

# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia

**Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia**

**Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Oncologiche e Gastroenterologiche**

**U.O.C. Gastroenterologia**

Direttore: Prof.ssa Patrizia Burra

TESI DI LAUREA

## **Il ruolo della dieta mediterranea e dei cibi processati nella risposta alla dieta senza glutine nei pazienti con malattia celiaca**

**Relatore**

Prof.ssa Fabiana Zingone

**Correlatore**

Dott.ssa Daria Maniero

**Laureando:** Filippo Marta

**Matricola:** 1196879

ANNO ACCADEMICO 2023/2024



# Sommario

<b>SOMMARIO</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>3</b>
<b>CAPITOLO 1</b> .....	<b>4</b>
1.1 EPIDEMIOLOGIA.....	4
1.2 PATOGENESI .....	6
1.2.1 <i>La componente genetica</i> .....	6
1.2.2 <i>Il ruolo del glutine</i> .....	7
1.2.3 <i>Il ruolo del microbiota</i> .....	9
1.3 QUADRO CLINICO.....	10
1.3.1 <i>Patologie associate alla celiachia</i> .....	13
1.4 DIAGNOSI.....	16
1.4.1 <i>Sierologia</i> .....	17
1.4.2 <i>Endoscopia</i> .....	18
1.4.3 <i>Test genetico</i> .....	22
1.5 COMPLICANZE .....	22
1.5.1 <i>Linfoma intestinale</i> .....	23
1.5.2 <i>Carcinoma del piccolo intestino</i> .....	24
1.5.3 <i>Digiuno-ileite ulcerativa</i> .....	25
1.6 TERAPIA .....	26
1.6.1 <i>Dieta senza glutine</i> .....	26
1.7 FOLLOW-UP.....	27
<b>CAPITOLO 2</b> .....	<b>29</b>
2.1 CELIACHIA REFRATTARIA.....	30
2.1.1 <i>Diagnosi</i> .....	31
2.1.2 <i>Trattamento</i> .....	32
2.2 IL RUOLO DELLA DIETA .....	34
2.2.1 <i>Dieta mediterranea</i> .....	37
<b>CAPITOLO 3</b> .....	<b>39</b>
3.1 SCOPO DELLO STUDIO .....	39
3.2 MATERIALI E METODI.....	40
3.2.1 <i>Popolazione</i> .....	40
3.2.2 <i>Raccolta dati</i> .....	40
3.2.3 <i>Analisi statistica</i> .....	41
3.3 RISULTATI.....	42
3.3 DISCUSSIONE.....	47
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>50</b>



## Sommario

**OBIETTIVI:** I sintomi gastrointestinali persistenti nei pazienti affetti da malattia celiaca (MC) nonostante una dieta priva di glutine (GFD) sono comuni. Ad oggi non è noto se i sintomi persistenti siano influenzati dall'assunzione di alimenti altamente processati (HPF) e/o dalla dieta mediterranea (DM). L'obiettivo di questo studio è di valutare come l'assunzione di HPF e DM influenzino i sintomi gastrointestinali, la qualità della vita (QoL) e il profilo metabolico nei pazienti celiaci in GFD.

**METODI:** Sono stati arruolati prospetticamente pazienti celiaci adulti tra novembre 2023 e marzo 2024, in tre centri di riferimento italiani (Padova, Pavia, Milano). Mediante la raccolta di questionari, sono stati raccolti e analizzati dati relativi ai sintomi persistenti negli ultimi 12 mesi (GSRS-CeD), adesione alla GFD, punteggio della DM basato sul modello della piramide (PyrMDS), consumo di alimenti altamente processati (sQ-HPF), scala della qualità della vita specifica per la malattia celiaca (CD-QoL) e profilo metabolico.

**RISULTATI:** Sono stati arruolati 121 pazienti (83 femmine, età media  $44 \pm 15$  anni). Complessivamente, il 61% dei pazienti riporta sintomi persistenti. I pazienti con sintomi persistenti sono più frequentemente donne (78% vs 53%,  $p < 0.01$ ), riferiscono un minore consumo di HPF (26% vs 30%,  $p = 0.02$ ), punteggi GSRS-CeD più alti (mediana 3 vs 18.5,  $p < 0.001$ ) e punteggi CD-QoL più bassi (media CD-QoL 80 vs 88,  $p < 0.001$ ), mentre non risultano essere correlati al PyrMDS ( $p = 0.21$ ). Il PyrMDS invece è inversamente correlato all'assunzione di HPF ( $r = -0.20$ ,  $p = 0.03$ ), ai valori di trigliceridi sierici ( $r = -0.22$ ,  $p = 0.05$ ), e positivamente correlato con il colesterolo HDL ( $r = 0.20$ ,  $p = 0.08$ ). Alla regressione logistica multivariata, aggiustata per età e sesso, la persistenza dei sintomi risulta associata al sesso femminile ( $p < 0.01$ ), ad una minore assunzione di HPF ( $p = 0.04$ ), ma non alla DM ( $p = 0.31$ ).

**CONCLUSIONI:** Il nostro studio rileva che circa il 60% dei pazienti celiaci a dieta senza glutine (GFD), soprattutto donne, riferisce una persistenza dei sintomi e una peggiore qualità di vita (QoL). Tuttavia, questo comporta un ridotto consumo di

HPF e un miglior profilo metabolico. Si conferma inoltre una correlazione inversa tra aderenza alla DM e consumo di cibi processati. È quindi fondamentale che i pazienti celiaci siano seguiti nutrizionalmente, indipendentemente dalla risposta alla GFD.

## Abstract

**BACKGROUND AND AIMS:** Persistent symptoms in coeliac disease (CD) despite a gluten-free diet (GFD) are common. Data on whether persistent symptoms in coeliac patients on a GFD are influenced by highly processed foods (HPF) intake and mediterranean diet (MD) is lacking. We aimed to evaluate how intake of HPF and MD influence gastrointestinal symptoms, quality of life (QoL) and metabolic profile in coeliac patients on a GFD.

**METHODS:** Adult coeliac patients were prospectively enrolled between November-2023 and March-2024 at three Italian referral centers. Data on persistent symptoms over the previous 12 months (GSRS-CeD) GFD adherence, the Pyramid-based Mediterranean Diet Score (PyrMDS), highly processed food consumption (sQ-HPF) and the Celiac Disease-specific Quality of Life Scale (CD-QoL) and metabolic profile were collected and analysed.

**RESULTS:** 121 patients (83F, mean age 44±15 years) were enrolled. Overall, 61% of patients reported persistent symptoms. Patients with persistent symptoms were more likely to be female (78% vs 53%,  $p<0.01$ ), to have a lower intake of HPF (26% vs 30%,  $p=0.02$ ), higher GSRS-CeD scores (median 3 vs 18.5,  $p<0.001$ ), and lower CD-QoL scores (mean CD-QoL 80 vs 88,  $p<0.001$ ), but was not related to PyrMDS ( $p=0.21$ ). PyrMDS was inversely correlated with HPF intake ( $r=-0.20$ ,  $p=0.03$ ) and serum triglycerides ( $r=-0.22$ ,  $p=0.05$ ), and positively correlated with HDL cholesterol ( $r=0.20$ ,  $p=0.08$ ). At multivariate logistic regression adjusted for age and sex, persistence of symptoms was associated with female sex ( $p<0.01$ ), lower HPF intake ( $p=0.04$ ), but not MD ( $p=0.31$ ).

**CONCLUSIONS:** Approximately 60% of celiac patients on a gluten-free diet (GFD), especially women, reported persistent symptoms and a poorer quality of life (QoL). However, this leads to a reduced consumption of highly processed foods (HPF) and an improved metabolic profile. Furthermore, an inverse correlation between adherence to the Mediterranean Diet (DM) and the consumption of processed foods is confirmed. It is therefore essential that celiac patients receive nutritional follow-up, regardless of their response to the GFD.

## Capitolo 1

### LA MALATTIA CELIACA

La malattia celiachia (MC) è una condizione patologica sistemica immuno-mediata scatenata dall'ingestione di glutine in persone geneticamente predisposte (1). Il glutine è un complesso proteico presente nei cereali (frumento, segale e orzo) e comprende due principali tipologie di proteine: gliadine e glutenine. Queste macromolecole hanno un elevato contenuto di prolina e glutammina, amminoacidi resistenti alla proteolisi enzimatica a livello del tratto gastrointestinale a causa della mancanza della prolil-endopeptidasi nell'intestino umano, dove la presenza di tali amminoacidi può innescare reazioni immunitarie in pazienti predisposti (2). I geni coinvolti nella patogenesi della malattia sono localizzati sul cromosoma 6 e sono HLA-DQ2, espresso nel 95% dei pazienti affetti da MC, e HLA-DQ8, espresso nel restante 5%. Risulta essere molto raro che la malattia si presenti in assenza di questi due geni (3) (4). La presentazione clinica della MC è estremamente variabile e include sintomi gastrointestinali classici e atipici, manifestazioni extra-intestinali e casi subclinici.

#### 1.1 Epidemiologia

Negli ultimi venti anni la MC si è dimostrata essere un problema crescente per la salute pubblica. La prevalenza della patologia nella popolazione, basata esclusivamente sulla sieropositività, si attesta intorno all'1,4%. Invece, la prevalenza basata sulla conferma istologica risulta essere lievemente inferiore, pari allo 0,8% (5). Tuttavia, molti studi riguardanti l'epidemiologia della MC sono basati su test sierologici positivi che spesso non vengono associati ad una diagnosi istologica, motivo per cui i dati potrebbero essere sovrastimati. D'altra parte, la prevalenza basata sull'istologia potrebbe sottostimare la reale prevalenza, in quanto non tutti i pazienti accettano di sottoporsi ad un esame endoscopico (6). La MC si distribuisce in modo variabile tra i continenti e gli stati (Figura 1.1), interessando maggiormente l'Europa e l'Asia. In Finlandia e in Svezia la prevalenza si attesta

intorno al 3%, in Germania arriva allo 0,8%, in Italia è dell'1,6% (7). Questo potrebbe essere dovuto a differenze genetiche e/o ambientali, come il consumo di grano, l'uso di antibiotici o inibitori di pompa protonica (PPI), infezioni gastrointestinali e l'assunzione di prodotti caseari (8). Il fattore predittivo più importante risulta essere la presenza dell'aplotipo HLA, infatti circa un quarto dei soggetti portatori sviluppa la patologia in età precoce (9,10). Inoltre, l'incidenza risulta essere più alta nelle femmine rispetto ai maschi. Tuttavia, questa discrepanza potrebbe essere dovuta al fatto che i soggetti di sesso maschile sono meno propensi ad essere sottoposti ad endoscopie per indagare sintomi gastroenterologici e perdita di peso, motivo che potrebbe contribuire a sotto-diagnosi (11).

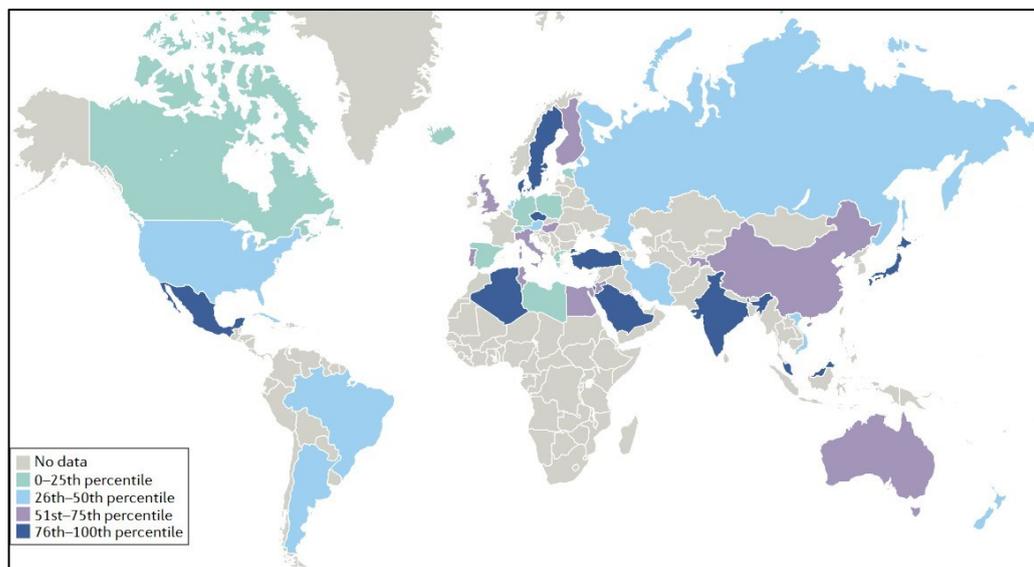


Figura 1.1: Prevalenza mondiale della celiachia determinata da sieropositività, (Makharia et al.) (6)

L'epidemiologia della MC può essere efficacemente rappresentata dal modello iceberg. Il numero totale dei casi è rappresentato dalla grandezza dell'iceberg, la "parte visibile" è rappresentata da tutti quei casi diagnosticati in seguito ad evidenze cliniche. Tuttavia, nei paesi sviluppati, per ogni nuovo caso, cinque non vengono diagnosticati, a causa della presenza di sintomi lievi o totale assenza di essi. Questi casi diagnosticati non vengono trattati, esponendo i soggetti al rischio di insorgenza di complicanze. Per questo è quindi di primaria importanza effettuare attenti screening nei soggetti predisposti (Figura 1.2) (12).

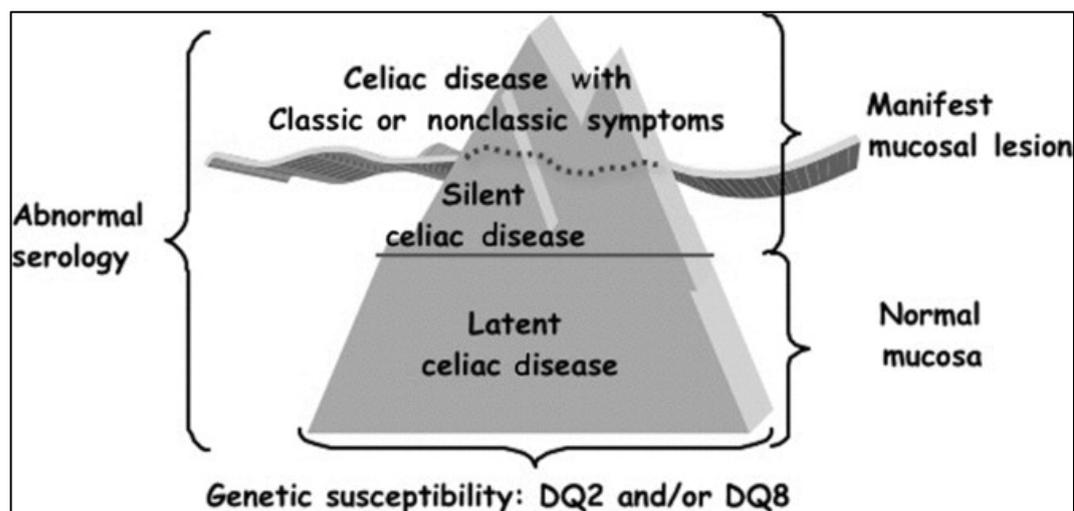


Figura 1. 2: Il modello Iceberg (Lionetti et al.) (12)

## 1.2 Patogenesi

### 1.2.1 La componente genetica

Nella patogenesi della MC, la componente genetica ha un ruolo di fondamentale importanza. La predisposizione allo sviluppo della patologia è stata studiata in cluster familiari: nei parenti di primo grado, si è osservato un rischio 20-30 volte maggiore rispetto alla popolazione generale di sviluppare la MC (13). Alcuni studi hanno confermato che la concordanza tra gemelli omozigoti sia del 75%, mentre tra gemelli dizigoti sia inferiore, ma comunque rilevante (11%) (14, 15). Come detto in precedenza, la MC si associa alla presenza di determinati complessi HLA, in particolare l'aplotipo DQ2 si riscontra nel 95% dei pazienti, mentre l'aplotipo DQ8 nel restante 5% (13). Tuttavia, la sola presenza di questi complessi rappresenta una condizione necessaria ma non sufficiente allo sviluppo della patologia, infatti, solo nel 40% dei portatori si sviluppa la patologia (4, 16). L'aplotipo DQ2/DQ8 si può inoltre associare all'aplotipo HLA-DR, formando il complesso DQ-DR. Questo complesso sembra associato ad un rischio aumentato per alcune malattie autoimmuni, come il morbo di Graves, la tiroidite di Hashimoto, diabete mellito di tipo 1, miastenia gravis e artrite reumatoide (17). Ad oggi, sono stati identificati 40

loci non-HLA associati a funzioni immunitarie che potrebbero essere associati alla malattia celiaca: si tratta principalmente di SNP (Single Nucleotide Polymorphism) riscontrate a livello di regioni non codificanti, che suggeriscono un'implicazione epigenetica nella patogenesi della MC (18).

### **1.2.2 Il ruolo del glutine**

Il glutine rappresenta il principale trigger della patologia in quanto è la causa scatenante della reazione immunitaria. È un complesso proteico contenuto nell'endosperma di cereali come il grano, la segale o l'orzo, composto da una combinazione di gliadine e glutenine, ricche in prolamina e glutamina(2, 19). La composizione chimica delle componenti del glutine le rende molto difficili da digerire, anche da un intestino sano (20). Inoltre, alcuni dei peptidi che vanno a comporre la gliadina, in particolare i residui 33-mer e 25-mer, sono altamente resistenti alla proteolisi gastrica, pancreatico e intestinale: essi permangono nel lume e penetrano attraverso la barriera epiteliale, causando una reazione infiammatoria a livello della lamina propria(21). Rimane dibattuta la questione su come il peptide antigenico attraversi la barriera epiteliale: alcuni studi mostrano come il trasporto sia mediato da meccanismi para-cellulari attraverso le tight-junctions (22), mentre altri suggeriscono vie epiteliali di transitosi, specialmente nella mucosa infiammata dei pazienti celiaci (23,24). Una volta superata la barriera intestinale, i peptidi di gliadina diventano substrato della transglutaminasi tissutale di tipo 2 (tTG2). tTG2 è un enzima ubiquitario calcio-dipendente che catalizza modificazioni post-traduzionali delle proteine e viene prodotta durante i processi infiammatori. In particolare, è caratterizzata da un'affinità elevata per i prodotti di degradazione del glutine(25). Ha due importanti funzioni nella patogenesi della MC: da una parte aumenta la funzione immunostimolatoria del glutine, dall'altra funge da autoantigene nella risposta immunitaria. Per quanto riguarda il primo punto, i peptidi di gliadina deaminati vengono presentati ai linfociti T CD4 dai complessi HLA-DQ2 e 8 (26), attivando un'importante reazione infiammatoria. In seguito, viene prodotta un'elevata quantità di citochine pro-infiammatorie tipiche della risposta Th1, quali interferone gamma (IFN- $\gamma$ ), interleuchine 18 e 21 (IL-18 e IL-21). Queste citochine sono responsabili del rimodellamento della mucosa, dell'atrofia dei villi e dell'iperplasia

delle cripte di Lieberkuhn. L'IFN- $\gamma$  è responsabile della trasformazione dei miofibroblasti in macrofagi, i quali producono TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor) e metalloproteasi, che favoriscono la proteolisi e il rimodellamento della matrice extracellulare (27, 28). Ha un ruolo centrale IL-15, prodotta da epitelio e macrofagi, che contribuisce allo sviluppo dell'inflammatione inibendo la soppressione della risposta immunitaria e favorendo l'attivazione dei linfociti CD8 citotossici, i quali contribuiscono al danno mucosale (29). Per quanto riguarda il ruolo di autoantigene della tTG2, esso è favorito da un cross-link stabilito tra i residui di gliadina e l'enzima stesso. In questo contesto, linfociti T autoreattivi, presenti nella lamina propria, espongono i complessi gliadina-enzima a linfociti B specifici, favorendo la produzione di anticorpi anti-tTG (Figura 1.3) (30). La funzione di questi anticorpi risulta dibattuta, in quanto essi sembrano inibire la funzione della tTG2 (31), elemento apparentemente in contrasto con la patogenesi della MC. Tuttavia, è stato dimostrato che il grado di inibizione non risulta sufficiente, oltre al fatto che gli anticorpi anti-tTG possono interagire con la tTG2 epiteliale attivando un rapida liberazione di calcio intracellulare, che attiva la funzione enzimatica (25). È stato inoltre evidenziato come la gliadina interagisca con la mucosa del piccolo intestino, stimolando la produzione di IL-8 da parte degli enterociti e richiamando in loco i neutrofili della lamina propria. Allo stesso tempo il peptide, interagendo con il recettore CXCR3, causa il rilascio di zonulina, una proteina paracrina che regola l'apertura delle tight junctions, determinando un aumento della permeabilità intestinale (32).

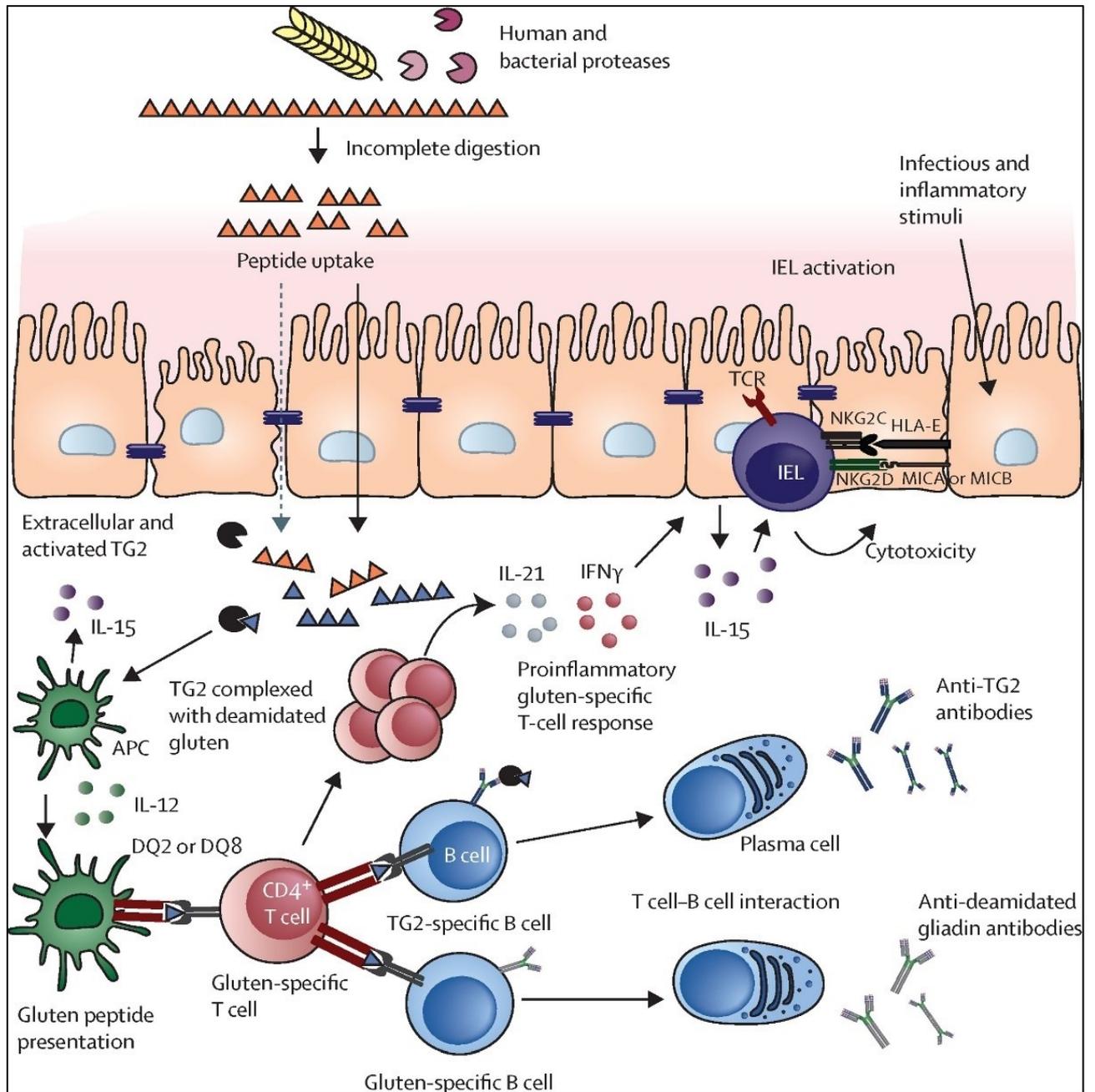


Figura 1.3 Patogenesi della MC (Catassi et al.) (87)

### 1.2.3 Il ruolo del microbiota

Negli ultimi anni, il ruolo svolto dal microbiota nella patogenesi della MC è stato studiato con attenzione sempre maggiore. Il tratto gastrointestinale ospita un ampio numero di batteri commensali, che costituiscono un micro-ecosistema che funge da “barriera” contro le patologie (33). Inoltre, possiede un ruolo chiave nel metabolismo e digestione degli alimenti e nella regolazione del sistema immunitario: il microbiota infatti, contribuisce allo sviluppo e al funzionamento dell’immunità adattativa e bilancia la secrezione di citochine pro- e anti-infiammatorie; si ipotizza, quindi, che una condizione di disbiosi possa contribuire allo sviluppo della MC (34). In particolare, studi recenti hanno evidenziato alterazioni nella composizione del microbiota dei pazienti malati, che presentavano in maggior numero Firmicutes e Proteobacteria, e una diminuita quota di Actinobacteria, Lactobacilli e Bifidobacterium (35). È stato dimostrato come questi ultimi abbiano un’importante funzione nel metabolismo del glutine e nella modificazione del potenziale immunogenico dei peptidi di gliadina (36). Cambiamenti nel microbiota intestinale giocano un ruolo importante anche per quanto riguarda l’alterazione della barriera intestinale e permeabilità dell’epitelio. I Bifidobacterium, ad esempio, riducono la permeabilità intestinale, il rilascio di citochine Th1 e il danno alla mucosa digiunale. Condizioni di disbiosi sono associate ad un aumentato rilascio di zonulina che, come riportato nel paragrafo 1.2.2, favorisce l’apertura delle tight junctions permettendo l’entrata di peptidi di gliadina non completamente digeriti. Inoltre, studi recenti hanno dimostrato come il butirrato, derivati dai processi metabolici del microbiota, possa aumentare il rischio di autoimmunità stimolando processi epigenetici (37). Lo studio della funzione del microbiota potrebbe quindi tornare utile soprattutto per quanto riguarda opzioni terapeutiche da associare alla dieta senza glutine (GFD), Tuttavia ad oggi in letteratura mancano dati a supporto di queste ipotesi e sono necessari ulteriori studi (35, 38).

### 1.3 Quadro clinico

Inizialmente, la MC veniva considerata come una patologia tipica dei bambini di etnia caucasica. Ad oggi invece è noto che possa affliggere persone di età e etnie diverse, presentandosi con una sintomatologia variabile, riconducibile appunto alla sua natura sistemica (1). Negli ultimi anni anche i sintomi alla comparsa della malattia sono cambiati; infatti, la diarrea prolungata e il rallentamento della crescita, tipici dei bambini, il malassorbimento e la diarrea cronica, tipici degli adulti, risultano essere meno frequenti. È stato evidenziato che più del 50% dei soggetti presenta sintomi minori come anemia, ipertransaminemia o dolore addominale(39, 40). Nel 2011, venne stilata la classificazione di Oslo della MC, la quale identificava 5 diverse forme in base alla presentazione clinica: classica, non-classica, subclinica, potenziale e refrattaria (41).

- **Forma classica:** è caratterizzata da perdita di peso, diarrea cronica con steatorrea e ipocolesterolemia associati a sindrome da malassorbimento; nel bambino associati inoltre a ritardo della crescita, sarcopenia e astenia, distensione addominale, calo dell'appetito e alterazioni dell'umore. La sindrome da malassorbimento si presenta con perdita di peso, steatorrea, edemi secondari dovuti ad ipoalbuminemia(41,42). Essa si riscontra più frequentemente nel bambino ed è rara nell'adulto. Tuttavia, questa manifestazione può avere conseguenze importanti fino all'ospedalizzazione per sarcopenia, cachessia, ipoalbuminemia significativa e squilibri elettrolitici (43). Una particolare manifestazione di questa forma è la cosiddetta "crisi celiaca", fortunatamente molto rara oggi. Essa è caratterizzata da diarrea acquosa acuta, disidratazione severa e squilibri metabolici maggiori che possono condurre a debolezza neuromuscolare, crisi tetaniche, aritmie e morte improvvisa in alcuni casi (44);

- **Forma non classica:** include tutti quei pazienti che manifestano sintomi extra-intestinali (41). Si tratta del fenotipo più frequente nei soggetti adulti. Tra i sintomi si riscontrano: anemia microcitica o, più raramente, macrocitica; osteopenia dovuta ad una carenza di calcio e vitamina D3 (che interessa fino al 70% dei pazienti);

difetti nello smalto dei denti; stomatite aftosa; ampio spettro di manifestazioni neurologiche come mal di testa, parestesie, neuriti, ansia e depressione; alterazioni ginecologiche come menopausa precoce o menarca ritardato, amenorrea; alterazione della mobilità degli spermatozoi (45,46). La condizione di osteopenia e l'anemia da carenza di ferro sono le più frequenti e richiedono particolare attenzione. L'anemia viene riscontrata in circa la metà dei pazienti ed è più frequente negli adulti rispetto ai bambini. Le cause possono essere identificate sia in una perdita di ferro, sia in un alterato assorbimento dello stesso o di folati e vitamina B12, sia per perdite di sangue occulto dal tratto gastrointestinale. Il trattamento di questa condizione consiste sostanzialmente nella rimozione del glutine dalla dieta associato ad integrazione di ferro fino al recupero completo dei depositi (47). Anche osteopenia e osteoporosi sono condizioni frequentemente associate alla MC. La causa è da attribuire al malassorbimento, che porta ad una carenza di calcio e vitamina D3, e all'infiammazione cronica associata alla secrezione di citochine pro-infiammatorie, che hanno un ruolo nell'osteoclastogenesi attraverso l'attivazione del pathway di RANKL (48). L'osteoporosi è caratterizzata da una significativa perdita di massa ossea che colpisce la densità del tessuto scheletrico e il turnover osseo, contribuendo ad un aumento del rischio di fratture così come a un aumento del tasso di morbilità e mortalità. Al momento della diagnosi della MC dovrebbero essere indagati i livelli di calcio, vitamina D, PTH e ALP e, in caso di bassi livelli sierici oppure assenza di aumento di BMD (Bone Mineral Density) dopo un anno di GFD, viene raccomandata la supplementazione (49–51).

- **Forma subclinica:** si tratta di una forma che si presenta sempre più frequentemente, grazie alle maggiori attenzioni rivolte verso la MC (41, 52). In questo gruppo rientrano i pazienti che non presentano una franca sintomatologia ma nei quali si riconosce un netto benessere dopo l'introduzione della GFD. Un esempio tipico sono i soggetti sottoposti ad uno screening per familiarità o di massa. Il crescente numero di casi, in particolare tra gli adulti, sembra proprio essere dovuto ad un'efficace e razionale utilizzo dei mezzi di screening piuttosto che ad un effettivo aumento del numero di casi (53);

- **Forma potenziale:** si riferisce a soggetti che presentano una normale architettura della mucosa, associata ad un aumentato rischio di sviluppare la

malattia, definito dalla positività degli anticorpi anti-endomisio (EMA) e/o anti-tTG, in presenza dell'aplotipo HLA-DQ2 e DQ8(42). Può essere definita anche con il termine "latente", attribuito a posteriori per indicare il periodo di tempo compreso tra la diagnosi di MC potenziale e la comparsa di lesioni intestinali. Come citato nel paragrafo precedente, anche i casi che presentano questo fenotipo sono in aumento proprio grazie alle maggiori attenzioni verso la patologia e lo screening (54). Per i soggetti con MC potenziale non viene raccomandata l'introduzione della GFD in quanto non tendono a sviluppare atrofia(55). Nonostante l'assenza di lesioni severe della mucosa, questi pazienti possono presentare sintomi gastrointestinali o extra-intestinali, o risultano asintomatici. È stato inoltre evidenziato come, nei bambini con MC potenziale, la maggior parte rimanga sana, e circa il 20% sviluppi sintomi principalmente gastrointestinali come malassorbimento, diarrea cronica e dolore addominale. Negli adulti invece, i soggetti sintomatici sono molto più frequenti e presentano una clinica caratterizzata soprattutto da sintomi extra-intestinali. I soggetti più a rischio di sviluppare atrofia dei villi sono identificati da depositi intestinali di IgA anti-tTG; infatti, dopo tre anni, circa un terzo di questi soggetti svilupperà la patologia (43,56) Per quanto riguarda la patogenesi, sembrerebbe che questi soggetti mostrino caratteristiche genetiche leggermente diverse rispetto ai soggetti sintomatici, con un rischio correlato alla presenza di HLA-DQ diminuito. Esistono, inoltre, dei marcatori specifici per queste forme potenziali: l'allele c-REL\*G compare con una frequenza maggiore rispetto alla MC classica; i soggetti potenziali over- esprimono KIAA1109 e IL-2, mentre l'espressione di IL-21 risulta soppressa, al contrario dei pazienti con MC (57).

- **Forma refrattaria:** è definita dalla presenza di sintomi e segni malassorbitivi persistenti o ricorrenti nonostante la GFD per più di 12 mesi (41). Prima di porre la diagnosi, è necessario accertarsi dell'aderenza alla dieta ed escludere altre cause di atrofia dei villi come enteropatie autoimmuni, sprue tropicale, immunodeficienza comune variabile o enteropatia da farmaci (58). La MC refrattaria (RCD) è suddivisa in tipo I, caratterizzato da un numero dei linfociti intraepiteliali normale, e tipo II, caratterizzato da un'espansione clonale dei linfociti. Questo secondo fenotipo merita particolari attenzioni in quanto, nonostante la citologia e il potenziale proliferativo in situ siano normali, i linfociti

che presentano caratteristiche quali anomalie cromosomiche, clonalità del gene del T-receptor e perdita degli antigeni sulla superficie, permettono di classificare questa forma come linfoma intraepiteliale criptico. In particolare, i linfociti anomali non presentano sulla superficie CD8, CD4 e TCR-ab, e sono caratterizzati dall'espressione anormale di CD3e citoplasmatico e CD103 superficiale (59). L'epidemiologia della RCD non è del tutto chiara. Lo studio di Roshan et al. riporta un'incidenza cumulativa di 1,5% per entrambe le forme. Inoltre, il tipo I risulta essere diagnosticato più frequentemente in America, mentre il tipo II in Europa. Non è chiaro se queste differenze possano essere dovute ad una diversa distribuzione dei geni HLA o semplicemente ad abitudini alimentari diverse (60). La RCD è un importante ambito di studio, pertanto verrà approfondita maggiormente in seguito, nel capitolo 2.

### **1.3.1 Patologie associate alla celiachia**

Sono diverse le patologie che possono presentarsi in associazione con la MC. Questo è principalmente spiegato dal fatto che la MC rientra nello spettro delle malattie autoimmuni. Saper riconoscere e associare queste manifestazioni alla patologia in questione può essere utile per la diagnosi di casi oligosintomatici. Le cause dell'associazione tra le varie patologie sono diverse: alcune condividono la base genetica, come il diabete mellito di tipo I, altre i meccanismi patogenetici, e la restante parte possiede una causa purtroppo sconosciuta. Risulta quindi fondamentale individuare al più presto queste associazioni, in modo tale da poter rimuovere l'assunzione di glutine, per portare ad una regressione dei sintomi e ad un miglior controllo della malattia (61).

#### **Dermatite erpetiforme**

È una condizione caratterizzata dalla presenza di lesioni papulovesicolari cutanee simmetriche sulle braccia, sulle gambe, sulle natiche, sul tronco, sul collo e sullo scalpo, che possono essere sostituite da escoriazioni ed erosioni a causa dell'intenso prurito che provocano. Il prurito e le escoriazioni possono portare alla lichenificazione. Inoltre, può insorgere iperpigmentazione post-infiammatoria dopo

la risoluzione della lesione. All'immunofluorescenza si evidenziano caratteristici depositi granulari lineari di IgA diretti contro la tTG3 epidermica. Si riscontra circa nel 15-25% dei soggetti celiaci, ed è la più comune e specifica manifestazione cutanea della MC. Essendo specifica della patologia, il trattamento più efficace è la GFD (61, 62). La distribuzione della dermatite è variabile: nel Nord Europa sono presenti il maggior numero di casi; tuttavia, l'incidenza nei pazienti pediatrici è più alta nei Paesi mediterranei. Ciò potrebbe essere dovuto a differenze nella dieta e/o nella predisposizione genetica. I maschi sono più frequentemente interessati rispetto alle femmine, con un rapporto di 2:1, nonostante la MC sia più frequente nel sesso femminile. La dermatite erpetiforme si presenta più frequentemente tra i 30 e 40 anni, mentre nell'infanzia è più rara (63). Alla GFD può essere associata la terapia farmacologica con dapsonsone, per risolvere efficacemente e velocemente il prurito e l'eruzione cutanea. La risoluzione delle lesioni cutanee può essere lenta e alcuni pazienti devono attendere 1-2 anni dall'inizio della GFD, per la completa scomparsa della dermatite (64).

### **Patologie endocrine**

Per quanto riguarda le patologie endocrine, sicuramente una delle più studiate è il DM1. L'associazione tra questa patologia e la MC è stata ampiamente indagata, in quanto, approssimativamente il 5-10% dei pazienti con DM1 presentano anticorpi anti-tTG, ed il 75% di questi presenta anche anomalie alla biopsie del piccolo intestino (62). La base genetica comune del DM1 e della MC è stata ben documentata, principalmente studiando la presenza dei geni HLA di classe II come DQ2 e DQ8, poiché sono presenti nel 95% dei pazienti con DM1 e quasi nel 99% dei pazienti con MC, rappresentando un significativo fattore di rischio per entrambe le patologie (65, 66). Tuttavia, la maggior parte dei soggetti portatori del gene non svilupperà la malattia, motivo per cui è necessario indagare potenziali cause ambientali. Il trigger principale per la MC è ovviamente il glutine, perciò è stato indagato il ruolo della molecola nella patogenesi del DM1: si è osservato che l'assunzione di glutine in bambini a rischio di età inferiore ai tre anni predispone alla produzione di anticorpi contro le isole pancreatiche (67). Inoltre, è stato anche osservato un maggior rischio di insorgenza anche per la MC in relazione

all'assunzione di glutine prima dei tre mesi o dopo 7 mesi (68). Per quanto riguarda la patologia tiroidea, in uno studio condotto in Svezia, dove la prevalenza della MC era di 95,5 su 10.000, Midhagen et al. hanno osservato che la tireotossicosi si verificava nel 5,0% e l'ipotiroidismo nel 5,8% dei pazienti celiaci (69). Anche in questo caso, alla base dell'aumentata predisposizione sembra esserci un background genetico condiviso, sempre legato alla presenza dei complessi HLA-DQ2 e 8 (70). Tuttavia, oltre alle regioni HLA, le due patologie sembrerebbero essere associate a determinati aplotipi di CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4). Inoltre, è stato osservato che gli anticorpi anti-tTG2 possono legare la tTG2 presente a livello del tessuto tiroideo: il titolo di questi anticorpi correla con il titolo degli anticorpi anti-TPO, suggerendo quindi un ruolo nella patogenesi delle malattie tiroidee (71–73). Purtroppo, l'introduzione della GFD non sembra avere particolare influenza sulla patologia tiroidea (74, 75). Non esistono attualmente indicazioni per lo screening della MC nel contesto delle malattie autoimmuni della tiroide; tuttavia, dovrebbe essere effettuato almeno un controllo completo dello stato di salute, lo stato di crescita e pubertà dovrebbero essere monitorati e qualsiasi evidenza di arresto della crescita o sintomi riferibili alla MC dovrebbero essere indagati mediante lo screening degli anticorpi anti-tTG. Nei pazienti con MC, è relativamente facile effettuare lo screening per anomalie tiroidee e sicuramente dovrebbe essere fatto in caso di scarsa crescita, perdita di peso o altri segni o sintomi di ipo- o ipertiroidismo (62).

### **Altre patologie**

La MC è associata anche a patologie del fegato. In circa un terzo dei bambini con MC di nuova diagnosi, si riscontra un danno epatico preesistente. Inoltre, si rileva frequentemente ipertransaminemia soprattutto nei pazienti con forme classiche di MC, che spesso risponde alla GFD (64). I sintomi sono tuttavia aspecifici. L'ipertransaminemia nei pazienti con MC potrebbe essere attribuita ad una disfunzione dell'asse intestino-fegato. Il funzionamento ottimale dell'asse intestino-fegato dipende da un intestino integro e da un fegato sano, che garantiscono una normale risposta immunitaria. Il danno epatico in questi pazienti potrebbe derivare dalla compromissione dell'integrità e della funzione dell'epitelio

intestinale, a causa dell'effetto tossico dei peptidi di gliadina, mediato da citochine, che agisce sul fegato (76). Inoltre, la MC si associa anche epatiti acute e croniche, colangite sclerosante primitiva, cirrosi biliare primitiva, epatiti autoimmuni, NAFLD (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease), insufficienza epatica e fibrosi (77). Quindi, la presenza di danno epatico dovrebbe essere investigata nei pazienti celiaci. Il trattamento dietetico potrebbe prevenire la progressione ad un danno epatico severo fino all'insufficienza epatica (78). Condizioni di iposplenismo si riscontrano in circa un terzo dei pazienti con MC sintomatica, predisponendo ad un maggiore rischio di infezioni e complicanze tromboemboliche e autoimmuni. Tuttavia, la valutazione della funzione splenica non è considerata una procedura regolare nella gestione clinica dei pazienti con MC non complicata (47). In conclusione, possono essere associati alla MC anche altri disturbi di origine autoimmune di tipo neurologico e reumatologico. In particolare, l'atassia da glutine e neuropatie periferiche sono quelle più frequentemente correlate e possono insorgere anche in assenza di enteropatia (61). L'atassia da glutine è una patologia immunomediata scatenata dall'ingestione di glutine in pazienti predisposti, il cui danno è dovuto alla presenza di anticorpi anti-gliadina (AGA) (79). La MC può essere, inoltre, associata a patologie reumatologiche come la sindrome di Sjogren, artrite idiopatica giovanile, artrite reumatoide, LES (Lupus Eritematoso Sistemico), psoriasi e sarcoidosi (61, 80, 81).

## 1.4 Diagnosi

Sebbene la MC sia un problema di salute pubblica globale, la proporzione di individui che ricevono una diagnosi è di molto inferiore rispetto alla prevalenza complessiva di questa condizione (5). Una rapida diagnosi e un altrettanto rapido trattamento sono essenziali per evitare l'insorgenza di complicanze (82). La diagnosi della MC si basa su tre parametri chiave: identificazione dei casi, test di screening e test diagnostici definitivi. Questi parametri sono cambiati sostanzialmente negli ultimi 50 anni, grazie a una migliore comprensione della presentazione clinica della malattia e all'avvento di strumenti diagnostici e test più sensibili e specifici (83). È indicato che il paziente venga sottoposto all'iter

diagnostico in dieta libera (contenente quindi glutine): se il paziente ha già iniziato la GFD, è necessario che riassuma glutine per un tempo sufficientemente lungo prima di effettuare gli esami, proprio per evitare falsi negativi (11, 84). In particolare, sarebbe corretto testare preventivamente per la MC determinate tipologie di soggetti. In primis gli individui con sintomi gastrointestinali (diarrea cronica, malassorbimento, perdita di peso e distensione addominale), ma anche gli individui che presentano sintomi quali transaminasi persistentemente elevate, bassa statura, pubertà ritardata, anemia da carenza di ferro, aborti ricorrenti e infertilità. Altre condizioni per le quali potrebbe essere considerato il test per la MC includono la sindrome dell'intestino irritabile (IBS), la stomatite aftosa persistente, le malattie autoimmuni, la neuropatia periferica, l'atassia cerebellare e l'ipoplasia dello smalto dentale (85).

### **1.4.1 Sierologia**

I test sierologici sono importanti nella diagnosi della MC. I test per gli AGA sono stati utilizzati per decenni ma non sono più raccomandati a causa dell'inferiore validità rispetto ad altri test disponibili (86). Oggigiorno, questo tipo di test è stato sostituito dalla misurazione di anticorpi anti-tTG e EMA. Attualmente, il test più attendibile è quello che valuta IgA anti-tTG (analizzati tramite tecnica ELISA), utile sia per la diagnosi che per il follow-up, in virtù del suo alto potere diagnostico e della sua disponibilità (5, 85). Nelle persone che seguono una dieta contenente glutine, la presenza di anticorpi anti-tTG2 di classe IgA è altamente sensibile e specifica per la diagnosi di MC (>95%). Il test per questi anticorpi, insieme alla misurazione della IgA sierica totale per escludere una carenza selettiva di IgA, è considerato il miglior test di screening di primo livello per la MC. Un'alta concentrazione di IgA anti-tTG2 sierica è fortemente associata alla presenza di atrofia dei villi nella biopsia dell'intestino tenue (87). Gli EMA (saggiati tramite immunofluorescenza) godono di una elevata specificità (99%), e sono pertanto, utilizzati come test di conferma qualora il titolo di IgA anti-tTG risultasse debolmente positivo. Secondo le linee guida europee, nei bambini è possibile evitare l'esecuzione della biopsia duodenale, qualora gli EMA fossero positivi e gli anti-tTG2 risultassero maggiori di 10 volte il limite superiore di normalità (11, 43,

88). È possibile, inoltre, analizzare le IgG contro i peptidi di gliadina deaminata (anti-DGP), i quali presentano minore sensibilità (88%) e specificità (98%) rispetto a IgA anti-tTG2 (89). Tuttavia, risultano molto utili per pazienti con deficit selettivo di IgA (87, 90). Inoltre, in pazienti con carenza selettiva di IgA, può essere indicato la ricerca di IgG anti-tTG2. La carenza di IgA, che si riscontra nel 2-3% dei pazienti celiaci, richiede ulteriori approfondimenti per ricercare altre cause di atrofia dei villi, come giardiasi, overgrowth batterico o immunodeficienza variabile comune (91, 92).

### **1.4.2 Endoscopia**

La valutazione morfologica della biopsia duodenale è di fondamentale importanza per confermare la diagnosi di MC. L'istologia rappresenta ad oggi il "gold standard" diagnostico per questa patologia. Negli ultimi anni, però, i criteri istologici per la diagnosi sono cambiati radicalmente, con l'inclusione di atrofia lieve dei villi e lesioni minime, caratterizzate da un aumento isolato dei linfociti intraepiteliali (IEL), come possibili espressioni del danno intestinale correlato al glutine. Le linee guida più recenti indicano di eseguire quattro biopsie nella seconda porzione duodenale e due biopsie nel bulbo (43, 93). Le caratteristiche endoscopiche della MC includono fissurazioni della mucosa, mucosa nodulare o mosaicismo, atrofia del bulbo con vasi sottomucosi visibili e perdita/riduzione/festonatura delle pliche di Kerckring. Queste caratteristiche hanno un'alta sensibilità e specificità per la MC. Tuttavia, circa un terzo dei casi di MC di nuova diagnosi presenta un aspetto endoscopico completamente normale. Pertanto, quando si sospetta la MC, è necessario eseguire biopsie anche quando l'aspetto endoscopico del duodeno è normale (92). La diagnosi viene stabilita secondo le classificazioni modificate Marsh-Oberhuber e/o Corazza-Villanacci, con diverse scale basate sul numero di IEL, iperplasia delle cripte e atrofia dei villi (94, 95). Basandosi sullo sviluppo dinamico delle lesioni intestinali associate alla MC e sul frequente riscontro di casi di patologia con lesioni lievi, Marsh propose un sistema di stadiazione per valutare i cambiamenti istologici nella MC. Successivamente Rostami, e più tardi Oberhuber, proposero una classificazione standardizzata, basata su quella di Marsh, in cui lo stadio 3 fu suddiviso in 3A, 3B e 3C, caratterizzati

rispettivamente da lieve appiattimento dei villi, marcato appiattimento dei villi e mucosa completamente piatta (Tabella I). Attualmente, questa classificazione di Marsh modificata è utilizzata dalla maggior parte dei patologi sia per la diagnosi che per valutare la regressione delle lesioni dopo GFD.

Lo stadio 4 è stato, tuttavia, rimosso in quanto molti ritengono che questa forma sia dovuta principalmente a malnutrizione (88, 92).

<b>Marsh 0</b>	Mucosa normale e architettura villare inalterata
<b>Marsh 1</b>	<b>Infiltrativa</b> Normale architettura dei villi e aumentato numero di IEL
<b>Marsh 2</b>	<b>Iperplastica</b> Cripte più grandi e cellule con mitosi aumentate; Atrofia parziale dei villi.
<b>Marsh 3a</b>	<b>Atrofia parziale dei villi</b> Villi accorciati e smussati; Infiltrazione linfocitica lieve; Cripte iperplastiche ingrandite.
<b>Marsh 3b</b>	<b>Atrofia subtotale dei villi</b> Villi chiaramente atrofici, ma ancora riconoscibili; Cripte ingrandite con cellule epiteliali immature generate a un tasso aumentato; Infiltrazione di cellule infiammatorie.
<b>Marsh 3c</b>	<b>Atrofia totale dei villi</b> Perdita completa dei villi; Grave iperplasia delle cripte e lesione infiammatoria infiltrativa
<b>Marsh 4</b>	<b>Ipoplasica</b> Atrofia villare totale; Normale profondità delle cripte ma presenza di ipoplasia; Numero di IEL normale.

Tabella I: "Classificazione secondo Marsh-Oberhuber" (Villanacci et al.) (96)

Successivamente, Corazza e Villanacci proposero un sistema di classificazione più semplice, per ridurre al minimo il disaccordo tra i patologi e per facilitare il confronto tra biopsie di follow-up seriali. Secondo Villanacci, la valutazione isto-patologica delle biopsie dell'intestino tenue dovrebbe essere eseguita su campioni correttamente orientati contenenti 3-4 unità consecutive di villi-cripte. Il rapporto normale tra l'altezza dei villi e la profondità delle cripte varia da 3:1 a 5:1 nella seconda parte del duodeno, mentre un rapporto di 2:1 è considerato normale nel bulbo duodenale. La presenza di IEL sporadici è considerata normale. Un conteggio superiore a 25 IEL/100 cellule epiteliali è invece considerato un aumento anomalo (tabella II) (96, 97). La tecnica di biopsia a "single-bite" permette di ottenere un migliore orientamento istologico (nella quale i rapporti cripta-villo possono essere adeguatamente misurati) rispetto alle cosiddette biopsie "double-bite" (98). Tuttavia, nonostante le linee guida, l'aderenza attuale alla migliore pratica clinica negli ambienti sanitari è ancora altamente variabile e, probabilmente, contribuisce ulteriormente ai ritardi nella diagnosi.

<b>GRADO A</b>	<b>Non atrofiche</b> Conservato rapporto villo-cripta; Aumentato numero di IEL (>25/100 cellule epiteliali).
<b>GRADO B1</b>	<b>Parzialmente atrofica</b> Atrofia villare moderata; Iperplasia delle cripte (mitosi >1/cripta); Aumento di numero di IEL (>25/100 cellule epiteliali).
<b>GRADO B2</b>	<b>Atrofia totale</b> Atrofia villare (grado severo); Iperplasia delle cripte (mitosi >1/cripta); Aumento di numero di IEL (>25/100 cellule epiteliali).

Tabella II "Classificazione Corazza-Villanacci" (Villanacci et al.) (96)

La letteratura riferisce che tra il 5% e il 13% dei pazienti con diagnosi di MC abbia avuto una precedente endoscopia senza biopsia o con una biopsia inadeguata, risultando in un ritardo nella diagnosi (99). Le linee guida della Società Europea di Gastroenterologia, Epatologia e Nutrizione Pediatrica, indicano che la biopsia

dell'intestino non è necessaria nei bambini con sintomi tipici, un alto titolo di anticorpi anti-tTG2 (superiore a 10 volte il limite superiore della norma) e un genotipo HLA predisponente (100). In uno studio del 2023 condotto da Ciacci et al. è stato dimostrato come l'approccio "no-biopsy" potesse essere esteso anche ai pazienti adulti. In particolare, è possibile effettuare diagnosi in pazienti che abbiano un'alta probabilità pre-test (quindi deve sussistere il sospetto clinico di MC), i quali presentino un titolo di IgA anti-tTG2 maggiore di 10 volte il limite superiore di norma, con un VPP di 97,5%. Secondo lo studio, il rischio di effettuare una diagnosi errata utilizzando un metodo non invasivo, è controbilanciato dall'eliminazione dei rischi dovuti a procedure invasive, dalla riduzione dei costi e dalla riduzione del tempo impiegato per porre diagnosi di MC (101). Il riscontro di atrofia dei villi in un paziente con malassorbimento privo di anticorpi per la MC non è necessariamente indicativo di MC sieronegativa, poiché molti altri disturbi, che imitano il quadro clinico della MC, possono causare atrofia dei villi. La diagnosi differenziale tra MC sieronegativa e altre cause di atrofia dei villi è ancora una sfida con rilevanti implicazioni in termini di esito e trattamento (92, 102). Alcune possibili cause sono: infezioni parassitarie (*Giardia lamblia*), enteropatia autoimmune, contaminazione batterica dell'intestino tenue, immunodeficienza comune variabile, gastroenterite eosinofila, enteropatia indotta da farmaci (antagonisti del recettore dell'angiotensina II, cioè olmesartan e altri sartani, farmaci antinfiammatori non steroidei e micofenolato), linfoma intestinale, malattia di Crohn, sprue tropicale, enteropatia da HIV e malattia di Whipple (103, 104).

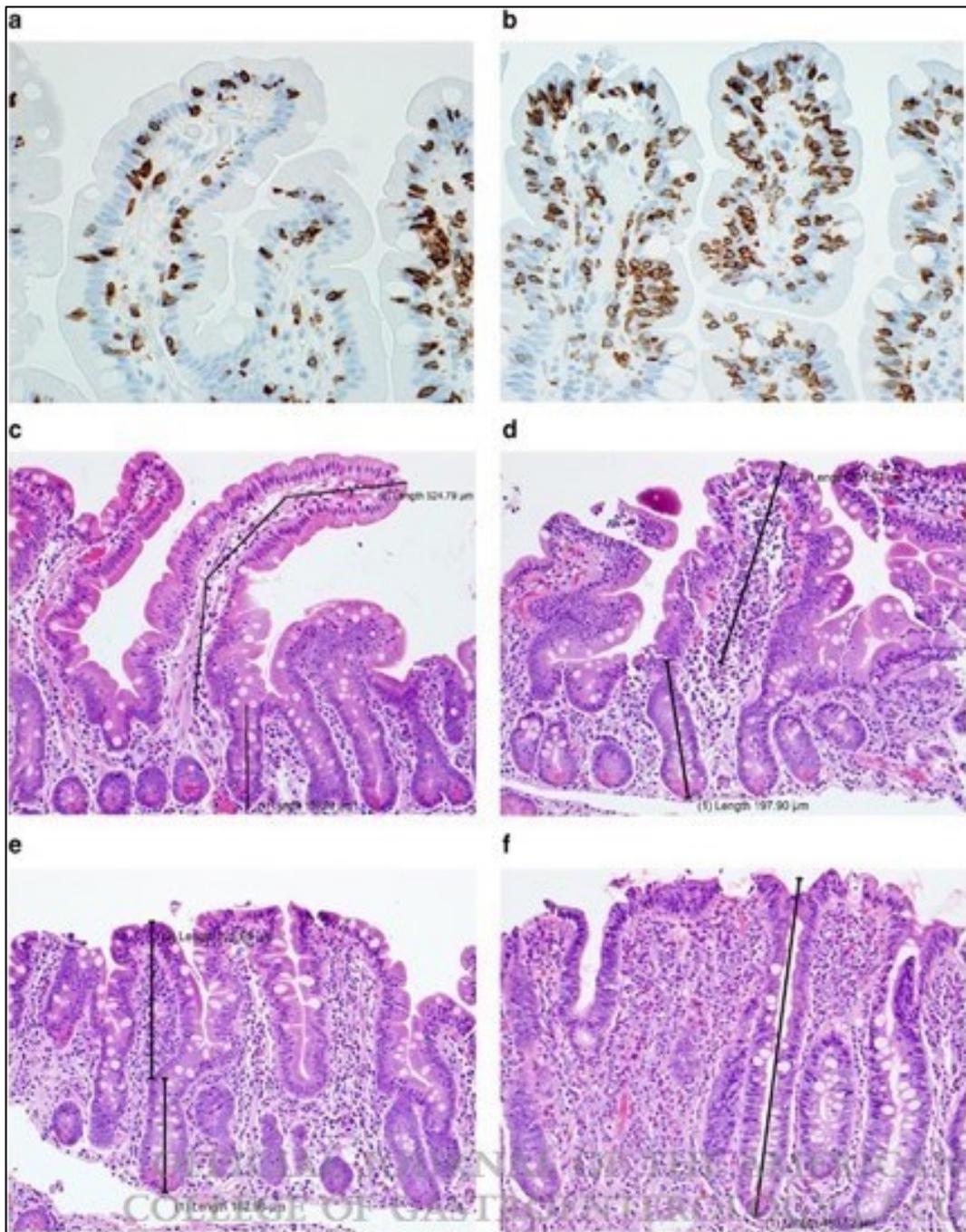


Figura 1.4: Valutazione del numero di linfociti intraepiteliali (IEL) e del rapporto tra l'altezza dei villi e la profondità delle cripte.

Sezioni della mucosa ad alto ingrandimento colorate per i linfociti CD3+, (a) numero normale e (b) aumento degli IEL soprattutto all'apice del villo (>30 IEL per 100 enterociti).

Sezioni di mucosa in (c) un paziente con malattia celiaca ben trattata e dieta priva di glutine, (d, e) pazienti con GFD e malattia celiaca non completamente trattata con vari gradi di anomalia architettónica e (f) atrofia totale dei villi in un paziente con malattia celiaca di nuova diagnosi; i villi sono piatti e le cripte sono allungate. (Adelman et al.) (95)

### 1.4.3 Test genetico

La tipizzazione HLA per DQ2/8 non dovrebbe essere eseguita di routine nel sospetto di MC. I due marcatori non sono specifici per la MC e si riscontrano nel 40% della popolazione. Tuttavia, il test può risultare utile in alcune circostanze, ad esempio, per i bambini a rischio di MC che hanno una sierologia negativa, e per quei pazienti che non hanno una diagnosi certa (82, 87). È importante riconoscere gli eterodimeri di HLA-DQ2 in quanto HLA-DQ2.2 conferisce un basso rischio di sviluppare la malattia, mentre HLA-DQ2.5 è correlato ad un alto rischio (105). In genere, i pazienti celiaci che non esprimono HLA-DQ2.5 esprimono DQ8. Nei pochi casi, in cui questo non avviene, essi esprimono DQ2.2 e ancora più raro è il caso in cui nessuno dei complessi venga espresso (4,106). Un test genetico negativo rende la diagnosi improbabile, con un VPP > 99%. Le linee guida ne raccomandano l'esecuzione in determinate situazioni:

- Un test negativo è utile per escludere la possibilità di MC, ad esempio, in soggetti che abbiano già iniziato GFD prima del test;
- Quando la diagnosi di MC è incerta, ad esempio, sierologia negativa, ma istologia suggestiva di MC;
- Per distinguere i fratelli in cui si può affermare che sia improbabile che svilupperanno la MC da quelli che devono essere monitorati. Inoltre, la mancanza di comprensione della storia naturale della MC non diagnosticata può giustificare lo screening delle persone asintomatiche;
- Nei soggetti con altre patologie autoimmuni e alcuni disturbi genetici che dovrebbero essere indagati per la MC (92).

## 1.5 Complicanze

La MC può comportare un aumento di mortalità nei pazienti affetti principalmente a causa dell'insorgenza di alcune complicanze. Uno studio population-based in Svezia ha investigato la mortalità per causa specifica rilevando che i pazienti con

MC presentavano un rischio aumentato di morte a causa di malattie cardiovascolari, malattie polmonari e cancro (99). I pazienti non diagnosticati o che non aderiscono a una GFD rigorosa, sono inclini a sviluppare complicanze o lesioni correlate, tra cui osteoporosi, infertilità, malattie autoimmuni e tumori. Le neoplasie sono le complicazioni più gravi e dovrebbero essere sospettate quando le risposte attese alla GFD non vengono raggiunte o mantenute. I linfomi, principalmente a cellule T, e altri tumori maligni tra cui il carcinoma dell'intestino tenue e dell'esofago, sono associati alla MC (107). Tra le altre complicanze rientrano la RCD I e II, digiuno-ileite ulcerativa, linfoma a cellule T addominale, adenocarcinoma del piccolo intestino, le quali sono associate ad una prognosi infausta (108).

### **1.5.1 Linfoma intestinale**

Si tratta di un linfoma non-Hodgkins sia a cellule B che T, anche se il linfoma a cellule T risulta essere quello più frequente, che prende il nome di Linfoma T associato ad enteropatia (EATL). Sono tumori rari che compongono meno del 5% dei linfomi gastrointestinali primari. Lo sviluppo del linfoma è solitamente preceduto da una ricaduta clinica dopo un periodo di buona risposta all'eliminazione del glutine, anche se, in un sottogruppo di pazienti, vi è un deterioramento progressivo nel contesto di RCD(109) . Nella maggior parte dei casi, lo sviluppo dell'EALT è preceduto dalla RCD II che si trasforma in malattia maligna nel 33-52% dei casi entro 5 anni dalla diagnosi. Più raramente, l'EATL può svilupparsi dalla RCD I, con un tasso del 14% entro 5 anni (110). Macroscopicamente, l'EATL si presenta spesso multifocale con lesioni ulcerative, il che spiega l'alto tasso di perforazione al momento della comparsa o durante la chemioterapia. Solitamente ha un alto grado di malignità. È pleomorfo, con un insieme di cellule grandi, alcune delle quali mostrano caratteristiche di fagocitosi, e leucociti eosinofili (107). L'EATL ha un fenotipo relativamente uniforme. Tutti i casi esaminati finora hanno il fenotipo HMLI+, CD7+, CD4-, CD8-. L'espressione di CD3 è variabile. Inoltre, la presenza di granuli citoplasmatici lisosomiali nelle cellule tumorali e l'esclusiva comparsa nella mucosa, la frequente presenza di cellule tumorali intraepiteliali e la positività delle cellule tumorali con HML-1, suggeriscono che l'EATL possa essere

un tumore derivante da linfociti intraepiteliali, possibilmente della sottopopolazione intraepiteliale granulare (111). Il rischio di neoplasie linfoproliferative dipendeva dall'aspetto istopatologico dell'intestino tenue. Gli individui con MC accertata tramite biopsia presentano un rischio aumentato di neoplasie linfoproliferative, al contrario, gli individui con MC latente no. Questo risultato suggerisce che la sola sierologia positiva per la MC non può prevedere il rischio futuro di neoplasie linfoproliferative (112). I pazienti generalmente si presentano con dolore addominale, spesso associato a perforazione del digiuno, perdita di peso, diarrea o occlusione intestinale. Non esistono protocolli di trattamento validati e standardizzati per EATL a causa della rarità di questa malattia. Le strategie di trattamento ad oggi possono essere l'intervento chirurgico, chemioterapia e trapianto di cellule staminali (SCT), ciascuno applicato a seconda dell'idoneità del paziente (113, 114).

### **1.5.2 Carcinoma del piccolo intestino**

L'adenocarcinoma dell'intestino tenue (SBA) è una neoplasia estremamente rara, con un'incidenza di 5,7 casi per milione di persone. In Europa, il tasso stimato di nuovi casi all'anno è di 3600, principalmente nella settima decade di vita (115). A differenza del linfoma intestinale, il SBA non insorge in un contesto di RCD e si verifica più comunemente nelle pazienti di sesso femminile(108). Una diagnosi di MC ritardata e una bassa aderenza alla dieta sono le due maggiori cause di aumentata incidenza di tumore (116). Il legame tra l'SBA e la MC è stato indagato in alcuni studi, che hanno evidenziato come una varietà di meccanismi, tra cui l'infiammazione cronica, l'aumentata permeabilità a fattori cancerogeni, il malassorbimento di sostanze anti-cancerogene e una sorveglianza immunitaria compromessa, possano contribuire alla patogenesi del SBA derivante dalla MC. Come nella maggior parte dei tumori intestinali, anche il SBA può presentare la classica sequenza "adenoma-carcinoma", sebbene questa ipotesi sia ancora dibattuta (117). L'adenocarcinoma è caratterizzato da una localizzazione prossimale (duodenale/digiunale) e si può presentare con segni sia acuti (ostruzione, emorragia) che cronici (anemia, dolore addominale, perdita di peso) (109). Nei

pazienti con diagnosi di SBA correlato alla MC, è giustificato un approccio aggressivo a causa della buona sopravvivenza a 5 anni. D'altra parte, ogni paziente sottoposto a intervento chirurgico per SBA dovrebbe essere testato per escludere la MC attraverso un'accurata valutazione istopatologica del materiale resecato (in particolare, cercando l'atrofia mucosale nei margini liberi dal tumore), eventualmente preceduta da biopsie duodenali intraoperatorie e test sierologici (118). Le migliori opzioni terapeutiche includono interventi chirurgici radicali (enterectomia segmentale) e chemioterapia (119).

### **1.5.3 Digiuno-ileite ulcerativa**

La digiuno-ileite ulcerativa è una rara complicanza della MC tipicamente riscontrata negli adulti nella quinta o sesta decade di vita. È solitamente associata alla RCD e al possibile sviluppo dell'EATL. Essa è caratterizzata dalla presenza di ulcere croniche multiple e cicatrici che possono causare l'insorgenza di stenosi, simulando l'aspetto endoscopico e le manifestazioni cliniche della malattia di Crohn, vasculiti ischemiche e neoplasie digiunali (120). La patologia può presentarsi con sintomi variabili, tra cui dolore addominale, in genere il sintomo principale, diarrea, febbre e perdita di peso. La digiuno-ileite si può complicare con perforazioni, stenosi e sanguinamenti, ed è associata ad un alto rischio di mortalità. L'istologia dell'intestino tenue è simile a quella riscontrata nella MC, caratterizzata da una mucosa digiunale piatta e un'infiltrazione non specifica di linfociti, macrofagi, neutrofili e plasmacellule. Il genotipo HLA nei pochi casi riportati è identico a quello trovato nella MC e supporta l'associazione tra queste due patologie (121, 122).

## 1.6 Terapia

### 1.6.1 Dieta senza glutine

La GFD rappresenta l'unica terapia per il trattamento della MC, e viene indicata una volta che la diagnosi di malattia è stata accertata. La rimozione della sostanza antigenica responsabile della risposta immunitaria anomala e quindi dell'enteropatia, quasi sempre permette una regressione della malattia e delle sue manifestazioni, inclusa la dermatite erpetiforme. Tuttavia, la dieta è complessa. La motivazione e l'educazione del paziente sono di cruciale importanza, in particolare perché non esiste un trattamento alternativo (123). Sostanzialmente, la GFD consiste nell'escludere le quattro categorie di cereali che contengono glutine, e qualsiasi alimento derivato da essi. I pazienti devono, quindi, escludere sistematicamente tutti i prodotti da forno fatti con farina di grano, così come i prodotti alimentari industriali e le preparazioni la cui composizione potrebbe contenere glutine (124). La non aderenza alla dieta è comune, specialmente negli adolescenti. L'ingestione di anche piccole quantità di glutine (50 mg al giorno) può causare il ritorno dei sintomi, se presenti, e può essere associata a cambiamenti istologici dell'intestino tenue, anche in assenza di sintomi clinici evidenti. Per questo motivo, è importante far comprendere al paziente l'importanza dell'aderenza alla dieta per tutta la vita. In questo contesto, il coinvolgimento di una figura come quella del dietista può essere fondamentale (94,123). Tipicamente, i pazienti celiaci presentano carenza di vitamina B12 e folati, ferro, zinco, vitamina D e calcio a causa dell'atrofia della mucosa (124). L'atrofia intestinale non permette il corretto assorbimento di ferro, causando, quindi, anemia. Questa condizione si risolverà nel tempo grazie alla restitutio dei villi; tuttavia, nei pazienti con bassi livelli di ferro alla diagnosi potrebbe essere necessaria una supplementazione orale o, nei casi più gravi, terapia endovenosa (125). È stato dimostrato che l'integrazione di folati e vitamina B12 aiuta a migliorare ansia e depressione e potrebbe essere necessaria per anni, soprattutto nei soggetti con risposta lenta. La carenza di vitamina B12 è presente nel 5-41% dei casi non trattati di MC. La carenza di B12 viene tipicamente corretta a lungo termine con una GFD, ma dovrebbe essere trattata con l'integrazione di B12

nel breve termine (126). L'assorbimento della vitamina D è ridotto a causa del malassorbimento dei grassi. Inoltre, l'eliminazione dei prodotti caseari nei celiaci con concomitante intolleranza al lattosio porterà anche a una carenza di vitamina D. I livelli di vitamina D e calcio possono normalizzarsi entro 1-2 anni di una GFD rigorosa e, in alcuni pazienti, invertire la perdita ossea. Il calcio e la vitamina D dovrebbero essere integrati nei pazienti celiaci con livelli sierici bassi, in quelli con perdita di densità minerale ossea o in quelli che non riescono ad assumerne una dose adeguata tramite la dieta (127). La carenza di zinco può portare a un arresto della crescita e a una diminuzione della sintesi proteica. Con una GFD rigorosa, le carenze di zinco si risolvono e l'integrazione a lungo termine non è necessaria. Il malassorbimento può, inoltre, portare a una carenza di rame nella MC. Con il reintegro del rame, le manifestazioni ematologiche tipicamente si risolvono, ma i deficit neurologici possono essere irreversibili. In generale, queste carenze sono più comuni negli adulti che nei bambini.

## **1.7 Follow-up**

Dopo la diagnosi, è raccomandato un follow-up periodico per monitorare i progressi e il benessere dell'individuo, valutare l'aderenza alla GFD e garantire un adeguato supporto sociale (87). Nella maggior parte dei pazienti che segue adeguatamente una GFD si ha una regressione dei sintomi, oltre a una diminuzione dei livelli di anticorpi anti-tTG. Nel primo anno dopo la diagnosi, il follow-up deve essere frequente per ottimizzare l'aderenza alla dieta e fornire supporto psicologico necessario. Una volta che la malattia è stabile e i pazienti gestiscono la loro dieta senza problemi, i follow-up possono essere annuali o biennali; inoltre, è raccomandato verificare la compresenza di altre patologie autoimmuni associate (vedi paragrafo 1.3.1), e l'aderenza alla dieta, indagando gli anticorpi anti-tTG. Le anomalie degli enzimi epatici, se presenti al momento della diagnosi, devono essere monitorate: se persistono, è necessario un ulteriore approfondimento (immunologico, radiologico e/o istopatologico) (92). Una seconda biopsia duodenale, dopo l'introduzione di GFD, dovrebbe essere effettuata solo nei pazienti con sintomi persistenti e/o riscontro di deficit di micronutrienti (43). In assenza di

una valutazione istologica della mucosa duodenale, l'aderenza alla GFD può essere stimata anche tramite questionari/punteggi validati come:

- **Punteggio Celiac Dietary Adherence Test (CDAT):** questo punteggio valuta, su una scala da 1 a 5, la presenza di astenia e/o mal di testa nelle ultime 4 settimane, l'aderenza alla GFD fuori casa, la volontà di aver consumato un pasto contenente glutine nelle ultime 4 settimane, la capacità di comprendere le conseguenze delle proprie azioni e il sentimento di fallimento. Un punteggio totale pari o superiore a 14 è indicativo di una scarsa aderenza alla GFD (128);
- **Questionario di Biagi et al (Figura 1.5):** questo punteggio valuta tramite due variabili (sì e no) la volontà di aver consumato un pasto contenente glutine, la capacità di spiegare la propria condizione alla persona che cucina quando si mangia fuori casa, la capacità di leggere correttamente le etichette degli alimenti e il consumo esclusivo di cibi garantiti dall'associazione di riferimento locale per la MC. Il risultato finale è un punteggio su cinque diversi livelli (da 0 a 4) in cui i livelli 0 e 1 indicano una scarsa aderenza alla GFD, il livello 2 è indicativo di un'aderenza imperfetta alla GFD meritevole di correzione, e i livelli 3 e 4 sono indicativi di una stretta aderenza (129).



Figura 1.5: Score di valutazione dell'aderenza a GFD sviluppato presso il centro di Pavia (Biagi et al.) (122).

## Capitolo 2

### **PERSISTENZA DEI SINTOMI NEI PAZIENTI CELIACI**

Come appena descritto, l'unica terapia efficace per il trattamento della malattia celiaca è l'aderenza stretta alla GFD per tutta la vita. Questo intervento risulta essere efficace nella maggior parte dei pazienti; tuttavia, alcuni pazienti riferiscono una persistenza dei sintomi nonostante l'aderenza alla GFD. In questi casi, si parla di malattia celiaca non responsiva (NRCD), caratterizzata dal mancato miglioramento dei sintomi o segni clinici tipici della malattia entro 12 mesi dall'eliminazione del glutine. La causa principale della persistenza sintomatologica è quasi sempre la contaminazione degli alimenti. Lo studio di Stasi et al. ha riscontrato che il 37% dei pazienti non-responsive non seguiva la dieta con aderenza piena e l'86% era consapevole di assumere glutine volontariamente. Risultati che si attestano in linea con studi precedenti, i quali dimostravano che meno del 75% dei pazienti riferiva piena aderenza alla dieta e che in circa la metà dei pazienti con sintomi persistenti, volontarie o inavvertite contaminazioni degli alimenti fossero frequenti (130–132). Esistono, poi, altre cause sovrapposte alla MC che influiscono sulla persistenza dei sintomi nei pazienti: SIBO (Small intestine bacterial overgrowth) e insufficienza pancreatica esocrina sono due cause di persistente steatorrea, la colite microscopica che può essere causa di diarrea, intolleranza al lattosio, IBS, giardiasi, immunodeficienza variabile comune, agammaglobulinemia (130,133). Dopo l'esclusione delle cause più frequenti, deve essere considerata una condizione di RCD nei pazienti con sintomi severi non responsivi (134). Qualora non sussistesse nemmeno la diagnosi di RCD, non si può escludere che la dieta abbia influenza sui sintomi dei pazienti, soprattutto, per quanto riguarda la qualità degli alimenti e la loro salubrità.

Per valutare la persistenza dei sintomi è possibile somministrare al paziente il Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS-CeD), un questionario composto da 15 domande, finalizzato a valutare la presenza di sintomi gastrointestinali nei pazienti celiaci nella settimana precedente. In particolare, vengono indagati dolore

addominale, reflusso, diarrea, problematiche digestive e stipsi. Esso è composto da 10 domande, ciascuna con un punteggio da 0 a 7; il punteggio totale è composto dalla media dei punteggi, un punteggio più alto è indicativo di sintomi più severi (135)

## 2.1 Celiachia refrattaria

Come descritto nel paragrafo 1.3, la RCD viene definita come una condizione caratterizzata da persistenza o ricorrenza di sintomi e segni malassorbitivi, nonostante dieta aglutinata stretta da più di 12 mesi. L'incidenza della RCD non è ben nota, si tratta tuttavia di una condizione rara. Colpisce più frequentemente le donne, coerentemente al fatto che il genere femminile presenta una maggiore incidenza di malattia celiaca. La diagnosi di RCD, raramente confermata prima dei 30 anni, nella maggior parte dei casi viene diagnosticata dopo i 50 anni. La diarrea persistente, il dolore addominale e la perdita di peso involontaria sono i sintomi più comuni della RCD. Le ipovitaminosi, l'anemia, l'astenia, il malessere, gli eventi tromboembolici e i disturbi autoimmuni concomitanti sono anch'essi frequenti. La RCD si può distinguere in primaria e secondaria a seconda del fenotipo clinico (136,137). Attualmente, vengono riconosciuti due tipi di RCD a seconda della presenza o assenza di linfociti intraepiteliali aberranti (cellule prive di CD3 di superficie e generalmente di CD8, ma che esprimono CD3 intra-cellulare). Quando la percentuale di linfociti T aberranti è inferiore al 20%, si parla di RCD I, mentre se supera questa percentuale si definisce RCD II. Quest'ultima può essere considerata una condizione pre-linfoma (Pr-EATL) o un linfoma a basso grado, a causa dell'alto rischio di trasformazione in EATL (trattato nel paragrafo 1.5.1). È fondamentale distinguere i due tipi di RCD, per differenziare rispettivamente trattamenti e prognosi (92). È stato riscontrato che le mutazioni che attivano la via JAK1-STAT3 sembrano essere le principali responsabili della linfomagenesi associata alla MC. Anche fattori ambientali come l'introduzione persistente di glutine, infezioni e stimoli pro-infiammatori che aumentano la produzione di IL-15 potrebbero avere un ruolo.

### 2.1.1 Diagnosi

La diagnosi di RCD è sostanzialmente una diagnosi di esclusione. Secondo le linee guida europee più recenti, si articola in 5 punti: valutazione dell'aderenza alla dieta senza glutine, revisione della diagnosi iniziale di MC, valutazione endoscopica e istologica, identificazione di IEL aberranti, imaging radiologico (92).

1. **Aderenza alla GFD:** la presenza anticorpi anti-tTG sierici è altamente suggestiva di mancata aderenza alla dieta. L'assenza di anticorpi non può escludere l'ingestione accidentale o volontaria di glutine nella dieta, anche in piccole quantità. D'altra parte, titoli anticorpali persistenti possono essere riscontrati, in rari casi, in pazienti con una RCD che seguono una rigorosa dieta senza glutine, in particolare gli EMA, che possono persistere positivi per anni. In alcuni pazienti con persistenza di positività anticorpale nonostante la dieta, si potrebbe ipotizzare la presenza di un clone di cellule T diventato indipendente dall'antigene e che continua a stimolare le plasmacellule. Una accurata indagine dietetica, condotta da un dietista esperto in celiachia, dovrebbe essere la prima linea di indagine in un paziente con sospetta RCD (59);
2. **Revisione della diagnosi iniziale:** è necessario effettuare nuovamente un'analisi completa del quadro, analizzando gli anticorpi anti-tTG e EMA, per poter confermare/escludere la diagnosi iniziale;
3. **Valutazione endoscopica e istologica:** per escludere possibili diagnosi differenziali, si può effettuare una valutazione endoscopica. La RCD è diagnosticata sulla base di persistente o ricorrente atrofia dei villi, linfocitosi intraepiteliale ed iperplasia delle cripte. Erosioni ed ulcerazioni tipiche di digiuno-ileite ulcerativa sono frequenti in pazienti RCD II (136,137);
4. **Identificazione di IEL aberranti:** la citometria a flusso e immunocistochemica sono tecniche fondamentali per distinguere i sottotipi di RCD e per escludere la presenza di EATL. I linfociti intraepiteliali nella RCD I sono simili a quelli osservati in soggetti sani e nei pazienti con MC attiva, e sono caratterizzati da un'espansione policlonale con un fenotipo

normale. Questi IEL sono CD3+ di superficie (s), CD3+ citoplasmatici (cyt), CD8+, e sTCR+ con riarrangiamenti genici policlonali di TCR  $\beta$  o  $\gamma$ . La diagnosi di RCD II dipende dall'interpretazione dell'istopatologia e della citometria a flusso. La RCD II è caratterizzata da una proliferazione clonale di IEL aberranti, più frequentemente CD7+, sCD3-, cytCD3+, sCD4-, CD103+, CD8- e sTCR-, i quali costituiscono il 20% o più della popolazione totale di IEL. L'immunoistochimica permette di rilevare il numero approssimativo di linfociti CD3+, ma non distingue tra sCD3 e cytCD3 (138). Può essere utile studiare il riarrangiamento del TCR attraverso la tecnica PCR, la quale mostrerà un profilo monoclonale che, tuttavia, non è esclusivo della RCD II. Infatti, in questa forma, il riarrangiamento del TCR può essere anche assente. Pertanto, è fondamentale integrare queste analisi con dati istologici (atrofia villare) e immunoistochimici (139);

5. **Imaging radiologico:** l'utilizzo della TC può essere utile per evidenziare ispessimento delle pareti intestinali, linfadenopatia, intussuscezione intestinale e iposplenismo, condizioni che possono alimentare il sospetto di RCD II e EATL. Il tipo II è più frequentemente associato a dilatazioni del piccolo intestino e digiuno-ileite ulcerativa rispetto al tipo I. Inoltre, è raccomandato l'utilizzo della PET, in aggiunta alla TC, in quanto si è dimostrato molto sensibile nell'identificare l'EATL (140–142).

### 2.1.2 Trattamento

Ad oggi, il trattamento consiste nella combinazione di supporto nutrizionale e terapie immunosoppressive, ma non è curativo. Gli obiettivi della terapia sono il miglioramento e/o la risoluzione dei sintomi e del quadro istologico, la gestione della malnutrizione e la prevenzione dello sviluppo del linfoma (143). L'eliminazione del glutine dalla dieta è sempre indispensabile. A volte è necessario il ricovero ospedaliero per monitorare l'aderenza alla dieta e per il trattamento di gravi carenze nutrizionali o disidratazione. La nutrizione parenterale totale può essere necessaria nei pazienti con RCD con grave perdita di peso, malnutrizione, multiple e grave ipoproteinemia e/o steatorrea (144). Per quanto riguarda la RCD I, la terapia prevede

la somministrazione di steroidi, tiopurine e infliximab. I corticosteroidi sono la prima linea di trattamento (145). La budesonide (open-capsule o a lento rilascio) è il trattamento di prima scelta: lo studio di Mukewar et al. riporta un miglioramento clinico (92%) e istologico (89%), con un dosaggio di 3 mg per tre volte al giorno (146). Per le forme più severe è indicato il trattamento con il prednisone, o ancora il metilprednisolone endovena, seguito da prednisone o budesonide orale. Per i pazienti che non rispondono alla terapia, presentano una risposta incompleta o hanno sintomi ricorrenti, è indicato lo step-up alla seconda linea di trattamento. Questa consiste nella somministrazione di immunomodulatori come azatioprina, mercaptopurina o tioguanina, che si sono dimostrate efficaci nei pazienti con RCD I (146, 147). È importante somministrare con attenzione azatioprina per il suo effetto mielosoppressivo (149). Infine, anche il trattamento con infliximab si è dimostrato efficace in alcuni casi (150). Le linee guida indicano una valutazione annuale tramite endoscopia e biopsia, con conta dei linfociti aberranti. Dopo 2-3 anni di risposta completa, si può considerare la sospensione della terapia farmacologica (92). Per quanto riguarda la RCD II, gli immunosoppressori hanno un ruolo limitato. La cladibrina si è dimostrata abbastanza efficace nella diminuzione del numero di IEL aberranti e nel miglioramento del quadro istologico, e pare ben tollerata. Risulta essere un'efficace alternativa terapeutica nei pazienti che non rispondono agli steroidi (151). La percentuale di pazienti con RCD II che sviluppano linfoma è comunque alta (60-80% a 5 anni), motivo per cui è necessario escludere la presenza della neoplasia prima di iniziare il trattamento. Un'alternativa alla cladibrina può essere la somministrazione di chemioterapia ad alte dosi, seguita da trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche, indicata solamente nei pazienti sintomatici (151, 152). L'ultima linea di trattamento è la somministrazione di inibitori di JAK3 (come Tofacitinib), associati alla terapia convenzionale, o anticorpi monoclonali anti IL-15 (AMG714) (154).

## 2.2 Il ruolo della dieta

Una volta escluse tutte le cause che possano essere correlate alla persistenza della sintomatologia nei pazienti celiaci, si può ipotizzare che il tipo di alimentazione del paziente possa avere un'influenza sul quadro clinico. Come descritto nel paragrafo 1.6.1, attualmente l'unica opzione terapeutica per la MC è rappresentata dalla GFD, che può avere un impatto non indifferente sulla qualità della vita e sul modo di alimentarsi dei pazienti. I pazienti che seguono questa dieta dovrebbero essere monitorati nel tempo, per valutare l'insorgenza di potenziali carenze nutrizionali. La GFD si basa sull'assunzione di alimenti naturalmente privi di glutine e di prodotti speciali formulati con cereali aglutinati, solitamente etichettati come "senza glutine". L'attuale elevato consumo di alimenti ultra-processati e la loro potenziale contaminazione, sollevano alcune preoccupazioni riguardo alla salubrità della dieta dei pazienti celiaci (155–157). A causa delle difficoltà tecnologiche derivanti dall'assenza di glutine nella produzione di alimenti processati, i cibi senza glutine spesso contengono più carboidrati e lipidi rispetto ai loro equivalenti contenenti glutine. Inoltre, gli alimenti senza glutine risultano meno appetibili rispetto ai cibi normali: di conseguenza, la loro produzione richiede l'aggiunta non solo di additivi, come gli idrocolloidi, ma anche di macronutrienti come i grassi, per rendere il prodotto maggiormente appetibile (158). Questo è un problema attualmente rilevante, considerando che l'obesità è in aumento tra i pazienti celiaci, anche al momento della diagnosi. Essi sono a rischio di sovrappeso/obesità soprattutto durante il primo anno di GFD, probabilmente a causa del fatto che possono mangiare senza avere sintomi e del miglior assorbimento intestinale. Inoltre, se a questo si aggiunge anche il consumo di alimenti senza glutine ad alto contenuto calorico, il paziente rischia un eccessivo incremento ponderale (157,159,160). Nello studio condotto da Mariani et al. è stato visto come gli adolescenti celiaci assumessero una quantità di grassi e proteine molto elevata, e che i biscotti senza glutine disponibili in commercio fossero più ricchi di grassi saturi rispetto ai loro equivalenti contenenti glutine (161). In Italia, uno studio condotto da Norsa et al. su bambini che seguivano una GFD da almeno un anno ha mostrato che la rimozione del glutine dalla dieta ha determinato l'aumento della prevalenza

di sovrappeso, passato dall'8.8 all'11.4%, e di obesità, dal 5.3 all'8% (162). Kabbani et al. hanno valutato il BMI di 679 pazienti celiaci, osservando che al momento della diagnosi l'indice di massa corporea dei pazienti era inferiore rispetto alla popolazione generale, ma dopo 39.5 mesi di GFD, il 20.5% e l'11.5% dei pazienti erano, rispettivamente, sovrappeso e obesi (163). Nello studio di Wild et al. è stato indagato l'introito calorico di pazienti celiaci nel Regno Unito, ed è stato osservato come fosse più elevato rispetto a quello della popolazione non celiaca, dato attribuito al maggior consumo di snack dolci (164). Visto l'elevata quantità di alimenti altamente processati (HPF, high processed food), che vengono consumati a livello globale, Martinez-Perez et al. hanno sviluppato un questionario per la valutazione dell'introito di questo tipo di alimenti. Lo short screening questionnaire of HPF consumption (sQ-HPF) (figura 2.1) è composto da 14 domande basate su categorie di alimenti associate ad un maggior consumo di HPF. Esso consente di stimare oggettivamente la quantità e la di HPF consumati, permettendo di effettuare interventi mirati a migliorare l'alimentazione dei pazienti e ridurre, quindi il rischio patologie cardiovascolari e obesità (165). L'aderenza alla GFD può, inoltre, alterare il profilo metabolico dei pazienti celiaci. Nello studio di Tortora et al. si è visto, infatti, come il 30% dei pazienti, dopo un anno di GFD, riscontrasse la maggior parte dei criteri per la definizione di sindrome metabolica (166). Nei pazienti celiaci si osserva principalmente l'aumento del colesterolo, diminuzione di HDL, aumento della glicemia e della circonferenza addominale (153,162). È perciò importante avvisare ed educare il paziente sui possibili rischi della dieta (167). Infine, molte delle carenze nutrizionali legate alla dieta, come un'assunzione carente di fibre e folati, possono derivare dalle scelte alimentari dell'individuo. Per questo, non solo l'eliminazione del glutine, ma tutti gli aspetti legati alla dieta dovrebbero affrontati nel momento in cui si educano i pazienti sulla GFD (168). Sostanzialmente, tutte le problematiche legate all'alimentazione priva di glutine dei pazienti celiaci potrebbero essere risolte attraverso un'alimentazione che integri le carenze e permetta di ottenere un profilo metabolico migliore (160). Si pensa che una dieta corretta possa anche avere un effetto benefico sui sintomi gastrointestinali, influenzando positivamente sull'infiammazione intestinale e sul microbiota, elementi cruciali nella patogenesi della MC. In particolare, la dieta ha un impatto fondamentale sulla composizione del microbiota e sul mantenimento della sua omeostasi. Le fibre,

elemento prebiotico per antonomasia, possono influenzare la diversità batterica e dei batteri commensali in particolare. Inoltre, esiste una selettività di diverse specie batteriche per determinati substrati da fermentare; quindi, un intervento dietetico può promuovere la proliferazione di alcune specie rispetto ad altre. Certi elementi specifici della dieta, come il triptofano o l'arginina, coinvolta nella riparazione dei tessuti e nella differenziazione dei macrofagi, possono avere un ruolo specifico come immunomodulatori (168, 169).

What was your average frequency of consumption over the past year of...	Criteria for 1 point
<b>Q1. Fatty dairy products</b> (cream, cured or semi-cured cheese, processed soft cheese wedges)?	>= 2t/week
<b>Q2. Sugary dairy products</b> (condensed milk, industrially produced milkshakes, flavored Petit Suisse yogurt, custard, crème caramel flan, pudding)?	>3t/month
<b>Q3. Cured meats</b> (serrano ham, sandwich (deli) ham, cured cold meats, pâté, bacon, marbling)?	>= 1t/day
<b>Q4. Fats</b> (margarine, butter, lard (animal fat))?	>3t/month
<b>Q5. Fermented alcohols</b> (rosé wine, muscatel wine, young red wine, aged red wine, white wine, Spanish sparkling wine (cava), beer)?	>1t/day
<b>Q6. Distilled alcohols</b> (liquors, anisette, whisky, gin, vodka, cognac)?	>3t/month
<b>Q7. Sugary and artificially sweetened drinks</b> (soft drinks, artificially sweetened drinks, bottled juice, grape must)?	>= 2t/week
<b>Q8. Sweets</b> (ice-cream and sorbets, canned fruit in juice or syrup, biscuits, whole meal biscuits, chocolate biscuits, honey, homemade baking products, industrially produced confectionery, donuts, muffins, cupcakes, industrially produced cakes, churros, chocolates, soluble cocoa powder, nougat, marzipan, shortbread biscuits, jam)?	>1t/day
<b>Q9. Snacks</b> (packaged potato crisps/chips, packaged snacks)?	>3t/month
<b>Q10. Ready To Eat products</b> (pizza, croquettes, instant soup)?	>3t/month
<b>Q11. Refined cereals</b> (white and sliced bread, breakfast cereals, Spaghetti, macaroni, Spanish noodles, white rice)?	>= 2t/week
<b>Q12. Sauces</b> (mustard, mayonnaise, tomato sauce, Ketchup)?	>1t/week
<b>Q13. Additives</b> (sugar, table salt)?	>3t/day
<b>Q14. Fried foods</b> (eat out and homemade)?	>= 2t/week
<b>TOTAL SCORE:</b>	
Equivalency between sQ-HPF score and the estimated percentage of HPF consumption over the total intake in grams per day:	
<b>Score</b>	1    2    3    4    5    6    7    8    9    10   11   12   13   14
<b>% HPF</b>	11.3   15   18.7   22.4   26.1   29.8   33.5   37.2   40.9   44.6   48.3   52   55.7   59.4

Figura 2.1: Questionario per la valutazione dell'assunzione di cibi altamente processati (Martinez-Perez et al.) (165)

### 2.2.1 Dieta mediterranea

In termini di salubrità, la dieta mediterranea (DM) rappresenta la scelta migliore. La DM, nota per i suoi benefici sulla salute, è caratterizzata da un elevato consumo di alimenti di origine vegetale, come frutta, verdura, cereali (tradizionalmente minimamente raffinati) e pane, patate, legumi, noci e semi. Gli alimenti freschi, stagionali e locali, costituiscono la base di questa dieta, con l'olio d'oliva (soprattutto extra-vergine) come principale fonte di grassi.

La dieta include un consumo moderato di prodotti lattiero-caseari (principalmente formaggio e yogurt), un limitato uso di uova (da zero a quattro a settimana), pesce e pollame in quantità basse o moderate, carne rossa in quantità limitate. La DM è ritenuta unica rispetto ad altri modelli alimentari sani, ed è considerata una dieta prevalentemente basata su vegetali. Gli alimenti e i componenti individuali della DM, come l'olio d'oliva extra-vergine e la frutta oleosa, hanno documentati benefici per la salute. Negli ultimi anni, particolare attenzione è stata rivolta alla combinazione degli alimenti, espressa come un modello alimentare, che potrebbe essere fortemente correlata alla salute, a causa degli effetti additivi o sinergici dei suoi componenti (171). La DM è un modello alimentare efficace, che permette un adeguato apporto di micronutrienti, ed è associata ad un miglior stato di salute e a un minor rischio di mortalità generale e di sviluppo di ipertensione, obesità, dislipidemia e diabete. Nello studio di Tong et al. è stato osservato che una maggiore aderenza alla DM comportava un minore rischio di patologie cardiovascolari (172). Ciononostante, Chiriaco et al. riportano un progressivo abbandono delle abitudini alimentari tipiche della DM, in particolare in Italia e negli altri paesi mediterranei. Gli autori propongono, quindi, di includere nelle pratiche cliniche la valutazione dell'aderenza alla DM in quanto potrebbe essere il bersaglio di interventi volti a migliorare la salute dei pazienti, sia in termini di cura che di prevenzione. Per valutare l'aderenza alla dieta, è stato proposto il questionario "15-Items Pyramid based Mediterranean Diet Score" (PyrMDS), ritenuto il migliore tra i molti presenti in termini di accuratezza e affidabilità. Il questionario è composto da 15 elementi a cui viene attribuito un peso diverso ed assegnato un valore continuo da 0 a 1, in base al raggiungimento delle porzioni considerate ottimali dalla versione della

piramide DM del 2011 (Figura 2.2) (173,174).

È possibile ipotizzare che un'elevata aderenza alla DM potrebbe migliorare l'adeguatezza nutrizionale della GFD e, inoltre, potrebbe svolgere un ruolo protettivo nello sviluppo di altre patologie. Tuttavia, dagli studi condotti da Morreale et al e Vici et al, è emerso che tra i pazienti celiaci italiani non ci sia un'adeguata aderenza alla DM (175,176). In genere, il consumo di frutta, verdura, cereali, pesce, legumi e latticini appare al di sotto delle porzioni consigliate dal questionario Medi-lite, basato su una review di dati di letteratura condotta da Sofi et al (177). Al contrario, carni e insaccati vengono consumati in modo eccessivo (176). Per i pazienti non è semplice seguire una GFD e fare scelte alimentari appropriate. Pertanto, è indicata un'educazione nutrizionale mirata per fornire indicazioni precise su un'alimentazione sicura, che rispetti i requisiti nutrizionali per il benessere generale.

Component	Recommended intake <sup>1</sup>	Score of 0 <sup>1</sup>	Score of 1 <sup>1</sup>
Vegetables <sup>2</sup>	≥3/d	0/d	≥3/d
Legumes <sup>2</sup>	≥2/wk	0/wk	≥2/wk
Fruits <sup>3</sup>	3-6/d	0/d	3-6/d
Nuts <sup>3</sup>	1-2/d	0/d	1-2/d
Cereals <sup>3</sup>	3-6/d	0/d	3-6/d
Dairy <sup>3</sup>	2/d	0/d	1.5-2.5/d
Fish <sup>2</sup>	≥2/wk	0/wk	≥2/wk
Red meat <sup>5</sup>	<2/wk	≥4/wk	<2/wk
Processed meat <sup>5</sup>	≤1/wk	≥2/wk	≤1/wk
White meat <sup>3</sup>	2/wk	0/wk	1.5-2.5/wk
Egg <sup>3</sup>	2-4/wk	0/wk	2-4/wk
Potato <sup>5</sup>	≤3/wk	≥6/wk	≤3/wk
Sweets <sup>5</sup>	≤2/wk	≥4/wk	≤2/wk
Alcohol <sup>4</sup>	2/d for men, 1/d for women	≥4/d for men, ≥2/d for women	1.5-2.5/d for men, 0.5-1.5/d for women
Olive oil <sup>6</sup>	Principal source of dietary lipids	Non-consumers	Consumers

<sup>1</sup> All recommendations are in number of servings per day or per week and we used continuous scoring for all components except olive oil.

<sup>2</sup> For these components for which a high consumption was recommended, continuous scores from 0 to 1 were assigned proportionally from no consumption to meeting the recommended level of consumption.

<sup>3</sup> For components for which moderate consumption was recommended, we assigned a score of 1 for consumption within the recommendation levels and 0 for no consumption, with consumption levels in between scored proportionately. Overconsumption (double the mid-point value of the recommended intake) was penalised and received a maximum score of 0.5, with consumption between the recommended level and the penalty point scored proportionally.

<sup>4</sup> For alcohol we assigned a score of 1 for consumption levels within recommendation. Non-consumption was scored 0.5 while overconsumption was scored 0.

<sup>5</sup> For these components for which a low consumption was recommended, consumption below the recommended levels was assigned a score of 1 and double the recommended levels were assigned a score of 0, with levels in between scored proportionally.

<sup>6</sup> For olive oil all non-consumers were scored 0 and all consumers 1.

Figura 2.2: Criteri PyrMDS (Chiarico' et al.) (173)

## Capitolo 3

### LO STUDIO SPERIMENTALE

#### 3.1 Scopo dello studio

Come già discusso nella parte introduttiva, la MC è un'enteropatia immuno-mediata causata dall'ingestione di glutine in individui geneticamente predisposti, che colpisce circa l'1% della popolazione generale (1–4). Attualmente, la GFD è l'unico trattamento per questi pazienti. L'aderenza rigorosa alla dieta promuove la remissione dei sintomi e la guarigione delle lesioni istologiche nella stragrande maggioranza dei pazienti e ha un effetto protettivo nei confronti dello sviluppo di complicazioni legate alla MC come la RCD e gli EATL (94,123). Nonostante la sua efficacia come trattamento cardinale per i pazienti celiaci, ci sono alcune evidenze che una GFD possa essere una dieta squilibrata. Infatti, i prodotti senza glutine possono presentare un contenuto più alto di grassi, carboidrati e sale e un contenuto più basso di proteine, fibre, folati e vitamine rispetto alle loro controparti contenenti glutine (157,160,178). Questo può rappresentare un potenziale fattore di rischio per le malattie cardiovascolari nella MC (155,156). Al contrario, la DM è ben nota per i suoi innumerevoli benefici, tra cui la riduzione del rischio di cancro e l'abbassamento del rischio cardiovascolare (171,172). Fino ad ora, in letteratura mancano studi che valutino se una GFD basata su prodotti mediterranei possa avere un ruolo benefico sulla salute e sui sintomi gastrointestinali dei pazienti. Pertanto, questo studio multicentrico prospettico mira a valutare l'impatto della DM e del consumo HPF sui sintomi gastrointestinali, sulla qualità della vita (QoL) e sul profilo metabolico dei pazienti celiaci adulti in GFD da almeno 12 mesi.

## 3.2 Materiali e metodi

### 3.2.1 Popolazione

Questo studio è prospettico, multicentrico, condotto presso i centri di Pavia, Padova e Milano. Nello studio, sono stati inclusi pazienti con diagnosi di MC confermata dalla biopsia, e seguiti in follow-up presso i centri di riferimento. I pazienti sono stati arruolati durante la visita ambulatoriale tra ottobre 2023 e marzo 2024, in seguito a firma del consenso informato. I pazienti sono stati selezionati secondo specifici criteri di inclusione/esclusione.

#### Criteri di inclusione:

- Pazienti con età > 18 anni;
- Pazienti con diagnosi di MC confermata da biopsia;
- Pazienti seguiti in follow-up presso uno dei tre centri di riferimento;
- Pazienti in GFD da almeno 12 mesi.

#### Criteri di esclusione:

- Pazienti con età < 18 anni;
- Pazienti in GFD da meno di 12 mesi;
- Rifiuto alla partecipazione e alla firma del consenso informato.

### 3.2.2 Raccolta dati

Per ogni paziente arruolato sono stati raccolti i seguenti dati:

- Età alla diagnosi di MC e presentazione clinica, secondo la classificazione di Oslo (41);
- Aderenza a una dieta priva di glutine valutata mediante il questionario di Pavia (129)
- persistenza di sintomi gastrointestinali, in particolare nei precedenti 12 mesi indagati mediante visita medica, e nei 7 giorni precedenti l'arruolamento mediante il questionario GSRS-CeD (135);

- Aderenza alla dieta mediterranea valutata mediante il punteggio del PyrMDS (176);
- Valutazione del consumo di alimenti altamente processati valutato mediante il questionario sQ-HPF (165);
- Qualità della vita valutata mediante il questionario Celiac Disease-specific Quality of Life Scale (CD-QoL) (179);
- Profilo metabolico, compreso dosaggio di colesterolo, glucosio, trigliceridi, calcolo del BMI, mediante valutazione di peso e altezza, circonferenza vita, pressione sanguigna;
- Abitudine tabagica;
- Stato di appartenenza del paziente all'Associazione Italiana Celiachia (AIC).

Dal momento che tutti i questionari, fatta eccezione per CD-QoL e lo score GFD di Pavia, non sono ancora stati validati in italiano, essi sono stati somministrati da personale medico in modo tale da mantenerne la validità.

### **3.2.3 Analisi statistica**

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando R versione 4.1.2 (R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>). Le variabili categoriali sono state riassunte come conteggi totali e percentuali e le proporzioni sono state confrontate tra i gruppi con il test esatto di Fisher. Sono stati calcolati gli odds ratio (OR) e gli intervalli di confidenza binomiale esatti al 95% (95%CI). Le variabili continue sono state riassunte come media e deviazione standard (SD) o come mediana e intervallo interquartile (IQR) per le variabili asimmetriche. Le variabili continue sono state confrontate tra i gruppi utilizzando il t-test per varianze disuguali, il test U di Mann-Whitney, l'ANOVA a una via o il test di Kruskal-Wallis, a seconda dei casi. I confronti post-hoc a coppie sono stati aggiustati per la molteplicità con la procedura di Benjamini-Hochberg. La correlazione tra le variabili è stata valutata con il coefficiente di correlazione di Pearson. L'analisi di regressione logistica, aggiustata per età e sesso, è stata utilizzata per valutare se la persistenza dei sintomi fosse correlata all'aderenza alla

dieta mediterranea (punteggio PyrMED) e alla percentuale di consumo di cibo altamente processato (valutato utilizzando il questionario sQ-HPF). I soggetti con dati mancanti sono stati esclusi dalle analisi pertinenti e non è stata effettuata alcuna imputazione dei dati. I valori di p a due code  $<0.05$  sono stati considerati statisticamente significativi per tutte le analisi.

### 3.3 Risultati

Sono stati arruolati un totale di 121 pazienti (69% donne, età media  $44\pm 15$  anni) con una durata mediana della GFD di 100 mesi (IQR: 56 – 187). Il 51% dei pazienti (61/121) hanno avuto una presentazione di malattia classica, il 39% (47/121) non classica e il 10% (12/121) avevano una MC asintomatica. L'aderenza alla GFD era buona nella maggioranza dei pazienti (93%, 113/121).

	Pazienti N=121	No sintomi N=47	Sintomi persistenti N=74	p-value
<b>Centro (%)</b>				
Milano	25 (20.7%)	0 (0.0%)	25 (33.8%)	
Padova	35 (28.9%)	15 (31.9%)	20 (27.0%)	
Pavia	61 (50.4%)	32 (68.1%)	29 (39.2%)	
<b>Età alla diagnosi, anni (media±DS)</b>	33±16	35±17	32±15	0.22
<b>Età all'arruolamento, anni (media±DS)</b>	44±15	47±14	43±15	0.14
<b>Genere, F (%)</b>	83 (68.6%)	25 (53.2%)	58 (78.4%)	<b>&lt;0.01</b>
<b>Mesi in GFD (mediana [IQR])</b>	100 [56 – 187]	108 [56 – 196]	110 [56 – 177]	0.83
<b>OSLO alla diagnosi (%)</b>				0.23
Classico	61 (50.8%)	19 (41.3%)	42 (56.8%)	
Non-classico	47 (39.2%)	21 (45.7%)	26 (35.1%)	
Silente	12 (10.0%)	6 (13.0%)	6 (8.1%)	
<b>Membri AIC (%)</b>	43 (50.0%)	15 (46.9%)	28 (51.9%)	0.82
<b>Abitudine tabagica (%)</b>	13 (10.7%)	6 (12.8%)	7 (9.5%)	0.56
<b>Istruito su GFD (%)</b>	93 (76.9%)	32 (68.1%)	61 (82.4%)	0.08
<b>Buona aderenza GFD (%)</b>	113 (93.4%)	46 (97.9%)	67 (90.5%)	0.15
<b>EGDS di follow-up (%)</b>	74 (61.2%)	29 (61.7%)	45 (60.8%)	1.00
<b>Tempo alla biopsia di follow-up diagnosi, mesi (mediana [IQR])</b>	37 [15-104]	37 [15-109.]	36 [16-98]	0.85
<b>Risposta istologica (%)</b>	58 (78.4%)	23 (79.3%)	35 (77.8%)	1.00
<b>Marsh alla follow-up EGDS (%)</b>				0.68
0	36 (51.4%)	13 (48.1%)	23 (53.5%)	
1	16 (22.9%)	7 (25.9%)	9 (20.9%)	
2	6 (8.6%)	1 (3.7%)	5 (11.6%)	
3a	9 (12.9%)	5 (18.5%)	4 (9.3%)	
3b	2 (2.9%)	1 (3.7%)	1 (2.3%)	
3c	1 (1.4%)	0 (0.0%)	1 (2.3%)	

Tabella III: Dati clinici relativi ai pazienti arruolati.

Complessivamente, 74/121 (61%) dei pazienti hanno riportato sintomi gastrointestinali persistenti nei 12 mesi precedenti nonostante la GFD. I pazienti con sintomi persistenti sono risultati essere soprattutto donne (78.4% vs 53.2%,  $p<0.01$ ), con una simile aderenza alla GFD secondo il questionario di Pavia rispetto ai pazienti senza sintomi ( $p=0.15$ ) (Tabella III).

Valutando la tipologia di dieta dei soggetti inclusi nello studio, rileviamo che i pazienti con sintomi persistenti seguono una dieta più povera di HPF (26.1% vs 29.8%,  $p=0.02$ ; Figura 3.1) nonostante un'aderenza alla DM solo lievemente superiore rispetto a quelli senza sintomi persistenti, non statisticamente significativa (PyrMED  $10.2\pm 2.0$  vs  $9.7\pm 2.4$ ;  $p=0.21$ ; Figura 3.2).

La Tabella IV riporta i valori medi dei questionari somministrati nello studio, si sottolinea che i pazienti con sintomi persistenti, come atteso, hanno punteggi CD-QoL più bassi (media CD-QoL  $79.7\pm 12.2$  vs  $87.6\pm 9.3$ ,  $p<0.01$ ),

	Pazienti N=121	No sintomi N=47	Sintomi persistenti N=74	p-value
<b>GSRs-CeD score (mediana[IQR])</b>	10.0 [3.0-23.0]	3 [1.0-8.5]	19.0 [8.0-32.0]	<b>&lt;0.001</b>
<b>PyrMED score (media±DS)</b>	10.0±2.2	9.7±2.4	10.2±2.0	0.21
<b>sQ-HPF score (mediana [IQR])</b>	5.0 [3.0-8.0]	6.0 [5.0-9.0]	5.0[3.0-7.0]	<b>0.02</b>
<b>%HPF (mediana [IQR])</b>	26.1 [18.7-37.2]	29.8 [26.1-40.9]	26.1 [18.7-33.5]	<b>0.02</b>
<b>CD-QOL score (media±DS)</b>	82.7±11.7	87.6±9.3	79.7±12.2	<b>&lt;0.001</b>

Tabella IV: Valori dei questionari somministrati

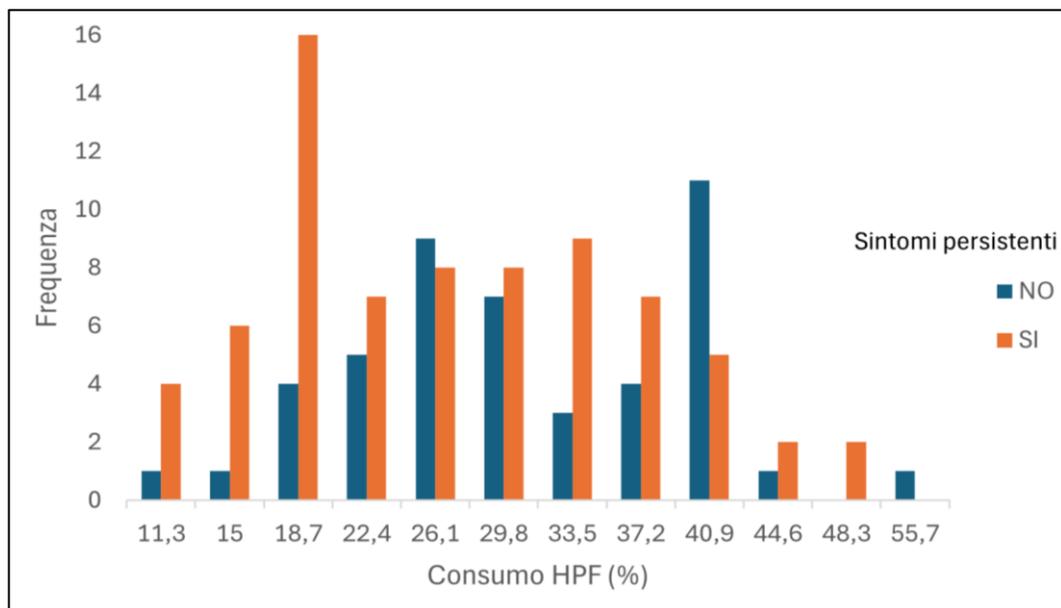


Figura 3.1: Persistenza dei sintomi in relazione all'introito % di HPF

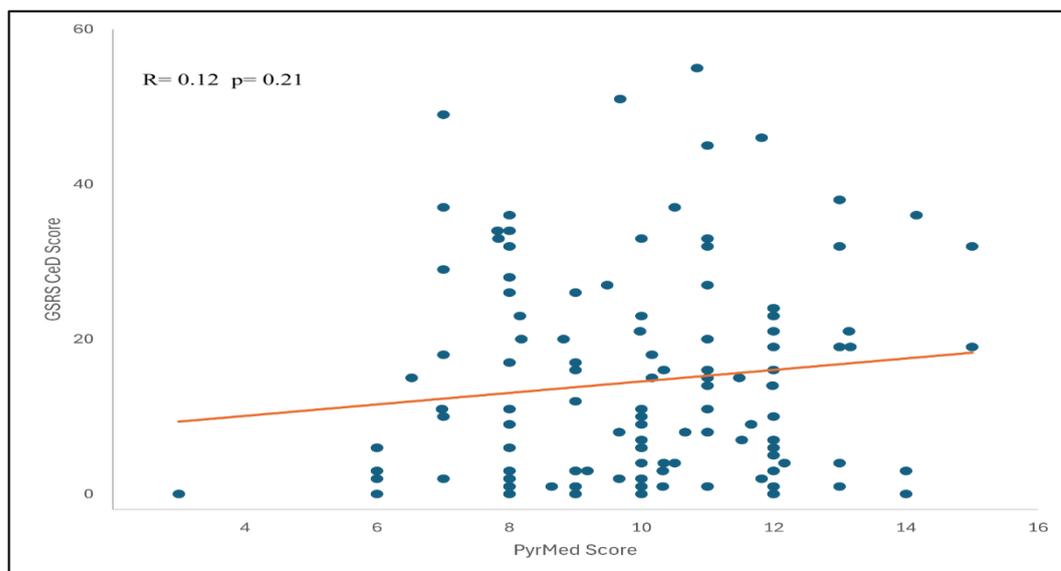


Figura 3.2: Correlazione tra i sintomi gastrointestinali nella settimana precedente l'arruolamento, valutati con GSRS-CeD, e il modello alimentare mediterraneo valutato mediante il questionario PyrMED.

I pazienti celiaci con sintomi persistenti avevano inoltre un BMI inferiore rispetto a quelli asintomatici ( $22.3 \pm 3.7$  vs  $24.1 \pm 4.2$ ;  $p=0.02$ );, così come valori trigliceridi sierici più bassi (trigliceridi elevati in 3 vs 7;  $p<0.01$ ) e valori di HDL più alti (70.5 vs 59.0;  $p<0.01$ ) a sottolineare un profilo metabolico migliore rispetto ai pazienti asintomatici (Tabella V).

	Pazienti N=121	No sintomi N=47	Sintomi persistenti N=74	p-value
<b>Circonferenza vita, cm(mediana [IQR])</b>	78.0 [70.0-86.0]	85.0 [70.0-91.0]	77.0 [70.8-84.0]	0.08
<b>BMI</b>	23.4±3.0	24.1±4.2	22.3±3.7	<b>0.02</b>
<b>Trigliceridi, mg/dl (mediana[IQR])</b>	70.5 [53.3-89.3]	75.0 [60.0-151.0]	67.0 [49.5-85.5]	0.11
<b>Trigliceridi patologici (%)</b>	10 (12.7%)	7 (28.0%)	3 (5.6%)	<b>&lt;0.01</b>
<b>HDL, mg/dL (mediana [IQR])</b>	63.0 [55.5-80.0]	59.0 [49.0-61.0]	70.5 [59.0-81.0]	<b>0.002</b>
<b>Dislipidemia (%)</b>	13 (10.7%)	8 (17.0%)	5 (6.8%)	0.13
<b>Glicemia, mg/dL (mediana [IQR])</b>	89.0 [84.5-97.0]	88.0 [84.0-100.0]	89.0 [85.0-92.8]	0.79
<b>Diabete (%)</b>	3 (2.5%)	1 (2.1%)	2 (2.7%)	1.00
<b>Ipertensione (%)</b>	9 (7.4%)	4 (8.5%)	5 (6.8%)	0.73

Tabella V: Profilo metabolico dei pazienti arruolati

Il PyrMED è risultato inversamente correlato con l'assunzione di HPF ( $r=-0.2$ ,  $p=0.03$ , Figura 3.3) e con livelli trigliceridi sierici ( $r=-0.2$ ,  $p=0.05$ , Figura 3.4), invece correla positivamente con i valori di colesterolo HDL, anche se in maniera non significativa ( $r=0.2$ ,  $p=0.08$ ) Mentre, la percentuale di assunzione di HPF era positivamente correlata con la circonferenza vita ( $r=0.4$ ,  $p<0.01$ , Figura 3.5).

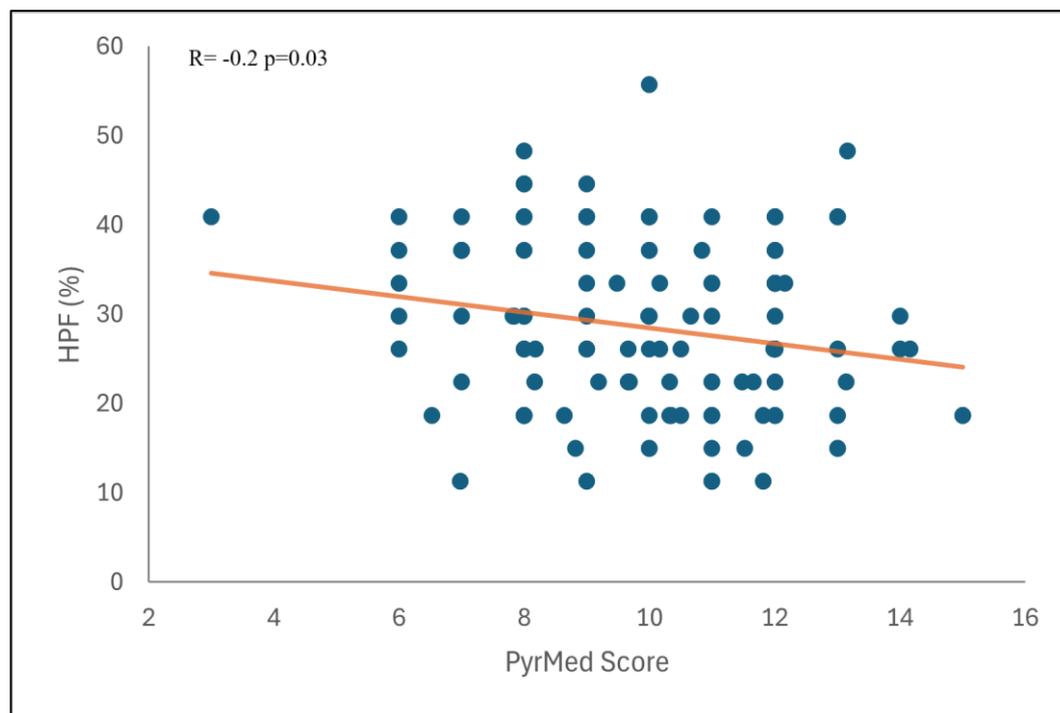


Figura 3.3: Correlazione tra il consumo di HPF (%) e aderenza alla DM valutata tramite il questionario PyrMED

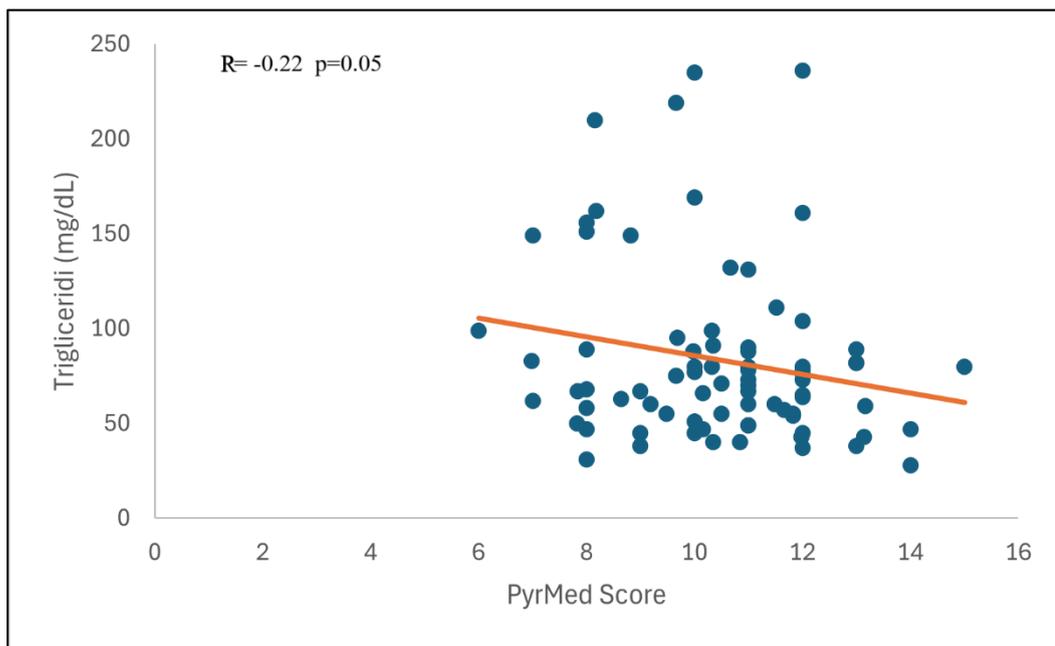


Figura 3.4: Correlazione tra i trigliceridi sierici (mg/dL) e l'aderenza alla DM valutata mediante il questionario PyrMED.

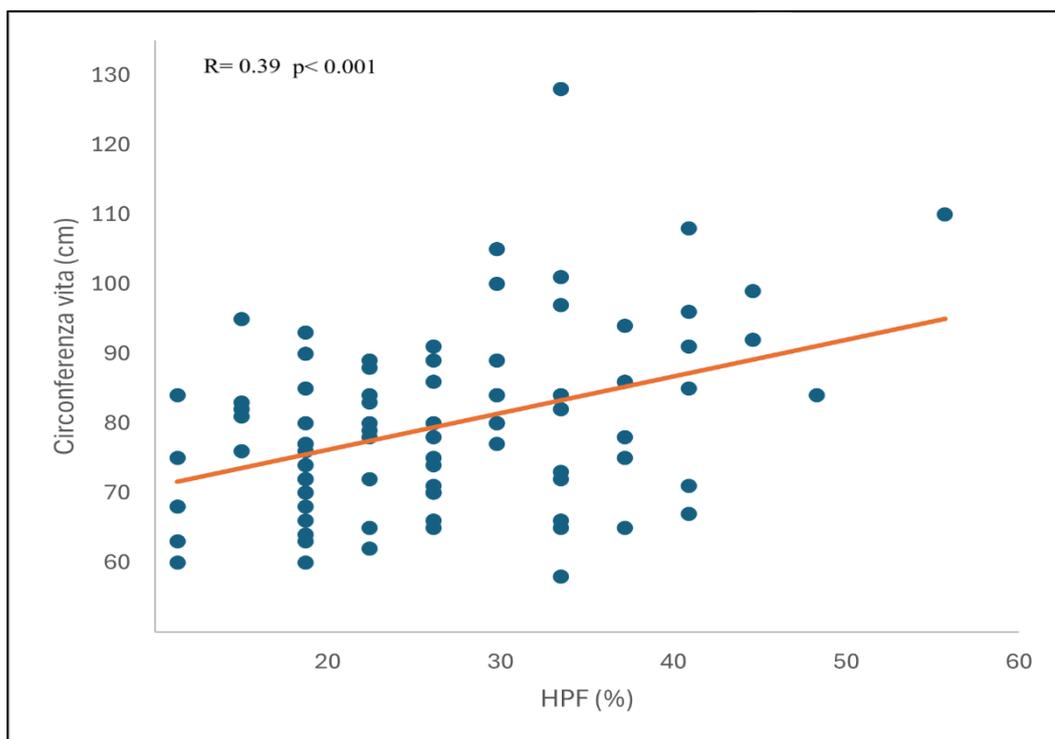


Figura 3.5: Correlazione tra circonferenza della vita (cm) e introito %HPF

Infine, alla regressione logistica multivariata aggiustata per età e sesso, la persistenza dei sintomi gastrointestinali nonostante la GFD è risultata essere associata al sesso femminile (OR 3.1, 95%CI 1.36-7.19,  $p < 0.01$ ) e a una percentuale inferiore di assunzione di HPF (OR 0.96, 95%CI 0.92-0.99,  $p = 0.04$ ).

### 3.3 Discussione

Il nostro studio mira a valutare come la DM e l'assunzione di HPF possano avere influenza sulla persistenza dei sintomi, sul profilo metabolico e sulla qualità della vita nei pazienti celiaci. L'ipotesi è che una migliore alimentazione potrebbe migliorare la sintomatologia dei pazienti celiaci, in quanto seguire una GFD può indurre ad una dieta non perfettamente bilanciata.

Dal nostro studio, è emerso che i sintomi persistenti sono molto comuni. Tali dati sono in linea con la letteratura precedente: diversi studi, infatti, riportano che la maggior parte dei pazienti continua ad avere sintomi e lesioni istologiche pur aderendo alla GFD da molto tempo (180–182). La causa più frequente di persistenza sembrerebbe essere la contaminazione di glutine negli alimenti (130), influenzata principalmente dalle differenze di età, socioeconomiche e territoriali (183–185). Tuttavia, il nostro studio riporta che la maggior parte dei pazienti con sintomi (90.5%) riferiva una buona aderenza alla GFD, non significativamente associata alla persistenza sintomatologica.

Nel nostro studio i pazienti con sintomi persistenti riferiscono un minor utilizzo di cibi processati a favore, anche se la differenza non risulta statisticamente significativa, di una dieta mediterranea. Questo comportamento trova due possibili spiegazioni: la persistenza dei sintomi induce i pazienti ad una scelta dietetica controllata con pochi cibi processati e ricca in frutta e verdura, oppure che sia la scelta di una DM ad esacerbare la sintomatologia gastrointestinale. Gli studi che mettono in correlazione il regime dietetico e la sintomatologia gastrointestinale presentano dei risultati contrastanti.

Gli studi condotti da Zito et al. ed Elmaliklis et al. riportano che una maggiore aderenza alla DM possa avere un'influenza positiva sullo sviluppo di sintomi gastrointestinali IBS-like (186,187). Sebbene svolto su un campione di bambini ed adolescenti, anche lo studio di Agakidis et al. ha osservato una correlazione tra l'aderenza alla DM e un minor rischio di sviluppare sintomi gastrointestinali, suggerendo un possibile intervento sulla qualità dell'alimentazione già in giovane

età. Invece, lo studio condotto da Chen et al., ha osservato che l'aderenza alla DM non fosse associata a sintomi IBS-like meno severi. Gli autori hanno inoltre evidenziato che alcuni alimenti venivano esclusi dalla dieta, molto probabilmente in relazione al loro contenuto di FODMAPs (Fermentable Oligo-saccharides, Disaccharides, Mono-saccharides and Polyols), noti per esacerbare i sintomi nei pazienti con IBS (188). I FODMAPs sono presenti in alimenti come frutta, verdura, cereali e latticini, alimenti che costituiscono la base della DM. Coerentemente anche allo studio di van Meegen et al, dimostra che un dieta povera in FODMAPs apporti un significativo miglioramento della sintomatologia gastrointestinale nei pazienti celiaci (189,190). La correlazione inversa tra il consumo di HPF e l'aderenza alla DM, osservata nel nostro studio, si trova in linea con altri studi svolti sulle popolazioni mediterranee. Godos et al. riportano un minor introito di HPF nei soggetti che aderiscono più strettamente alla DM, appuntando comunque un progressivo cambiamento delle abitudini alimentari, in particolare tra i soggetti più giovani, verso uno stile di vita meno sano (191). Lo studio di Ruggiero et al., oltre a confermare quanto descritto dallo studio sopracitato, e lo studio di Costa et al., descrivono un'associazione positiva tra l'introito di HPF e l'aumento della circonferenza vita, coerentemente a quanto osservato anche dal nostro studio (192,193). Risulta quindi valida la raccomandazione di una consulenza dietistica personalizzata, che associ una dieta più salubre ad un minor numero di FODMAPs, come riportato dallo studio di Luseti et al. (194).

L'influenza della DM sul profilo metabolico è stata indagata ampiamente da studi precedenti che si dimostrano in linea con i nostri dati, i quali riportano una diminuzione dei livelli di trigliceridi, valori di HDL più alti e una circonferenza vita più bassa nei pazienti maggiormente aderenti alla DM. La letteratura è ricca di evidenze che riportano effetti positivi sui livelli di colesterolo e trigliceridi, sulla pressione arteriosa e sulla glicemia. Inoltre, la DM svolge un ruolo anche nella prevenzione del diabete, dell'obesità e dell'infarto miocardico acuto. È quindi indiscutibile la correlazione tra aderenza alla DM e un profilo metabolico migliore (172,177,195,196).

Infine, per quanto riguarda la qualità della vita, dai nostri dati è emerso che la persistenza dei sintomi è associata a punteggi CeD-QoL più bassi. Come riportato in letteratura, la MC è una patologia che può avere un peso rilevante, sia in termini sintomatologici che, soprattutto, in termini sociali. Questo aspetto rappresenta la causa principale di una bassa qualità di vita nonostante l'aderenza alla GFD per molto tempo (92,197,198).

Il nostro studio presenta alcune limitazioni. Innanzitutto, il numero di pazienti arruolati è limitato, anche se il reclutamento è ancora in corso. Inoltre, l'aderenza alla DM è stata valutata retrospettivamente e self-reported dai pazienti. Infine, non è stata eseguita una biopsia duodenale di follow-up in tutti i pazienti, in quanto la decisione di ripetere o meno una biopsia duodenale si basa principalmente sulle caratteristiche cliniche di ciascun paziente (199).

In conclusione, il nostro studio rileva che circa il 60% dei pazienti celiaci a dieta senza glutine (GFD), soprattutto di sesso femminile, riferisce una persistenza dei sintomi e, pertanto, una peggiore qualità di vita. Tuttavia, la persistenza sintomatologica comporta un ridotto introito di HPF, con un conseguente miglior profilo metabolico. Si conferma una correlazione inversa tra aderenza alla DM e consumo di cibi processati. Appare pertanto importante che il paziente celiaco, indipendentemente dalla risposta alla dieta senza glutine, sia correttamente seguito da un punto di vista nutrizionale.

## Bibliografia

1. Fasano A, Catassi C. Celiac disease. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(25):2419–26.
2. Biesiekierski JR. What is gluten? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2017;32(S1):78–81.
3. Catassi C, Fasano A. Celiac disease. Gluten-free cereal products and beverages. 2008;1–I.
4. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1\* 05-DQB1\* 02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Human immunology*. 2003;64(4):469–77.
5. Makharia GK, Singh P, Catassi C, Sanders DS, Leffler D, Ali RAR, et al. The global burden of coeliac disease: opportunities and challenges. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2022;19(5):313–27.
6. Makharia GK, Chauhan A, Singh P, Ahuja V. Epidemiology of coeliac disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2022;56:S3–17.
7. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Annals of medicine*. 2010;42(8):587–95.
8. Singh P, Arora A, Strand TA, Leffler DA, Catassi C, Green PH, et al. Global prevalence of celiac disease: systematic review and meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2018;16(6):823–36.
9. Kang J, Kang A, Green A, Gwee K, Ho K. Systematic review: worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013;38(3):226–45.
10. Lebwohl B, Murray JA, Verdú EF, Crowe SE, Dennis M, Fasano A, et al. Gluten introduction, breastfeeding, and celiac disease: back to the drawing board. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2016;111(1):12–4.
11. Lebwohl B, Rubio-Tapia A. Epidemiology, presentation, and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology*. 2021;160(1):63–75.
12. Lionetti E, Catassi C. New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *International reviews of*

immunology. 2011;30(4):219–31.

13. Dewar D, Pereira SP, Ciclitira PJ. The pathogenesis of coeliac disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2004;36(1):17–24.
14. 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(5):624–8.
15. Nisticò L, Fagnani C, Coto I, Percopo S, Cotichini R, Limongelli MG, et al. Concordance, disease progression, and heritability of coeliac disease in Italian twins. *Gut*. 2006;55(6):803–8.
16. Risch N. Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *American journal of human genetics*. 1987;40(1):1.
17. Simmonds M, Gough S. The HLA region and autoimmune disease: associations and mechanisms of action. *Current genomics*. 2007;8(7):453–65.
18. Withoff S, Li Y, Jonkers I, Wijmenga C. Understanding celiac disease by genomics. *Trends in Genetics*. 2016;32(5):295–308.
19. Jabri B, Kasarda DD, Green PH. Innate and adaptive immunity: the yin and yang of celiac disease. *Immunological reviews*. 2005;206(1):219–31.
20. Waga J. Structure and allergenicity of wheat gluten proteins-a review. 2004;
21. Herrera MG, Pizzuto M, Lonez C, Rott K, Hütten A, Sewald N, et al. Large supramolecular structures of 33-mer gliadin peptide activate toll-like receptors in macrophages. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2018;14(4):1417–27.
22. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang J, Macatagney R, Musu M, Di Pierro M, et al. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut*. 2003;52(2):218–23.
23. Schumann M, Richter JF, Wedell I, Moos V, Zimmermann-Kordmann M, Schneider T, et al. Mechanisms of epithelial translocation of the  $\alpha$ 2-gliadin-33mer in coeliac sprue. *Gut*. 2008;57(6):747–54.
24. Matysiak-Budnik T, Candalh C, Dugave C, Namane A, Cellier C, Cerf-Bensussan N, et al. Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology*. 2003;125(3):696–707.
25. Asero R, Riboldi P, Tedeschi A, Cugno M, Meroni P, Askenasy N, et al. journal homepage: [www.elsevier.com/locate/autrev](http://www.elsevier.com/locate/autrev). cell. 7:305.
26. Vader W, Kooy Y, Van Veelen P, De Ru A, Harris D, Benckhuijsen W, et al. The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology*. 2002;122(7):1729–37.
27. Stein J, Schuppan D. Coeliac disease-new pathophysiological findings and

their implications for therapy. *Viszeralmedizin*. 2014;30(3):156–65.

28. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Bauer M, Della Riccia DN, Bizzini F, Biagi F, et al. Matrix metalloproteinase pattern in celiac duodenal mucosa. *Laboratory investigation*. 2005;85(3):397–407.
29. Meresse B, Korneychuk N, Malamut G, Cerf-Bensussan N. Interleukin-15, a master piece in the immunological jigsaw of celiac disease. *Digestive Diseases*. 2015;33(2):122–30.
30. Ciccocioppo R, Finamore A, Mengheri E, Millimaggi D, Esslinger B, Dieterich W, et al. Isolation and characterization of circulating tissue transglutaminase-specific T cells in coeliac disease. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2010;23(1):179–91.
31. Esposito C, Paparo F, Caputo I, Rossi M, Maglio M, Sblattero D, et al. Anti-tissue transglutaminase antibodies from coeliac patients inhibit transglutaminase activity both in vitro and in situ. *Gut*. 2002;51(2):177–81.
32. Aboulaghras S, Piancatelli D, Oumhani K, Balahbib A, Bouyahya A, Taghzouti K. Pathophysiology and immunogenetics of celiac disease. *Clinica Chimica Acta*. 2022;528:74–83.
33. O’Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO reports*. 2006;7(7):688–93.
34. Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y. Intestinal microbiota and celiac disease: cause, consequence or co-evolution? *Nutrients*. 2015;7(8):6900–23.
35. Marasco G, Di Biase AR, Schiumerini R, Eusebi LH, Iughetti L, Ravaioli F, et al. Gut microbiota and celiac disease. *Digestive diseases and sciences*. 2016;61:1461–72.
36. Caminero A, Herrán AR, Nistal E, Pérez-Andrés J, Vaquero L, Vivas S, et al. Diversity of the cultivable human gut microbiome involved in gluten metabolism: isolation of microorganisms with potential interest for coeliac disease. *FEMS microbiology ecology*. 2014;88(2):309–19.
37. Pecora F, Persico F, Gismondi P, Fornaroli F, Iuliano S, De’Angelis GL, et al. Gut microbiota in celiac disease: is there any role for probiotics? *Frontiers in Immunology*. 2020;11:957.
38. de Sousa Moraes LF, Grzeskowiak LM, de Sales Teixeira TF, Gouveia Peluzio M do C. Intestinal microbiota and probiotics in celiac disease. *Clinical microbiology reviews*. 2014;27(3):482–9.
39. Vivas S, De Morales JMR, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology|ACG*. 2008;103(9):2360–5.

40. Rampertab SD, Pooran N, Brar P, Singh P, Green PH. Trends in the presentation of celiac disease. *The American journal of medicine*. 2006;119(4):355-e9.
41. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*. 2013;62(1):43–52.
42. Fasano A. Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology*. 2005;128(4):S68–73.
43. Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, et al. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC medicine*. 2019;17:1–20.
44. Guarino M, Gambuti E, Alfano F, Strada A, Ciccocioppo R, Lungaro L, et al. Life-threatening onset of coeliac disease: A case report and literature review. *BMJ open gastroenterology*. 2020;7(1):e000406.
45. Saccone G, Berghella V, Sarno L, Maruotti GM, Cetin I, Greco L, et al. Celiac disease and obstetric complications: a systematic review and metaanalysis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016;214(2):225–34.
46. Tan IL, Withoff S, Kolkman JJ, Wijmenga C, Weersma RK, Visschedijk MC. Non-classical clinical presentation at diagnosis by male celiac disease patients of older age. *European journal of internal medicine*. 2021;83:28–33.
47. Pinto-Sánchez MI, Bercik P, Verdu EF, Bai JC. Extraintestinal manifestations of celiac disease. *Digestive Diseases*. 2015;33(2):147–54.
48. Kondapalli AV, Walker MD. Celiac disease and bone. *Archives of endocrinology and metabolism*. 2022;66:756–64.
49. Duerksen D, Pinto-Sanchez MI, Anca A, Schnetzler J, Case S, Zelin J, et al. Management of bone health in patients with celiac disease: practical guide for clinicians. *Canadian Family Physician*. 2018;64(6):433–8.
50. Therrien A, Kelly CP, Silvester JA. Celiac disease: extraintestinal manifestations and associated conditions. *Journal of clinical gastroenterology*. 2020;54(1):8–21.
51. Lungaro L, Manza F, Costanzini A, Barbalinardo M, Gentili D, Caputo F, et al. Osteoporosis and celiac disease: Updates and hidden pitfalls. *Nutrients*. 2023;15(5):1089.
52. Nejad MR, Hogg-Kollars S, Ishaq S, Rostami K. Subclinical celiac disease and gluten sensitivity. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*. 2011;4(3):102.
53. Bottaro G, Cataldo F, Rotolo N, Spina M, Corazza G. The clinical pattern of subclinical/silent celiac disease: an analysis on 1026 consecutive cases. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*. 1999;94(3):691–6.

54. Kaukinen K, Peräaho M, Collin P, Partanen J, Woolley N, Kaartinen T, et al. Small-bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits in coeliac disease without villous atrophy: a prospective and randomized clinical study. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2005;40(5):564–72.
55. Volta U, Caio G, Giancola F, Rhoden KJ, Ruggeri E, Boschetti E, et al. Features and progression of potential celiac disease in adults. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2016;14(5):686–93.
56. Tosco A, Salvati VM, Auricchio R, Maglio M, Borrelli M, Coruzzo A, et al. Natural history of potential celiac disease in children. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2011;9(4):320–5.
57. Sperandeo MP, Tosco A, Izzo V, Tucci F, Troncone R, Auricchio R, et al. Potential celiac patients: a model of celiac disease pathogenesis. *PloS one*. 2011;6(7):e21281.
58. Malamut G, Cellier C. Refractory celiac disease. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2019;48(1):137–44.
59. Daum S, Cellier C, Mulder CJ. Refractory coeliac disease. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2005;19(3):413–24.
60. Malamut G, Cording S, Cerf-Bensussan N. Recent advances in celiac disease and refractory celiac disease. *F1000Research*. 2019;8.
61. Lauret E, Rodrigo L, others. Celiac disease and autoimmune-associated conditions. *BioMed research international*. 2013;2013.
62. Barker JM, Liu E. Celiac disease: pathophysiology, clinical manifestations, and associated autoimmune conditions. *Advances in pediatrics*. 2008;55(1):349–65.
63. Bolotin D, Petronic-Rosic V. Dermatitis herpetiformis: part I. Epidemiology, pathogenesis, and clinical presentation. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2011;64(6):1017–24.
64. Rodrigo L. Celiac disease. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2006;12(41):6577.
65. Monar GVF, Islam H, Puttagunta SM, Islam R, Kundu S, Jha SB, et al. Association between type 1 diabetes mellitus and celiac disease: Autoimmune disorders with a shared genetic background. *Cureus*. 2022;14(3).
66. Serena G, Camhi S, Sturgeon C, Yan S, Fasano A. The role of gluten in celiac disease and type 1 diabetes. *Nutrients*. 2015;7(9):7143–62.
67. Ziegler AG, Schmid S, Huber D, Hummel M, Bonifacio E. Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes–associated autoantibodies. *Jama*. 2003;290(13):1721–8.

68. 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(19):2343–51.
69. Ch'ng CL, Jones MK, Kingham JG. Celiac disease and autoimmune thyroid disease. *Clinical medicine & research*. 2007;5(3):184–92.
70. Lorini R, Larizza D, Scotta MS, Severi F. HLA in Graves' disease coexistent with coeliac disease. *European Journal of Pediatrics*. 1986;145:241–241.
71. Hunt KA, McGovern DP, Kumar PJ, Ghosh S, Travis SP, Walters JR, et al. A common CTLA4 haplotype associated with coeliac disease. *European Journal of Human Genetics*. 2005;13(4):440–4.
72. Chistiakov D, Turakulov R. CTLA-4 and its role in autoimmune thyroid disease. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2003;31(1):21–36.
73. Naiyer AJ, Shah J, Hernandez L, Kim SY, Ciaccio EJ, Cheng J, et al. Tissue transglutaminase antibodies in individuals with celiac disease bind to thyroid follicles and extracellular matrix and may contribute to thyroid dysfunction. *Thyroid*. 2008;18(11):1171–8.
74. Mainardi E, Montanelli A, Dotti M, Nano R, Moscato G. Thyroid-related autoantibodies and celiac disease: a role for a gluten-free diet? *Journal of clinical gastroenterology*. 2002;35(3):245–8.
75. Liu Y, Yao N, Wang Y, Dong Y, Wang L, Wang F, et al. The association of gluten-free diet with thyroid autoimmunity in patients with celiac disease: a meta-analysis. *Food & Function*. 2024;15(3):1089–98.
76. Vajro P, Paoletta G, Maggiore G, Giordano G. Pediatric celiac disease, cryptogenic hypertransaminasemia, and autoimmune hepatitis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2013;56(6):663–70.
77. Ludvigsson JF, Elfström P, Broomé U, Ekblom A, Montgomery SM. Celiac disease and risk of liver disease: a general population-based study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2007;5(1):63–9.
78. Kaukinen K, Halme L, Collin P, Färkkilä M, Mäki M, Vehmanen P, et al. Celiac disease in patients with severe liver disease: gluten-free diet may reverse hepatic failure. *Gastroenterology*. 2002;122(4):881–8.
79. Hadjivassiliou M, Sanders DS, Woodroffe N, Williamson C, Grünewald RA. Gluten ataxia. *The Cerebellum*. 2008;7:494–8.
80. Iqbal T, Zaidi MA, Wells GA, Karsh J. Celiac disease arthropathy and autoimmunity study. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2013;28(1):99–105.
81. Lupu VV, Jechel E, Mihai CM, Mitrofan EC, Lupu A, Starcea IM, et al. Connection between Celiac Disease and Systemic Lupus Erythematosus in

Children—A Development Model of Autoimmune Diseases Starting from What We Inherit to What We Eat. *Nutrients*. 2023;15(11):2535.

82. Gallegos C, Merkel R. Current evidence in the diagnosis and treatment of children with celiac disease. *Gastroenterology Nursing*. 2019;42(1):41–8.

83. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*. 2001;120(3):636–51.

84. Hill ID, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg E, Levy J, Reilly N, et al. NASPGHAN clinical report on the diagnosis and treatment of gluten-related disorders. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2016;63(1):156–65.

85. James SP. National Institutes of Health consensus development conference statement on celiac disease, June 28–30, 2004. Vol. 128, *Gastroenterology*. Elsevier; 2005. p. S1–9.

86. Volta U, Fabbri A, Parisi C, Piscaglia M, Caio G, Tovoli F, et al. Old and new serological tests for celiac disease screening. Expert review of gastroenterology & hepatology. 2010;4(1):31–5.

87. Catassi C, Verdu EF, Bai JC, Lionetti E. Coeliac disease. *The Lancet*. 2022;399(10344):2413–26.

88. Zingone F, Maimaris S, Auricchio R, Caio GPI, Carroccio A, Elli L, et al. Guidelines of the Italian societies of gastroenterology on the diagnosis and management of coeliac disease and dermatitis herpetiformis. *Digestive and Liver Disease*. 2022;54(10):1304–19.

89. Lewis NR, Scott BB. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010;31(1):73–81.

90. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, et al. IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. *Clinical chemistry*. 2010;56(3):464–8.

91. Villalta D, Alessio MG, Tampoia M, Tonutti E, Brusca I, Bagnasco M, et al. Testing for IgG class antibodies in celiac disease patients with selective IgA deficiency.: A comparison of the diagnostic accuracy of 9 IgG anti-tissue transglutaminase, 1 IgG anti-gliadin and 1 IgG anti-deaminated gliadin peptide antibody assays. *Clinica Chimica Acta*. 2007;382(1–2):95–9.

92. Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, Castillejo G, Sanders DS, Cellier C, et al. European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European gastroenterology journal*. 2019;7(5):583–613.

93. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *Journal of clinical pathology*. 2005;58(6):573–4.

94. Ben Houmich T, Admou B. Celiac disease: Understandings in diagnostic, nutritional, and medicinal aspects. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2021;35:20587384211008709.
95. Adelman DC, Murray J, Wu TT, Mäki M, Green PH, Kelly CP. Measuring change in small intestinal histology in patients with celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2018;113(3):339–47.
96. Villanacci V, Ceppa P, Tavani E, Vindigni C, Volta U, others. Coeliac disease: the histology report. *Digestive and Liver Disease*. 2011;43:S385–95.
97. Bao F, Green PH, Bhagat G. An update on celiac disease histopathology and the road ahead. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2012;136(7):735–45.
98. Latorre M, Lagana SM, Freedberg DE, Lewis SK, Lebwohl B, Bhagat G, et al. Endoscopic biopsy technique in the diagnosis of celiac disease: one bite or two? *Gastrointestinal endoscopy*. 2015;81(5):1228–33.
99. Lebwohl B, Sanders DS, Green PH. Coeliac disease. *The Lancet*. 2018;391(10115):70–81.
100. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó I, Kurppa K, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, et al. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. gennaio 2020;70(1):141–56.
101. Ciacci C, Bai JC, Holmes G, Al-Toma A, Biagi F, Carroccio A, et al. Serum anti-tissue transglutaminase IgA and prediction of duodenal villous atrophy in adults with suspected coeliac disease without IgA deficiency (Bi.A.CeD): a multicentre, prospective cohort study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. novembre 2023;8(11):1005–14.
102. DeGaetani M, Tennyson CA, Lebwohl B, Lewis SK, Daya HA, Arguelles-Grande C, et al. Villous atrophy and negative celiac serology: a diagnostic and therapeutic dilemma. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2013;108(5):647–53.
103. Greenson JK. The biopsy pathology of non-coeliac enteropathy. *Histopathology*. 2015;66(1):29–36.
104. Shah VH, Rotterdam H, Kotler DP, Fasano A, Green PH. All that scallops is not celiac disease. *Gastrointestinal endoscopy*. 2000;51(6):717–20.
105. Pallav K, Kabbani T, Tariq S, Vanga R, Kelly CP, Leffler DA. Clinical utility of celiac disease-associated HLA testing. *Digestive diseases and sciences*. 2014;59:2199–206.
106. Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *The Journal of experimental medicine*. 1989;169(1):345–50.

107. Brousse N, Meijer J. Malignant complications of coeliac disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2005;19(3):401–12.
108. Biagi F, Gobbi P, Marchese A, Borsotti E, Zingone F, Ciacci C, et al. Low incidence but poor prognosis of complicated coeliac disease: a retrospective multicentre study. *Digestive and Liver Disease*. 2014;46(3):227–30.
109. Catassi C, Bearzi I, Holmes GK. Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology*. 2005;128(4):S79–86.
110. Malamut G, Cellier C. Complications of coeliac disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2015;29(3):451–8.
111. Spencer J, Cerf-Bensussan N, Jarry A, Brousse N, Guy-Grand D, Krajewski A, et al. Enteropathy-associated T cell lymphoma (malignant histiocytosis of the intestine) is recognized by a monoclonal antibody (HML-1) that defines a membrane molecule on human mucosal lymphocytes. *The American journal of pathology*. 1988;132(1):1.
112. Elfström P, Granath F, Ekström Smedby K, Montgomery SM, Askling J, Ekblom A, et al. Risk of lymphoproliferative malignancy in relation to small intestinal histopathology among patients with celiac disease. *Journal of the National Cancer Institute*. 2011;103(5):436–44.
113. Ferreri AJ, Zinzani PL, Govi S, Pileri SA. Enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2011;79(1):84–90.
114. Nijeboer P, Malamut G, Mulder C, Cerf-Bensussan N, Sibon D, Bouma G, et al. Enteropathy-associated T-cell lymphoma: improving treatment strategies. *Digestive Diseases*. 2015;33(2):231–5.
115. Neugut AI, Jacobson JS, Suh S, Mukherjee R, Arber N. The epidemiology of cancer of the small bowel. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 1998;7(3):243–51.
116. Silano M, Volta U, Mecchia AM, Dessì M, Di Benedetto R, De Vincenzi M, et al. Delayed diagnosis of coeliac disease increases cancer risk. *BMC gastroenterology*. 2007;7:1–5.
117. Caio G, Volta U, Ursini F, Manfredini R, De Giorgio R. Small bowel adenocarcinoma as a complication of celiac disease: clinical and diagnostic features. *BMC gastroenterology*. 2019;19:1–9.
118. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, Card TR, Ciacci C, Ciclitira PJ, et al. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut*. 2014;63(8):1210–28.
119. Fishman PN, Pond GR, Moore MJ, Oza A, Burkes RL, Siu LL, et al. Natural history and chemotherapy effectiveness for advanced adenocarcinoma of the small bowel: a retrospective review of 113 cases. *American journal of clinical oncology*.

2006;29(3):225–31.

120. LePane CA, Barkin JS, Parra J, Simon T. Ulcerative jejunoileitis: a complication of celiac sprue simulating Crohn's disease diagnosed with capsule endoscopy (PillCam). *Digestive diseases and sciences*. 2007;52:698–701.

121. Koutrotsos K, Tsiachris D, Papatheodoridis GV, Tiniakos DG, Zafiropoulou R, Archimandritis AJ. Simultaneous diagnosis of ulcerative jejunoileitis and coeliac disease in an elderly man. *Digestion*. 2006;73(1):20–4.

122. Biagi F, Lorenzini P, Corazza G. Literature review on the clinical relationship between ulcerative jejunoileitis, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2000;35(8):785–90.

123. Rubin JE, Crowe SE. Celiac disease. *Annals of internal medicine*. 2020;172(1):ITC1–16.

124. Wierdsma NJ, van Bokhorst-de van der Schueren MAE, Berkenpas M, Mulder CJJ, van Bodegraven AA. Vitamin and mineral deficiencies are highly prevalent in newly diagnosed celiac disease patients. *Nutrients*. 30 settembre 2013;5(10):3975–92.

125. Montoro-Huguet MA, Santolaria-Piedrafita S, Cañamares-Orbis P, García-Erce JA. Iron Deficiency in Celiac Disease: Prevalence, Health Impact, and Clinical Management. *Nutrients*. 28 settembre 2021;13(10).

126. 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. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2009;29(8):811–6.

127. Kavak US, Yüce A, Koçak N, Demir H, Saltik IN, Gürakan F, et al. Bone mineral density in children with untreated and treated celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2003;37(4):434–6.

128. Leffler DA, Dennis M, Edwards George JB, Jamma S, Magge S, Cook EF, et al. A simple validated gluten-free diet adherence survey for adults with celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. maggio 2009;7(5):530–6, 536.e1-2.

129. 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*. settembre 2009;102(6):882–7.

130. Stasi E, Marafini I, Caruso R, Soderino F, Angelucci E, Blanco GDV, et al. Frequency and cause of persistent symptoms in celiac disease patients on a long-term gluten-free diet. *Journal of clinical gastroenterology*. 2016;50(3):239–43.

131. Barratt SM, Leeds JS, Sanders DS. Factors influencing the type, timing and severity of symptomatic responses to dietary gluten in patients with biopsy-proven coeliac disease. *Journal of Gastrointestinal & Liver Diseases*. 2013;22(4).

132. Dewar DH, Donnelly SC, McLaughlin SD, Johnson MW, Ellis HJ, Ciclitira PJ. Celiac disease: management of persistent symptoms in patients on a gluten-free diet. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2012;18(12):1348.
133. Abdulkarim AS, Burgart LJ, See J, Murray JA. Etiology of nonresponsive celiac disease: results of a systematic approach. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2002;97(8):2016–21.
134. Rubio-Tapia A, Barton SH, Murray JA. Celiac disease and persistent symptoms. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2011;9(1):13.
135. Canestaro WJ, Edwards TC, Patrick DL. Systematic review: patient-reported outcome measures in coeliac disease for regulatory submissions. *Aliment Pharmacol Ther*. agosto 2016;44(4):313–31.
136. Rubio-Tapia A, Murray JA. Classification and management of refractory coeliac disease. *Gut*. 2010;59(4):547–57.
137. Malamut G, Cerf-Bensussan N. *Refractory celiac disease*. Springer; 2022.
138. Green PH, Paski S, Ko CW, Rubio-Tapia A. AGA clinical practice update on management of refractory celiac disease: expert review. *Gastroenterology*. 2022;163(5):1461–9.
139. Hussein S, Gindin T, Lagana SM, Arguelles-Grande C, Krishnareddy S, Alobeid B, et al. Clonal T cell receptor gene rearrangements in coeliac disease: implications for diagnosing refractory coeliac disease. *Journal of Clinical Pathology*. 2018;71(9):825–31.
140. Mallant M, Hadithi M, Al-Toma AB, Kater M, Jacobs M, Manoliu R, et al. Abdominal computed tomography in refractory coeliac disease and enteropathy associated T-cell lymphoma. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2007;13(11):1696.
141. Hadithi M, Mallant M, Oudejans J, van Waesberghe JHT, Mulder CJ, Comans EF. 18F-FDG PET versus CT for the detection of enteropathy-associated T-cell lymphoma in refractory celiac disease. *Journal of Nuclear Medicine*. 2006;47(10):1622–7.
142. Al-Bawardy B, Barlow JM, Vasconcelos RN, Kim ST, Bruining DH, Hansel SL, et al. Cross-sectional imaging in refractory celiac disease. *Abdominal Radiology*. 2017;42:389–95.
143. Hujoel IA, Murray JA. Refractory celiac disease. *Current gastroenterology reports*. 2020;22:1–8.
144. Malamut G, Afchain P, Verkarre V, Lecomte T, Amiot A, Damotte D, et al. Presentation and long-term follow-up of refractory celiac disease: comparison of type I with type II. *Gastroenterology*. 2009;136(1):81–90.

145. Brar P, Lee S, Lewis S, Egbuna I, Bhagat G, Green PH. Budesonide in the treatment of refractory celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2007;102(10):2265–9.
146. Mukewar SS, Sharma A, Rubio-Tapia A, Wu TT, Jabri B, Murray JA. Open-capsule budesonide for refractory celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2017;112(6):959–67.
147. Goerres M, Meijer J, Wahab P, Kerckhaert J, Groenen P, Van Krieken J, et al. Azathioprine and prednisone combination therapy in refractory coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2003;18(5):487–94.
148. Tack G, Van Asseldonk D, Van Wanrooij R, Van Bodegraven A, Mulder C. Tioguanine in the treatment of refractory coeliac disease—a single centre experience. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;36(3):274–81.
149. Dubinsky MC. Azathioprine, 6-mercaptopurine in inflammatory bowel disease: pharmacology, efficacy, and safety. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2004;2(9):731–43.
150. Costantino G, Della Torre A, Presti ML, Caruso R, Mazzon E, Fries W. Treatment of life-threatening type I refractory coeliac disease with long-term infliximab. *Digestive and Liver Disease*. 2008;40(1):74–7.
151. Al-toma A, Goerres MS, Meijer JW, Von Blomberg BME, Wahab PJ, Kerckhaert JA, et al. Cladribine therapy in refractory celiac disease with aberrant T cells. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2006;4(11):1322–7.
152. Tack G, Wondergem M, Al-Toma A, Verbeek W, Schmittel A, Machado M, et al. Auto-SCT in refractory celiac disease type II patients unresponsive to cladribine therapy. *Bone marrow transplantation*. 2011;46(6):840–6.
153. Al-toma A, Visser OJ, Van Roessel HM, von Blomberg BME, Verbeek WH, Scholten PE, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory celiac disease with aberrant T cells. *Blood*. 2007;109(5):2243–9.
154. Al-Toma A. Refractory celiac disease. In: *Gluten-Related Disorders*. Elsevier; 2022. p. 213–21.
155. Saturni L, Ferretti G, Bacchetti T. The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients*. 2010;2(1):00016–34.
156. Kupper C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*. 2005;128(4):S121–7.
157. Zuccotti G, Fabiano V, Dilillo D, Picca M, Cravidi C, Brambilla P. Intakes of nutrients in Italian children with celiac disease and the role of commercially available gluten-free products. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2013;26(5):436–44.
158. Lionetti E, Antonucci N, Marinelli M, Bartolomei B, Franceschini E, Gatti

S, et al. Nutritional status, dietary intake, and adherence to the mediterranean diet of children with celiac disease on a gluten-free diet: A case-control prospective study. *Nutrients*. 2020;12(1):143.

159. Diamanti A, Capriati T, Basso MS, Panetta F, Di Ciommo Laurora VM, Bellucci F, et al. Celiac disease and overweight in children: an update. *Nutrients*. 2014;6(1):207–20.

160. Penagini F, Dilillo D, Meneghin F, Mameli C, Fabiano V, Zuccotti GV. Gluten-free diet in children: an approach to a nutritionally adequate and balanced diet. *Nutrients*. 2013;5(11):4553–65.

161. Mariani P, Viti MG, Montouri M, La Vecchia A, Cipolletta E, Calvani L, et al. The gluten-free diet: a nutritional risk factor for adolescents with celiac disease? *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 1998;27(5):519–23.

162. Norsa L, Shamir R, Zevit N, Verduci E, Hartman C, Ghisleni D, et al. Cardiovascular disease risk factor profiles in children with celiac disease on gluten-free diets. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2013;19(34):5658.

163. Kabbani T, Goldberg A, Kelly C, Pallav K, Tariq S, Peer A, et al. Body mass index and the risk of obesity in coeliac disease treated with the gluten-free diet. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;35(6):723–9.

164. Wild D, Robins G, Burley V, Howdle P. Evidence of high sugar intake, and low fibre and mineral intake, in the gluten-free diet. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010;32(4):573–81.

165. Martinez-Perez C, Daimiel L, Climent-Mainar C, Martínez-González MÁ, Salas-Salvadó J, Corella D, et al. Integrative development of a short screening questionnaire of highly processed food consumption (sQ-HPF). *Int J Behav Nutr Phys Act*. 24 gennaio 2022;19(1):6.

166. Tortora R, Capone P, De Stefano G, Imperatore N, Gerbino N, Donetto S, et al. Metabolic syndrome in patients with coeliac disease on a gluten-free diet. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2015;41(4):352–9.

167. Ciccone A, Gabrieli D, Cardinale R, Di Ruscio M, Vernia F, Stefanelli G, et al. Metabolic alterations in celiac disease occurring after following a gluten-free diet. *Digestion*. 1963;100(4):262–8.

168. Shepherd SJ, Gibson PR. Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2013;26(4):349–58.

169. Ceballos D, Hernández-Camba A, Ramos L. Diet and microbiome in the beginning of the sequence of gut inflammation. *World Journal of Clinical Cases*. 2021;9(36):11122.

170. Gibson PR, Shepherd SJ. Food choice as a key management strategy for functional gastrointestinal symptoms. *Official journal of the American College of*

Gastroenterology| ACG. 2012;107(5):657–66.

171. Guasch-Ferré M, Willett W. The Mediterranean diet and health: A comprehensive overview. *Journal of internal medicine*. 2021;290(3):549–66.

172. Tong TYN, Wareham NJ, Khaw KT, Imamura F, Forouhi NG. Prospective association of the Mediterranean diet with cardiovascular disease incidence and mortality and its population impact in a non-Mediterranean population: the EPIC-Norfolk study. *BMC Med*. 29 settembre 2016;14(1):135.

173. Chiriaco M, Tubili C, Bo S, Parillo M, Vetrani C, Mazzotti A, et al. Critical evaluation of the questionnaires assessing adherence to the Mediterranean diet that are based on servings. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. aprile 2023;33(4):724–36.

174. Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, et al. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr*. dicembre 2011;14(12A):2274–84.

175. Morreale F, Agnoli C, Roncoroni L, Sieri S, Lombardo V, Mazzeo T, et al. Are the dietary habits of treated individuals with celiac disease adherent to a Mediterranean diet? *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2018;28(11):1148–54.

176. Vici G, Malandrino L, Giustozzi D, Camilletti D, Zufolino S, Polzonetti V. Assessment of Adherence to the Mediterranean Diet and Physical Activity Levels in a Group of Italian Celiac Disease Patients. In: *Proceedings*. MDPI; 2024. p. 232.

177. Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutr*. dicembre 2014;17(12):2769–82.

178. Aljada B, Zohni A, El-Matary W. The gluten-free diet for celiac disease and beyond. *Nutrients*. 2021;13(11):3993.

179. Zingone F, Iavarone A, Tortora R, Imperatore N, Pellegrini L, Russo T, et al. The Italian translation of the Celiac Disease-specific Quality of Life Scale in celiac patients on gluten free diet. *Digestive and Liver Disease*. febbraio 2013;45(2):115–8.

180. Schiapatti A, Maimaris S, Lusetti F, Scalvini D, Minerba P, Cincotta M, et al. High prevalence of functional gastrointestinal disorders in celiac patients with persistent symptoms on a gluten-free diet: A 20-year follow-up study. *Digestive Diseases and Sciences*. 2023;68(8):3374–82.

181. Roos S, Liedberg GM, Hellström I, Wilhelmsson S. Persistent symptoms in people with celiac disease despite gluten-free diet: a concern? *Gastroenterology Nursing*. 2019;42(6):496–503.

182. Paarlahti P, Kurppa K, Ukkola A, Collin P, Huhtala H, Mäki M, et al. Predictors of persistent symptoms and reduced quality of life in treated coeliac disease patients: a large cross-sectional study. *BMC gastroenterology*. 2013;13:1–

8.

183. Ljungman G, Myrdal U. Compliance in teenagers with coeliac disease—a Swedish follow-up study. *Acta paediatrica*. 1993;82(3):235–8.

184. Al Sarkhy A, El Mouzan MI, Saeed E, Alanazi A, Alghamdi S, Anil S, et al. Clinical characteristics of celiac disease and dietary adherence to gluten-free diet among Saudi children. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*. 2015;18(1):23.

185. Leffler DA, Edwards-George J, Dennis M, Schuppan D, Cook F, Franko DL, et al. Factors that influence adherence to a gluten-free diet in adults with celiac disease. *Digestive diseases and sciences*. 2008;53:1573–81.

186. Zito FP, Polese B, Vozzella L, Gala A, Genovese D, Verlezza V, et al. Good adherence to mediterranean diet can prevent gastrointestinal symptoms: A survey from Southern Italy. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 6 novembre 2016;7(4):564–71.

187. Elmaliklis IN, Liveri A, Ntelis B, Paraskeva K, Goulis I, Koutelidakis AE. Increased Functional Foods' Consumption and Mediterranean Diet Adherence May Have a Protective Effect in the Appearance of Gastrointestinal Diseases: A Case-Control Study. *Medicines (Basel)*. 9 aprile 2019;6(2).

188. Chen EY, Mahurkar-Joshi S, Liu C, Jaffe N, Labus JS, Dong TS, et al. The association between a Mediterranean diet and symptoms of irritable bowel syndrome. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2024;22(1):164–72.

189. Roncoroni L, Bascuñán KA, Doneda L, Scricciolo A, Lombardo V, Branchi F, et al. A low FODMAP gluten-free diet improves functional gastrointestinal disorders and overall mental health of celiac disease patients: A randomized controlled trial. *Nutrients*. 2018;10(8):1023.

190. van Megen F, Skodje GI, Lergenmuller S, Zühlke S, Aabakken L, Veierød MB, et al. A low FODMAP diet reduces symptoms in treated celiac patients with ongoing symptoms—a randomized controlled trial. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2022;20(10):2258-2266. e3.

191. Godos J, Giampieri F, Al-Qahtani WH, Scazzina F, Bonaccio M, Grosso G. Ultra-processed food consumption and relation with diet quality and Mediterranean diet in southern Italy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(18):11360.

192. Ruggiero E, Esposito S, Costanzo S, Di Castelnuovo A, Cerletti C, Donati MB, et al. Ultra-processed food consumption and its correlates among Italian children, adolescents and adults from the Italian Nutrition & Health Survey (INHES) cohort study. *Public Health Nutrition*. 2021;24(18):6258–71.

193. Costa CS, Rauber F, Leffa PS, Sangalli CN, Campagnolo PDB, Vitolo MR. Ultra-processed food consumption and its effects on anthropometric and glucose profile: a longitudinal study during childhood. *Nutrition, Metabolism and*

Cardiovascular Diseases. 2019;29(2):177–84.

194. Lusetti F, Schiepatti A, Scalvini D, Maimaris S, Biagi F. Efficacy of a Low-FODMAP Diet for Coeliac Patients with Persistent IBS-like Symptoms despite a Gluten-Free Diet: A Systematic Review. *Nutrients*. 2024;16(7):1094.

195. Papadaki A, Nolen-Doerr E, Mantzoros CS. The Effect of the Mediterranean Diet on Metabolic Health: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials in Adults. *Nutrients*. 30 ottobre 2020;12(11).

196. Di Daniele N, Noce A, Vidiri MF, Moriconi E, Marrone G, Annicchiarico-Petruzzelli M, et al. Impact of Mediterranean diet on metabolic syndrome, cancer and longevity. *Oncotarget*. 2017;8(5):8947.

197. Ciacci C, Zingone F. The perceived social burden in celiac disease. *Diseases*. 2015;3(2):102–10.

198. Harnett JE, Myers SP. Quality of life in people with ongoing symptoms of coeliac disease despite adherence to a strict gluten-free diet. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1144.

199. Schiepatti A, Maimaris S, Raju SA, Green OL, Mantica G, Therrien A, et al. Persistent villous atrophy predicts development of complications and mortality in adult patients with coeliac disease: a multicentre longitudinal cohort study and development of a score to identify high-risk patients. *Gut*. 2023;72(11):2095–102.