nonostante questi importanti progressi, la dieta priva di glutine GFD rimane ad oggi l'unico trattamento valido e disponibile, ma sebbene questa consenta, nella maggior parte dei casi, una remissione dei sintomi e un recupero della funzionalità intestinale, la sua gestione nella vita quotidiana può risultare complessa e influenzare la vita dei pazienti, che trovano particolare difficoltà nella gestione delle contaminazioni, delle limitazioni sociali e del controllo costante. Proprio per questo motivo, sono di fondamentale importanza le ricerche su nuove prospettive terapeutiche che includano degradazione enzimatica del glutine, modulazione della risposta immunitaria e intervento sul microbiota intestinale, in modo da poter integrare o affiancare la GFD. Nonostante la dieta rimanga ancora oggi l'unico trattamento efficace, i risultati ottenuti finora sulle nuove strategie terapeutiche sono promettenti. Visto la complessità della malattia, risulta necessario un approccio multidisciplinare in cui riveste un ruolo importante anche il farmacista, attraverso il counselling e il supporto all'aderenza terapeutica e contribuendo a migliorare la consapevolezza e la qualità di vita delle persone affette da questa malattia. Grazie a questi studi e a questi progressi, la celiachia rappresenta una malattia sempre meglio compresa e diagnosticata rispetto al passato, anche se rimangono ancora aperte numerose sfide riguardanti la diagnosi precoce, l'aderenza alla terapia e lo sviluppo di nuove opzioni di trattamento che sembrano riportare risultati incoraggianti. La mia esperienza personale mi ha permesso di comprendere come la celiachia non rappresenti esclusivamente una condizione clinica, ma una realtà che influenza molti aspetti della vita quotidiana e proprio per questo motivo, oltre ai

progressi scientifici e terapeutici, risulta fondamentale promuovere una maggiore consapevolezza della malattia e garantire un adeguato supporto ai pazienti nel loro percorso di cura.

CONCLUSIONE

La scelta di dedicare questa tesi alla malattia celiaca nasce anche da una motivazione personale. La mia diagnosi è infatti avvenuta all'età di 23 anni, in seguito ad accertamenti inizialmente intrapresi per problematiche non direttamente riconducibili alla celiachia, tra cui manifestazioni gastrointestinali e manifestazioni cutanee. Prima della diagnosi, alcuni disturbi erano entrati a far parte della mia quotidianità e venivano spesso interpretati come conseguenze di altre condizioni, fattori occasionali o ancora carenze vitaminiche; solo successivamente ho compreso come questi segnali potessero essere collegati alla malattia celiaca. Quando ricevetti la diagnosi, la mia prima reazione non fu di particolare preoccupazione, non mi aspettavo di essere celiaca e inizialmente la notizia non ebbe un impatto emotivo significativo, anzi, il mio primo pensiero fu che finalmente fosse stata individuata una possibile spiegazione a problematiche presenti da tempo. Solo con l'introduzione della GFD però, ho realmente compreso quanto la diagnosi avrebbe influenzato la mia vita quotidiana. L'aspetto più difficile non è stato rinunciare ad alcuni alimenti, ma adattarsi a una nuova modalità di gestione della quotidianità, fare la spesa richiede ancora oggi un'attenzione costante alle etichette e alla ricerca di prodotti sicuri e anche mangiare fuori casa può rappresentare una difficoltà, soprattutto nei contesti sociali, dove alle volte, emerge la sensazione di condizionare le scelte del gruppo o di dover prestare attenzioni che gli altri non devono considerare. Con il tempo ho imparato a gestire meglio il rischio di contaminazione e a convivere con le limitazioni che la malattia mi impone, ma alcune situazioni continuano a rappresentare una sfida. Dopo alcuni mesi di dieta ho notato un miglioramento di alcuni dei miei sintomi, mentre altri non hanno mostrato cambiamenti significativi. Questa esperienza mi ha insegnato che il beneficio della dieta non sempre si manifesta in modo immediato in ogni ambito della salute ma che comunque contribuisce al benessere generale e alla prevenzione delle complicanze a lungo termine. La stesura di questa tesi mi ha dato l'opportunità di approfondire dal punto di vista scientifico una patologia che mi riguarda direttamente, di comprendere i meccanismi biologici alla base della malattia, le strategie diagnostiche e le nuove prospettive terapeutiche e di acquisire così una maggiore consapevolezza della complessità di questa malattia e dell'importanza di una corretta gestione clinica. Questa esperienza mi ha inoltre portato a riflettere sull'importanza della sensibilizzazione nei confronti della celiachia, in quanto ancora oggi, molte persone tendono a considerare la dieta senza glutine una semplice scelta alimentare o una preferenza personale, sottovalutando il fatto che per il paziente celiaco rappresenta una vera e propria terapia. Negli ultimi anni l'attenzione verso questa condizione è andata sempre più aumentando così come la

disponibilità dei prodotti considerati senza glutine, ma personalmente ritengo ci sia ancora spazio per una maggiore informazione e consapevolezza, sia nella popolazione generale sia nei contesti sociali in cui il paziente vive quotidianamente. Un aspetto che considero interessante riguarda le prospettive terapeutiche attualmente in fase di studio, in quanto spero che in futuro possano essere sviluppati trattamenti che, come per quanto avviene già per l'intolleranza al lattosio, consentano una gestione più semplice della quotidianità e delle contaminazioni accidentali. La celiachia per me, rimane ancora una quotidiana attenzione, ma oggi la affronto con gli strumenti necessari per gestirla in modo efficace.

Bibliografia

- Green PH, Jabri B. Coeliac disease. *Lancet* 2003; 362: 383–91.
- Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3: 797–801.
- Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet* 2009; 373: 1480–93.
- Abadie V, Discepolo V, Jabri B. Intraepithelial lymphocytes in celiac disease immunopathology. *Semin Immunopathol* 2012; 34: 551–66.
- Abadie V, Jabri B. IL-15: a central regulator of celiac disease immunopathology. *Immunol Rev* 2014; 260: 221–34.
- Fasano A, Catassi C. Celiac disease. *N Engl J Med*. 2012;367:2419–26.
- Volta U, Caio G, Stanghellini V, De Giorgio R. The changing clinical profile of celiac disease: a 15-year experience (1998–2012) in an Italian referral center. *BMC Gastroenterol*. 2014;14:194.
- Van den Broeck HC, de Jong HC, Salentijn EM, et al. Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease. *Theor Appl Genet*. 2010;121:1527–39.
- Volta U, Caio G, Tovoli F, De Giorgio R. Non-celiac gluten sensitivity: questions still to be answered despite increasing awareness. *Cell Mol Immunol*. 2013;10:383–92.
- Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med*. 2010;42:587–95.
- Rubio-Tapia A, Ludvigsson JF, Brantner TL, et al. The prevalence of celiac disease in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2012;107:1538–44.
- Singh P, Arora S, Singh A, et al. Prevalence of celiac disease in Asia: a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2016;3: 1095–101.
- Ramakrishna BS, Makharia GK, Chetri K, et al. Prevalence of adult celiac disease in India: regional variations and associations. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 115–23.
- Almeida RC, Gandolfi L, De Nazaré Klautau-Guimarães M, et al. Does celiac disease occur in Afro-derived Brazilian populations? *Am J Hum Biol* 2012; 24: 710–12.
- Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, et al. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 88–93.
- King JA, Jeong J, Underwood FE, et al. Incidence of celiac disease is increasing over time: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2020; 115:507–525.
- Choung RS, Unalp-Arida A, Ruhl CE, Brantner TL, Everhart JE, Murray JA. Less hidden celiac disease but increased gluten avoidance without a diagnosis in the United States: findings from the National Health and Nutrition Examination surveys from 2009 to 2014. *Mayo Clin Proc* 2016; published online Dec 5. DOI:10.1016/j.mayocp.2016.10.012.
- Choung RS, Ditah IC, Nadeau AM, et al. Trends and racial/ ethnic disparities in gluten-sensitive problems in the United States: findings from the National Health and Nutrition Examination Surveys from 1988 to 2012. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 455–61.
- Liu E, Dong F, Barón AE, et al. High incidence of celiac disease in a long-term study of adolescents with susceptibility genotypes. *Gastroenterology* 2017;152:1329– 1336.
- Andrén Aronsson C, Lee H-S, Hård Af Segerstad EM, et al. Association of gluten intake during the first 5 years of life with incidence of celiac disease autoimmunity and celiac disease among children at increased risk. *JAMA* 2019;322(6):514–523.
- Jansson-Knodell CL, Hujoel IA, West CP, et al. Sex difference in celiac disease in undiagnosed populations: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019; 17: 1954–68.
- Collin P, Vilppula A, Luostarinen L, et al. Review article: coeliac disease in later life must not be missed. *Aliment Pharmacol Ther* 2018;47:563–572.
- Schwartz MK, Sleisenger MH, Pert JH, et al. The effect of a gluten-free diet on fat, nitrogen, and mineral metabolism in patients with sprue. *Gastroenterology*. 1957; 32:232–46. discussion, 246-8. [PubMed: 13405155]
- Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*. 1992; 102:330–54. [PubMed: 1727768]
- Macdonald WC, Brandborg LL, Flick AL, et al. Studies of Celiac Sprue. Iv. The Response of the Whole Length of the Small Bowel to a Gluten-Free Diet. *Gastroenterology*. 1964; 47:573–89. [PubMed: 14234675]
- Jabri B, de Serre NP, Cellier C, et al. Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E-specific natural killer receptor CD94 in celiac disease. *Gastroenterology*. 2000; 118:867–79. [PubMed: 10784586]
- Maiuri L, Ciacci C, Auricchio S, et al. Interleukin 15 mediates epithelial changes in celiac disease. *Gastroenterology*. 2000; 119:996–1006. [PubMed: 11040186]
- Dieterich W, Laag E, Schopper H, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology*. 1998; 115:1317–21. [PubMed: 9834256]
- Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology*. 1998; 115:1322–8. [PubMed: 9834257]
- Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, et al. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology*. 2009; 137:88–93. [PubMed: 19362553]
- Walker MM, Murray JA, Ronkainen J, et al. Detection of celiac disease and lymphocytic enteropathy by parallel serology and histopathology in a population-based study. *Gastroenterology*. 2010; 139:112–9. [PubMed: 20398668]

32. Choung RS, Larson SA, Khaleghi S, et al. Prevalence and Morbidity of Undiagnosed Celiac Disease From a Community-Based Study. *Gastroenterology*. 2017; 152:830–839 e5. [PubMed: 27916669]
33. Biesiekierski JR, Peters SL, Newnham ED, et al. No effects of gluten in patients with self-reported non-celiac gluten sensitivity after dietary reduction of fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates. *Gastroenterology*. 2013; 145:320–8 e1-3. [PubMed: 23648697]
34. Wieser H (2007) Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol* 24:115– 119. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
35. Shewry PR, Halford MG. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilisation. *J Exp Bot*. (2002) 53:947–58. doi: 10.1093/jexbot/53.370.947
36. Shewry PR, Tatham AS, Barro F, Barcelo P, Lazzeri P. Biotechnology of breadmaking: unraveling and manipulating the multi-protein gluten complex. *Biotechnology*. (1995) 13:1185–90. doi: 10.1038/nbt119 5-1185
37. Amend T, Beauvais F. Der mechanismus der Teigbildung: vorstoß in den molekularen Strukturbereich. *Getreide Mehl Und Brot*. (1995) 49:359–62.
38. He J, Penson S, Powers S, Hawes C, Shewry PR, Tosi P. Spatial patterns of gluten protein and polymer distribution in wheat grain. *J Agric Food Chem*. (2013) 61:6207–15. doi: 10.1021/jf401623d
39. Belton PS. On the elasticity of wheat gluten. *J Cereal Sci*. (1999) 29:103–7. doi: 10.1006/jcrs.1998.0227
40. Bromilow S, Gethings LA, Buckley M, Bromley M, Shewry PR, Langridge JI, et al. A curated gluten protein sequence database to support development of proteomics methods for determination of gluten in gluten-free foods. *J Proteomics*. (2017) 163:67–75 doi: 10.1016/j.jprot.2017.03.026: 10.1016/j.jprot.2017.03.026
41. Sollid LM, Qiao S-W, Anderson RP, Gianfrani C, Konig F. Nomenclature and listings of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules. *Immunogenetics*. (2012) 64:455–60. doi: 10.1007/s00251-012-0599-z
42. Shan L, Qiao SW, Arentz-Hansen H et al (2005) Identification and analysis of multivalent proteolytically resistant peptides from gluten: implications for celiac sprue. *J Proteome Res* 4:1732– 1741. <https://doi.org/10.1021/pr050173t>
43. Herrera MG, Nicoletti F, Gras M, et al (2021) Pepsin digest of gliadin forms spontaneously amyloid-like nanostructures influencing the expression of selected pro-inflammatory, chemoattractant, and apoptotic genes in Caco-2 cells: implications for gluten-related disorders. *Mol Nutr Food Res* n/a:2100200. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202100200>
44. Shan L, Molberg Ø, Parrot I et al (2002) Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* 297:2275– 2279. <https://doi.org/10.1126/science.1074129>
45. Qiao S-W, Bergseng E, Molberg Ø et al (2004) Antigen presentation to celiac lesion-derived T cells of a 33-mer gliadin peptide naturally formed by gastrointestinal digestion. *J Immunol* 173:1757–1762. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.3.1757>
46. Herrera MG, Pizzuto M, Lonz C et al (2018a) Large supramolecular structures of 33-mer gliadin peptide activate toll-like receptors in macrophages. *Nanomed* 14:1417–1427. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2018.04.014>
47. Araya RE, Gomez Castro MF, Carasi P et al (2016) Mechanisms of innate immune activation by gluten peptide p31– 43 in mice. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol* 311:G40–G49. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00435.2015>
48. Gómez Castro MF, Miculán E, Herrera MG, et al (2019) p31-43 gliadin peptide forms oligomers and induces NLRP3 inflammasome/caspase 1- dependent mucosal damage in small intestine. *Front Immunol* 10:31. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00031>
49. Sollid LM. The roles of MHC class II genes and post-translational modification in celiac disease. *Immunogenetics*. 2017;69:605–616.
50. Vader W, Stepniak D, Kooy Y, Mearin L, Thompson A, van Rood JJ, et al. The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:12390–12395.
51. Karinen H, Karkkainen P, Pihlajamäki J, Janatuinen E, Heikkinen M, Julkunen R, et al. Gene dose effect of the DQB1*0201 allele contributes to severity of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2006;41:191–199. doi: 10.1080/00365520500206277
52. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* (2002) 50:624–8. doi: 10.1136/gut.50.5.624 *Gut* (2002) 50:624–8. doi: 10.1136/gut.50.5.624
53. Trynka G, Hunt KA, Bockett NA, Romanos J, Mistry V, Szperl A, et al. Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet*. 2011;43:1193–1201.
54. Zhernakova A, Stahl EA, Trynka G, Raychaudhuri S, Festen EA, Franke L, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies in celiac disease and rheumatoid arthritis identifies fourteen non-HLA shared loci. *PLoS Genet*. 2011;7:e1002004.
55. Ivarsson A, Persson LA, Nystrom L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr*. (2000) 89:165–71. doi: 10.1111/j.1651-2227.2000.tb01210.x
56. Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr*. (2002) 75:914–21. doi: 10.1093/ajcn/75.5.91
57. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, et al. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA* (2005) 293:2343–51. doi: 10.1001/jama.293.19.2343
58. Chmielewska A, Piescik-Lech M, Szajewska H, Shamir R. Primary prevention of celiac disease: environmental factors with a focus on early nutrition. *Ann Nutr Metab*. (2015) 67 (Suppl. 2):43–50. doi: 10.1159/000440992
59. Canova C, Zabeo V, Pitter G, Romor P, Baldovin T, Zanotti R, et al. Association of maternal education, early infections, antibiotic use with celiac disease: a population-based birth cohort study in northeastern Italy. *Am J Epidemiol*. (2014) 180:76–85. doi: 10.1093/aje/kwu101

60. Caminero A, Galipeau HJ, McCarville JL, Johnston CW, Bernier SP, Russell AK, et al. Duodenal bacteria from patients with celiac disease and healthy subjects distinctly affect gluten breakdown and immunogenicity. *Gastroenterology* (2016) 151:670–83. doi: 10.1053/j.gastro.2016.06.041
61. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annu Rev Immunol* 2011;29:493–525. [PubMed: 21219178]
62. Molberg O, McAdam SN, Korner R, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med* 1998;4:713–7. [PubMed: 9623982]
63. Mention JJ, Ben Ahmed M, Begue B, Barbe U, Verkarre V, et al. 2003. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease. *Gastroenterology* 125:7304545
64. Bardella MT, Velio P, Cesana BM, et al. Coeliac disease: a histological follow-up study. *Histopathology* 2007;50:465–71. [PubMed: 17448022]
65. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* (2002) 297:2275–9. doi: 10.1126/science.1074129
66. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K, et al. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology* (2008) 135:194–204 e3. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.023
67. Marsh MN, Crowe PT. 1995. Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity. *Baillieres Clin. Gastroenterol.* 9:273–93
68. Moens L, Tangye SG. 2014. Cytokine-mediated regulation of plasma cell generation: IL-21 takes center stage. *Front. Immunol.* 5:65
69. Stamnaes J. 2021. Insights from tissue “omics” analysis on intestinal remodeling in celiac disease. *Proteomics* 21:e2100057
70. Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, et al. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity* 2004;21:367–77. [PubMed: 15357948]
71. Hmida NB, Ben Ahmed M, Moussa A, Rejeb MB, Said Y, Kourda N, et al. Impaired control of effector T cells by regulatory T cells: a clue to loss of oral tolerance and autoimmunity in celiac disease? *Am J Gastroenterol.* (2012) 107:604–11. doi: 10.1038/ajg.2011.397
72. Verdu EF, Schuppan D. Co-factors, microbes and immunogenetics in celiac disease to guide novel approaches for diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 2021; 161: 1395–1411.
73. Moerkens, R.; Mooiweer, J.; Withoff, S.; Wijmenga, C. Celiac disease-on-chip: Modeling a multifactorial disease in vitro. *United Eur. Gastroenterol. J.* 2019, 7, 467–476. [CrossRef]
74. Carroccio, A.; Vitale, G.; Di Prima, L.; Chifari, N.; Napoli, S.; La Russa, C.; Gulotta, G.; Aversa, M.R.; Montalto, G.; Mansueto, S.; et al. Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: A prospective study. *Clin. Chem.* 2002, 48, 1546–1550. [PubMed]
75. Lewis, N.R.; Scott, B.B. Meta-analysis: Deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2010, 31, 73–81. [CrossRef]
76. Yu XB, Uhde M, Green PH, et al. Autoantibodies in the extraintestinal manifestations of celiac disease. *Nutrients* 2018;10. DOI: 10.3390/nu10081123
77. Choung RS, Khaleghi Rostamkolaei S, Ju JM, et al. Synthetic neopeptides of the transglutaminase-deamidated gliadin complex as biomarkers for diagnosing and monitoring celiac disease. *Gastroenterology* 2019;156:582-91.e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.10.025
78. Korponay-Szabó, I.R.; Raivio, T.; Laurila, K.; Opre, J.; Király, R.; Kovács, J.B.; Kaukinen, K.; Fésüs, L.; Mäki, M. Coeliac disease case finding and diet monitoring by point-of-care testing. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2005, 22, 729–737. [CrossRef] [PubMed]
79. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity (“celiac sprue”). *Gastroenterology*. 1992;102(1):330-354.
80. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute Technical Review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* 2006; 131: 1981–2002
81. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 1999;11(10):1185-1194. 1999;11(10):1185-1194.
82. Pais WP, Duerksen DR, Pettigrew NM, Bernstein CN. How many duodenal biopsy specimens are required to make a diagnosis of celiac disease? *Gastrointestinal Endoscopy*. 2008;67(7):1082-1087.
83. Rubio-Tapia A, Rahim MW, See JA, Lahr BD, Wu TT, Murray JA. Mucosal recovery and mortality in adults with celiac disease after treatment with a gluten-free diet. *American Journal of Gastroenterology*. 2010;105(6):1412-1420.
84. Penny HA, Raju SA, Lau MS, Marks LJ, Baggus EMR, et al. Accuracy of a no-biopsy approach for the diagnosis of coeliac disease across different adult cohorts. *Gut*. 2021;70(5):876-883.
85. Shiha MG, Nandi N, Sanders DS, et al. Accuracy of the No-Biopsy Approach for the Diagnosis of Celiac Disease in Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2024;166(4):622-634.
86. Maimaris S, et al. Endoscopic techniques for the identification of duodenal villous atrophy in celiac disease. *Gastrointestinal Endoscopy*. 2025.
87. Wolters, V.M.; Wijmenga, C. Genetic background of celiac disease and its clinical implications. *Am. J. Gastroenterol.* 2008, 103, 190–195. [CrossRef]
88. Lin SA, Barker N. Gastrointestinal stem cells in self-renewal and cancer. *J Gastroenterol.* 2011;46:1039-1055.
89. Shalimar DM, Das P, Sreenivas V, Gupta SD, Panda SK, Makharia GK. Mechanism of villous atrophy in celiac disease: Role of apoptosis and epithelial regeneration. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137:1262-1269.

90. Crenn P, Coudray-Lucas C, Thuillier F, Cynober L, Messing B. Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. *Gastroenterology*. 2000;119:1496-1505.
91. Adrianse MP, Tack GJ, Passos VL, et al. Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;37:482-490. -490.
92. Lang CC, Brown RM, Kinirons MT, Deathridge MA, Guengerich FP, Kelleher D, et al. Decreased intestinal CYP3A in celiac disease: Reversal after successful gluten-free diet: A potential source of interindividual variability in first-pass drug metabolism. *Clin Pharmacol Ther*. 1996;59:41-46.
93. Planas R, Pujol-Autonell I, Ruiz E, Montraveta M, Cabre E, Lucas-Martin A, et al. Regenerating gene Iα is a biomarker for diagnosis and monitoring of celiac disease: A preliminary study. *Transl Res*. 2011;158:140-145.
94. Bragde H, Jansson U, Fredrikson M, Grodzinsky E, Söderman J. Celiac disease biomarkers identified by transcriptome analysis of small intestinal biopsies. *Cell Mol Life Sci*. 2018;75:4385-4401.
95. Schieppati A, et al. Fecal calprotectin measurement as a biomarker of severe disease phenotype in celiac disease and non-celiac enteropathies. 2024.
96. Manti S, Cuppari C, Tardino L, et al. HMGB1 as a new biomarker of celiac disease in children: A multicenter study. *Nutrition*. 2017;37:18-21.
97. Comino I, Fernández-Bañares F, Esteve M, et al. *Fecal Gluten Peptides Reveal Limitations of Serological Tests and Food Questionnaires for Monitoring Gluten-Free Diet in Celiac Disease Patients*. *Am J Gastroenterol*. 2016;111:1456-1465. doi:10.1038/ajg.2016.439.
98. Ruiz-Carnicer Á, Garzón-Benavides M, Fombuena B, et al. *Negative predictive value of the repeated absence of gluten immunogenic peptides in the urine of treated celiac patients in predicting mucosal healing: new proposals for follow-up in celiac disease*. *Am J Clin Nutr*. 2020;112:1240-1251. doi:10.1093/ajcn/nqaa188.
99. Moreno ML, Cebolla Á, Muñoz-Suano A, et al. *Detection of gluten immunogenic peptides in the urine of patients with coeliac disease reveals transgressions in the gluten-free diet and incomplete mucosal healing*. *Gut*. 2017;66:250-257. doi:10.1136/gutjnl-2015-310148.
100. Purnak T, Efe C, Yuksel O, Beyazit Y, Ozaslan E, Altiparmak E. *Mean platelet volume could be a promising biomarker to monitor dietary compliance in celiac disease*. *Ups J Med Sci*. 2011;116: 208-211 doi:10.3109/03009734.2011.580568.
101. Picascia S, Mandile R, Auricchio R, et al. Gliadin-specific T-cells mobilized in the peripheral blood of coeliac patients by short oral gluten challenge: clinical applications. *Nutrients* 2015;7:10020-10031. doi:10.3390/nu7125515
102. Rashidiani S, Jalili A, Babaei E, et al. The chemokine CCL28 is elevated in the serum of patients with celiac disease and decreased after treatment. *Am J Clin Exp Immunol* 2017;6:60-65.
103. López-Casado MA, Lorite P, Palomeque T, et al. Potential role of the IL33/ST2 axis in celiac disease. *Cell Mol Immunol* 2017;14:285-292. doi:10.1038/cmi.2015.85
104. Pallone F, Monteleone Franzè G, Monteleone I, et al. Characterization of IL-17A-producing cells in celiac disease mucosa. *J Immunol* 2010;184:2211-2218. doi:10.4049/jimmunol.0901919
105. Yuksel M, Kaplan M, Ates I, et al. The role of soluble tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis and interleukin-17A in the etiopathogenesis of celiac disease. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e3937. doi:10.1097/MD.00000000000003937
106. Singh A, Pramanik A, Acharya P, et al. Non-invasive biomarkers for celiac disease. *J Clin Med* 2019;8:885. doi:10.3390/jcm8060885
107. Garrote JA, Gómez-González E, Bernardo D, Arranz E, Chirido F. Celiac disease pathogenesis: The proinflammatory cytokine network. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;47(Suppl 1):S27-S32.
108. Stulík J, Hernychová L, Porkertová S, et al. Identification of new celiac disease autoantigens using proteomic analysis. *Proteomics* 2003;3:951-956.
109. Gundamaraju R, Vemuri R, Eri R, et al. Metabolomics as a Functional Tool in Screening Gastro Intestinal Diseases: Where are we in High Throughput Screening? *Comb Chem High Throughput Screen* 2017;20:247-254.
110. Bernini P, Bertini I, Calabrò A, et al. Are patients with potential celiac disease really potential? The answer of metabolomics. *J Proteome Res* 2011;10:714-721.
111. Tye-Din JA, Stewart JA, Dromey JA, et al. Comprehensive, quantitative mapping of T cell epitopes in gluten in celiac disease. *Sci Transl Med* 2010;2:41ra51.
112. Bascuñán-Gamboa KA, Araya-Quezada M, Pérez-Bravo F. MicroRNAs: An epigenetic tool to study celiac disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2014;106:325-333.
113. Amr KS, Bayoumi FS, Eissa E, Abu-Zekry M. Circulating microRNAs as potential non-invasive biomarkers in pediatric patients with celiac disease. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2019;51:159-164.
114. Mishra A, Makharia GK. Techniques of functional and motility test: How to perform and interpret intestinal permeability. *J Neurogastroenterol Motil*. 2012;18:443-447.
115. Mishra A, Prakash S, Sreenivas V, Das TK, Ahuja V, Gupta SD, Makharia GK. Structural and Functional Changes in the Tight Junctions of Asymptomatic and Serology-negative First-degree Relatives of Patients with Celiac Disease. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50:551-560.
116. Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, et al. European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European Gastroenterol J* 2019; 7: 583–613. *United European Gastroenterol J* 2019; 7: 583–613.
117. Lauwers GY, Fasano A, Brown IS. Duodenal lymphocytosis with no or minimal enteropathy: much ado about nothing? *Mod Pathol* 2015; 28 (suppl 1): S22–29. *Mod Pathol* 2015; 28 (suppl 1): S22–29.
118. Leonard MM, Lebwohl B, Rubio-Tapia A, Biagi F. AGA clinical practice update on the evaluation and management of seronegative enteropathies: expert review. *Gastroenterology* 2021; 160: 437–44.

119. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Naspi Catassi G, Catassi C. Long-term outcome of potential celiac disease in genetically at-risk children: the prospective CELIPREV cohort study. *J Clin Med* 2019; 8: 186.
120. Auricchio R, Mandile R, Del Vecchio MR, et al. Progression of celiac disease in children with antibodies against tissue transglutaminase and normal duodenal architecture. *Gastroenterology* 2019; 157: 413–20
121. Penny HA, Raju SA, Lau MS, et al. Accuracy of a no-biopsy approach for the diagnosis of coeliac disease across different adult cohorts. *Gut* 2021; 70: 876–83
122. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, et al. *The Oslo definitions for coeliac disease and related terms*. *Gut*. 2013;62:43-52.
123. Rampertab SD, Pooran N, Brar P, et al. *Trends in the presentation of celiac disease*. *Am J Med*. 2006;119:355.e9-355.e14.
124. Green PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, Goldstein SL, McMahon DJ, Absan H, et al. *Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey*. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:126-131.
125. Dominguez Castro P, Harkin G, Hussey M, et al. *Changes in presentation of celiac disease in Ireland from the 1960s to 2015*. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15:864-871.e3.
126. Murray JA, Watson T, Clearman B, Mitros F. *Effect of a gluten-free diet on gastrointestinal symptoms in celiac disease*. *Am J Clin Nutr*. 2004;79:669-673.
127. Maleki F, Hosseinpour M, Delpisheh A, et al. *The prevalence of obesity and underweight in celiac patients at the time of diagnosis: a systematic review and meta-analysis*. *BMC Gastroenterol*. 2024;24:357.
128. Irvine AJ, Chey WD, Ford AC. *Screening for celiac disease in irritable bowel syndrome: an updated systematic review and meta-analysis*. *Am J Gastroenterol*. 2017;112:65-76.
129. Volta U, Caio G, Boschetti E, et al. *Seronegative celiac disease: shedding light on an obscure clinical entity*. *Dig Liver Dis*. 2016;48:1018-1022.
130. Chin RL, Latov N, Green PHR, et al. *Neurologic complications of celiac disease*. *J Clin Neuromuscul Dis*. 2004;5:129-137.
131. Jericho H, Sansotta N, Guandalini S. *Extraintestinal manifestations of celiac disease: effectiveness of the gluten-free diet*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;65:75-79.
132. Laurikka P, Nurminen S, Kivelä L, et al. *Extraintestinal manifestations of celiac disease: early detection for better long-term outcomes*. *Nutrients*. 2018;10:1015.
133. Keaveny AP, Freaney R, McKenna MJ, et al. *Bone remodeling indices and secondary hyperparathyroidism in celiac disease*. *Am J Gastroenterol*. 1996;91:1226-1231.
134. Selby PL, Davies M, Adams JE, et al. *Bone loss in celiac disease is related to secondary hyperparathyroidism*. *J Bone Miner Res*. 1999;14:652-657.
135. Corazza GR, Di Sario A, Cecchetti L, et al. *Bone mass and metabolism in patients with celiac disease*. *Gastroenterology*. 1995;109:122-128.
136. Lebowohl B, Michaëlsson K, Green PH, et al. *Persistent mucosal damage and risk of fracture in celiac disease*. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:609-616.
137. Doyle JB, Lebowohl B, Askling J, et al. *Risk of juvenile idiopathic arthritis and rheumatoid arthritis in patients with celiac disease: a population-based cohort study*. *Am J Gastroenterol*. 2022;117:1971-1981.
138. Hadjivassiliou M, Sanders DD, Aeschlimann DP. *Gluten-related disorders: gluten ataxia*. *Dig Dis*. 2015;33:264-268.
139. Julian T, Hadjivassiliou M, Zis P. *Gluten sensitivity and epilepsy: a systematic review*. *J Neurol*. 2019;266:1557-1565.
140. Lebowohl B, Roy A, Alaedini A, et al. *Risk of headache-related healthcare visits in patients with celiac disease*. *Headache*. 2016;56:849-858.
141. Nieri M, Tofani E, Defraia E, et al. *Enamel defects and aphthous stomatitis in celiac and healthy subjects: systematic review and meta-analysis of controlled studies*. *J Dent*. 2017;65:1-10.
142. Gruper Y, Wolff ASB, Glanz L, et al. *Autoimmune amelogenesis imperfecta in patients with APS-I and coeliac disease*. *Nature*. 2023;624:653-662.
143. Haggård L, Glimberg I, Lebowohl B, et al. *High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis: systematic review and meta-analysis*. *Liver Int*. 2021;41:2693-2702.
144. Yoosuf S, Singh P, Khaitan A, et al. *Prevalence of celiac disease in patients with liver diseases: a systematic review and meta-analyses*. *Am J Gastroenterol*. 2023;118:820-832.
145. Schieppati A, Sanders DS, Biagi F. *Seronegative and refractory coeliac disease*. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2022;59-60:101781
146. Lebowohl B, Green PHR, Söderling J, et al. *Association between celiac disease and mortality risk in a Swedish population*. *JAMA*. 2020;323:1277-1285.
147. Ludvigsson JF, Ciacci C, Green PHR, Kaukinen K, Korponay-Szabó IR, Kurppa K, et al. Outcome measures in coeliac disease trials: the Tampere recommendations. *Gut*. 2018;67(8):1410–1424.
148. Kurppa K, Collin P, Viljamaa M, Haimila K, Saavalainen P, Partanen J, et al. Diagnosing mild enteropathy celiac disease: a randomized, controlled clinical study. *Gastroenterology*. 2009;136(3):816–823.
149. Stazi AV, Trecca A, Trinti B. Osteoporosis in celiac disease and in endocrine and reproductive disorders. *World J Gastroenterol*. 2008;14(4):498–505.
150. Pantaleoni S, Luchino M, Adriani A, Pellicano R, Stradella D, Ribaldone DG, et al. Bone mineral density at diagnosis of celiac disease and after 1 year of gluten-free diet. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:173082.
151. Caraceni MP, Molteni N, Bardella MT, Ortolani S, Nogara A, Bianchi PA. Bone and mineral metabolism in adult celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 1988;83(3):274–277.

152. Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, Brusco G, Ciacchi C, Cottone M, et al. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet*. 2001;358(9279):356–361.
153. Thompson T, Lee AR, Grace T. Gluten contamination of grains, seeds, and flours in the United States: a pilot study. *J Am Diet Assoc*. 2010;110(6):937–940.
154. Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;27(11):1044–1052.
155. Fuchs V, Kurppa K, Huhtala H, Mäki M, Kekkonen L, Kaukinen K. Delayed celiac disease diagnosis predisposes to reduced quality of life and incremental use of health care services and medicines: a prospective nationwide study. *United European Gastroenterol J*. 2018;6(4):567–575.
156. Vici G, Belli L, Biondi M, Polzonetti V. Gluten free diet and nutrient deficiencies: a review. *Clin Nutr*. 2016;35(6):1236–1241.
157. Rondanelli M, Faliva MA, Gasparri C, Peroni G, Naso M, Picciotto G, et al. Micronutrients dietary supplementation advices for celiac patients on long-term gluten-free diet with good compliance: a review. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(7):337.
158. Hallert C, Grant C, Grehn S, Grännö C, Hultén S, Midhagen G, et al. Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002;16(7):1333–1339.
159. Thompson T. Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet. *J Am Diet Assoc*. 2000;100(11):1389–1396.
160. Thompson T, Dennis M, Higgins LA, Lee AR, Sharrett MK. Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J Hum Nutr Diet*. 2005;18(3):163–169.
161. Zanchetta MB, Longobardi V, Bai JC. Bone and celiac disease. *Curr Osteoporos Rep*. 2016;14(2):43–48.
162. Hallert C, Svensson M, Tholstrup J, Hultberg B. Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(8):811–816.
163. Martin J, Geisel T, Maresch C, Krieger K, Stein J. Inadequate nutrient intake in patients with celiac disease: results from a German dietary survey. *Digestion*. 2013;87(4):240–246.
164. Lee AR, Ng DL, Zivin J, Green PHR. Economic burden of a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet*. 2007;20(5):423–430.
165. van Gils T, Nijeboer P, van Wanrooij RLMJ, Bouma G, Mulder CJJ. Mechanisms and management of refractory coeliac disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12(10):572–579.
166. Silvester JA, Comino I, Kelly CP, Sousa C, Murray JA; DOGGIE BAG Study Group. Most patients with celiac disease on gluten-free diets consume measurable amounts of gluten. *Gastroenterology*. 2020;158(5):1497–1499.e1.
167. Mulder CJJ, Elli L, Lebowl B, Makharia GK, Rostami K, Rubio-Tapia A, et al. Follow-up of celiac disease in adults: “When, What, Who, and Where”. *Nutrients*. 2023;15(9):2048.
168. Elli L, Leffler D, Cellier C, Lebowl B, Ciacchi C, Schumann M, et al. Guidelines for best practices in monitoring established coeliac disease in adult patients. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2024;21(3):198–215.
169. Stefanelli G, Navisse S, Valvano M, Vernia F, Ciccone A, Melideo D, et al. Serum transglutaminase antibodies do not always detect persistent villous atrophy in patients with celiac disease on a gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2021;33(Suppl 1):e650–e655.
170. Silvester JA, Kurada S, Szewajcer A, Kelly CP, Leffler DA, Duerksen DR. Tests for serum transglutaminase and endomysial antibodies do not detect most patients with celiac disease and persistent villous atrophy on gluten-free diets: a meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017;153(3):689–701.e1.
171. M.P. Adriaanse, D.A. Leffler, C.P. Kelly, D. Schuppan, R.M. Najarian, J. D. Goldsmith, et al., Serum I-FABP detects gluten responsiveness in adult celiac disease patients on a short-term gluten challenge, *Am. J. Gastroenterol*. 111 (2016) 1014–1022, <https://doi.org/10.1038/ajg.2016.162>.
172. Comino I, Fernández-Bañares F, Esteve M, Ortigosa L, Castillejo G, Fambuena B, et al. Fecal gluten peptides reveal limitations of serological tests and food questionnaires for monitoring gluten-free diet in celiac disease patients. *Am J Gastroenterol*. 2016;111(10):1456–1465.
173. Ruiz-Carnicer Á, Garzón-Benavides M, Fombuena B, Segura V, Vivas S. Utility of gluten immunogenic peptides in the follow-up of celiac disease patients. *Nutrients*. 2020;12(4):973.
174. Husby S, Murray JA, Katzka DA. AGA Clinical Practice Update on Diagnosis and Monitoring of Celiac Disease—Changing Utility of Serology and Histologic Measures: Expert Review. *Gastroenterology*. 2019;156(4):885–889.
175. Singh A, Pramanik A, Acharya P, Makharia GK. Non-invasive biomarkers for celiac disease. *J Clin Med*. 2019;8(6):885.
176. Ho SSC, Keenan JI, Day AS. The role of gastrointestinal-related fatty acid-binding proteins as biomarkers in gastrointestinal diseases. *Dig Dis Sci*. 2020;65:376–390.
177. Gaffar S, Aathirah AS. Fatty-acid-binding proteins: from lipid transporters to disease biomarkers. *Biomolecules*. 2023;13:1753.
178. Hrunka M, Janda L, Šťastná M, Pinkasová T, Pecl J, Kunovský L, et al. Celiac disease: promising biomarkers for follow-up. *J Gastrointest Liver Dis*. 2023;32(4):536–544.
179. Sengul OK, Akkelle BS, Ay P, Volkan B, Tutar E, Celikel CA, et al. Evaluation of mucosal status in the follow-up of pediatric patients with celiac disease: the role of serology. *Eur J Pediatr*. 2022;181(9):3283–3289.
180. Rubio-Tapia A, Hill ID, Semrad C, Kelly CP, Greer KB, Limketkai BN, et al. American College of Gastroenterology Guidelines Update: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Am J Gastroenterol*. 2023;118(1):59–76.
181. Biagi F, Andrealli A, Bianchi PI, Marchese A, Klersy C, Corazza GR. A gluten-free diet score to evaluate dietary compliance in patients with coeliac disease. *Br J Nutr*. 2009;102(6):882–887.

182. Mehtab W, Malhotra A, Upadhyay A, Singh N, Agarwal A, Chauhan A, et al. Development and validation of a tool for assessing adherence to gluten-free diet in patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2024. Published online June 2024.
183. White LE, Bannerman E, Gillett PM. Coeliac disease and the gluten-free diet: a review of the burdens, factors associated with adherence and impact on health-related quality of life, with specific focus on adolescence. *J Hum Nutr Diet*. 2016;29(5):593–606.
184. Hall NJ, Rubin G, Charnock A. Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;30(4):315–330.
185. King JA, Kaplan GG, Godley J. Experiences of coeliac disease in a changing gluten-free landscape. *J Hum Nutr Diet*. 2019;32(1):72–79.
186. Shah S, Akbari M, Vanga R, Kelly CP, Hansen J, Theethira T, et al. Patient perception of treatment burden is high in celiac disease compared with other common conditions. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(9):1304–1311.
187. Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, Moester M, de Ru A, Baak-Pablo R, et al. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;291(4):G621–G629.
188. Mitea C, Salentijn EMJ, van Veelen P, Goryunova SV, van der Meer IM, Padioleau I, et al. A universal approach to eliminate antigenic properties of alpha-gliadin peptides in celiac disease. *PLoS One*. 2010;5(12):e15637.
189. Syage JA, Green PHR, Khosla C, Adelman DC, Sealey-Voyksner JA, Murray JA. Latiglutenase treatment for celiac disease: symptom and quality of life improvement for seropositive patients on a gluten-free diet. *GastroHep*. 2019;1:293–301.
190. Pultz IS, Hill M, Vitanza JM, Wolf C, Saaby L, Liu T, et al. Gluten degradation, pharmacokinetics, safety, and tolerability of TAK-062, an engineered enzyme to treat celiac disease. *Gastroenterology*. 2021;161(1):81–93.e3.
191. Goel G, King T, Daveson AJM, Andrews JM, Krishnarajah J, Krause R, et al. Epitope-specific immunotherapy targeting CD4-positive T cells in coeliac disease: two randomized, double-blind, placebo-controlled phase 1 studies. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017;2(7):479–493.
192. Tye-Din JA, Daveson AJM, Goel G, et al.; RESET CeD Study Group. Efficacy and safety of gluten peptide-based antigen-specific immunotherapy (Nexvax2) in adults with coeliac disease after bolus exposure to gluten (RESET CeD): an interim analysis of a terminated randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2023;8(5):446–457.
193. Di Sabatino A, Lenti MV, Corazza GR, Gianfrani C. Vaccine immunotherapy for celiac disease. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:187.
194. Caminero A, McCarville JL, Zevallos VF, Pigrau M, Yu XB, Jury J, et al. Lactobacilli degrade wheat amylase trypsin inhibitors to reduce intestinal dysfunction induced by immunogenic wheat proteins. *Gastroenterology*. 2019;156(8):2266–2280.
195. Leffler DA, Kelly CP, Abdallah HZ, Colatrella AM, Harris LA, Leon F, et al. A randomized, double-blind study of larazotide acetate to prevent the activation of celiac disease during gluten challenge. *Am J Gastroenterol*. 2012;107(10):1554–1562.
196. Leffler DA, Kelly CP, Green PHR, Fedorak RN, DiMarino A, Perrow W, et al. Larazotide acetate in patients with coeliac disease undergoing a gluten challenge: a randomised placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42(11–12):1311–1319.
197. Schuppan D, Mäki M, Lundin KEA, Isola J, Friesing-Sosnik T, Taavela J, et al. A randomized trial of a transglutaminase 2 inhibitor for celiac disease. *N Engl J Med*. 2021;385(1):35–45.
198. Dotsenko V, Tewes B, Hils M, Pasternack R, Isola J, Taavela J, et al.; CEC-3 Investigators. Transcriptomic analysis of intestine following administration of a transglutaminase 2 inhibitor to prevent gluten-induced intestinal damage in celiac disease. *Nat Immunol*. 2024;25:1218–1230.
199. Avena-Woods C, McGhan WF. Exploring the Community Pharmacist's Knowledge of Celiac Disease. *Innov Pharm*. 2018;9(1):1–7.
200. Urwin H, et al. Early recognition of coeliac disease through community pharmacies: a proof-of-concept study. *Int J Clin Pharm*. 2016.
201. Lizano-Díez I, Mariño EL, Modamio P. Gluten in pharmaceutical products: a scoping review. *Syst Rev*. 2021;10:146.
202. Kerbage A, Abu Daya H, et al. High-Quality Nutritional and Medical Care in Celiac Disease. *Nutrients*. 2025.
203. Discepolo V, Kelly CP, Koning F, Schuppan D. How Future Pharmacologic Therapies for Celiac Disease Will Complement the Gluten-Free Diet. *Gastroenterology*. 2024 Jun;167(1):90–103. doi: 10.1053/j.gastro.2024.02.050. Epub 2024 Apr 9. PMID: 38604542.
204. Therrien A, Kelly CP, Silvester JA. Celiac Disease: Extraintestinal Manifestations and Associated Conditions. *J Clin Gastroenterol*. 2020 Jan;54(1):8–21. doi: 10.1097/MCG.0000000000001267. PMID: 31513026; PMCID: PMC6895422.
205. Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, Fasano A. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC Med*. 2019;17:142. PubMed PMID: 31331324.
206. Tye-Din JA, Galipeau HJ and Agardh D (2018) Celiac Disease: A Review of Current Concepts in Pathogenesis, Prevention, and Novel Therapies. *Front. Pediatr*. 6:350. doi: 10.3389/fped.2018.00350
207. Iversen R, Sollid LM. The Immunobiology and Pathogenesis of Celiac Disease. *Annu Rev Pathol*. 2023 Jan 24;18:47–70. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-031521-032634. Epub 2022 Sep 6. PMID: 36067801.
208. Abadie V, Han AS, Jabri B, Sollid LM. New Insights on Genes, Gluten, and Immunopathogenesis of Celiac Disease. *Gastroenterology*. 2024 Jun;167(1):4–22. doi: 10.1053/j.gastro.2024.03.042. Epub 2024 Apr 24. PMID: 38670280; PMCID: PMC11283582.