



Università degli Studi di Padova

Scuola di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina - Dimed

Medicina Generale 1

Direttore: Ch.mo Prof. Carlo Agostini

TESI DI LAUREA

Gastroenteropatie associate a  
immunodeficienza comune variabile:  
caratterizzazione clinica, endoscopica e  
funzionale

Relatore: Prof. Marcello Rattazzi

Correlatore: Dott.ssa Carla Felice

Laureanda: Claudia Mattei

Anno Accademico 2021/2022



## Sommario

<b>Abbreviazioni .....</b>	<b>1</b>
<b>Riassunto .....</b>	<b>3</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>6</b>
<b>Introduzione.....</b>	<b>9</b>
Immunodeficienze primarie .....	9
Immunodeficienze primarie anticorpali.....	12
Immunodeficienza comune variabile .....	12
Epidemiologia .....	12
Patogenesi .....	13
Difetti genetici e molecolari .....	13
Alterazioni delle cellule del sistema immunitario .....	14
Diagnosi .....	16
Classificazione della immunodeficienza comune variabile .....	17
Manifestazioni cliniche principali .....	20
Immunodeficienza comune variabile e coinvolgimento gastrointestinale....	
.....	22
Infezioni gastrointestinali .....	23
Patologie gastrointestinali benigne.....	24
Tumore gastrico e infezione da <i>Helicobacter pylori</i> nei pazienti con	
CVID .....	26
GastroPanel® .....	28
Cenni di terapia della CVID.....	29
<b>Obiettivi dello studio .....</b>	<b>31</b>
<b>Materiali e metodi .....</b>	<b>32</b>
Disegno e popolazione dello studio .....	32
Dati endoscopici e istologici .....	33
Dati clinici .....	34
Esami di laboratorio .....	38
Analisi statistica .....	38
Aspetti etici .....	39

<b>Risultati .....</b>	<b>41</b>
Popolazione in studio .....	41
Risultati degli esami di laboratorio .....	45
Test microbiologici.....	48
Sintomatologia.....	50
Qualità della vita.....	53
<b>Discussione .....</b>	<b>55</b>
<b>Conclusioni.....</b>	<b>64</b>
<b>Bibliografia .....</b>	<b>65</b>

## Abbreviazioni

BAFF-R: B Cell Activating Factor Receptor

BCL2L1: B-cell Lymphoma 2 Like 1

BMI: Body Mass Index

CD: Cluster di Differenziazione

CGD: Chronic Granulomatous Disease

Ch: Classificazione di Chapel

CTLA-4: Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4

CVID: Common Variable Immunodeficiency

CXCR: CXC chemokine receptor

EGDS: Esofagogastroduodenoscopia

ESID: European Society of Immunodeficiencies

FANS: Farmaci Antinfiammatori Non Steroidei

GI: Gastrointestinale

GOF: Gain Of Function

GP: GastroPanel®

Hb: Hemoglobin

HLA: Human Leukocyte Antigen

Hp: Helicobacter pylori

ICOS: Inducible T Cell Costimulator

IEI: Inborn Errors of Immunity

IFN: Interferone

Ig: Immunoglobuline

IL: Interleuchina

iNKT: invariant Natural Killer T

IQR: Interquantile Range

KCNN4: Potassium Calcium-Activated Channel subfamily N member 4

LIP: Lymphoid Interstitial Pneumonia

LOF: Loss Of Function

LRBA: LPS Responsive Beige-Like Anchor Protein

MICI: Malattia Infiammatoria Cronica Intestinale

MRGE: Malattia da Reflusso Gastroesofageo

mTOR: mammalian Target of Rapamycin

ncRNA: non coding RNA

NGS: Next-Generation Sequencing

NK: Natural Killer

NKT: Natural Killer T

NLH: Nodular Lymphoid Hyperplasia

OLGA: Operative Link on Gastritis Assessment

PAD: Primary Antibody Deficiencies

PCR: Proteina C-Reattiva

PCR: Polymerase Chain Reaction

PGI: Pepsinogeno I

PGII: Pepsinogeno II

PI3K: Phosphatidyl Inositol 3-Kinase

PID: Primary Immunodeficiency

PPI: Proton Pump Inhibitors

QoL: Quality of Life

RPS6KB2: Ribosomal Protein S6 Kinase B2

SCID: Severe Combined Immunodeficiency

TAC1: Transmembrane Activator and Calcium Modulator and Cyclophilin Ligand Interactor

TCF3: Transcription Factor 3

TH: T helper

TNF: Tumor Necrosis Factor

TWEAK: TNF-like weak inducer of apoptosis

XLA: X-Linked Agammaglobulinemia

## **Riassunto**

### **Introduzione**

L'immunodeficienza comune variabile (CVID) è la più frequente immunodeficienza anticorpale primitiva sintomatica. Le manifestazioni cliniche sono eterogenee e, oltre alla aumentata diatesi infettiva, si possono presentare patologie infiammatorie, autoimmuni e neoplasie. Il coinvolgimento gastrointestinale è frequente e questo implica, insieme all'aumentato rischio di tumore dello stomaco riportato in questi pazienti, una frequente esecuzione di esami endoscopici.

### **Obiettivi dello studio**

L'obiettivo primario di questo studio è stato valutare la possibile utilità di test non invasivi nella valutazione della funzionalità gastrica e della flogosi gastrointestinale in pazienti con CVID endoscopicamente ben caratterizzati. Gli obiettivi secondari sono stati la descrizione del quadro sintomatologico addominale, l'identificazione di quadri infettivi gastrointestinali e la valutazione della qualità della vita.

### **Materiali e metodi**

Il disegno dello studio è in parte retrospettivo e in parte osservazionale trasversale. Sono stati inclusi pazienti adulti con diagnosi di CVID seguiti presso l'ambulatorio di Immunologia dell'Ospedale Ca' Foncello di Treviso già studiati endoscopicamente sia con esofagogastroduodenoscopia che con colonscopia.

A tutti i pazienti che rispettavano i criteri di inclusione è stato proposto di sottoporsi ad un prelievo ematico per esami bioumorali (emocromo con formula, assetto marziale, elettroforesi proteica) e per il GastroPanel®; inoltre, sono stati invitati a portare dei campioni di feci per il dosaggio della calprotectina fecale e la ricerca di vari microrganismi enteropatogeni. Infine, sono stati somministrati ai pazienti due

questionari che indagavano la presenza e la frequenza di sintomi gastrointestinali e la loro qualità della vita.

## **Risultati**

Dei 140 pazienti con CVID afferenti al nostro Centro, 72 rispettavano i criteri di inclusione ed esclusione dello studio e di questi 40 hanno accettato di partecipare al protocollo. I soggetti inclusi nello studio presentavano una elevata prevalenza di patologie GI già in anamnesi (62%), di cui i disturbi gastroesofagei sono risultati i più frequenti (20%). Inoltre, di questi il 60% e il 25% presentava delle precedenti alterazioni endoscopiche ed istologiche alla gastroscopia e alla colonscopia, rispettivamente, anche se non tutti i pazienti erano stati sottoposti a biopsie durante l'esame endoscopico.

Per quanto riguarda il risultato degli esami fatti, il 91.4% dei pazienti ha presentato alterato almeno uno dei parametri incluso nel GastroPanel®, ma di questi la maggior parte aveva un quadro non clinicamente significativo. In cinque pazienti, invece, è emerso dal GastroPanel® un possibile quadro di atrofia gastrica: di questi, uno era stato precedentemente gastrectomizzato e uno aveva un corrispondente quadro istologico di atrofia all'ultima gastroscopia eseguita, mentre gli altri tre non avevano un precedente quadro di atrofia. Inoltre, nei pazienti con pattern alterato anche se non clinicamente significativo, uno aveva un precedente riscontro di atrofia gastrica. La sierologia per l'*Helicobacter pylori* è risultata positiva in 11 pazienti (27.5%), ma di questi solo 3 avevano una storia nota di infezione in precedenza. La calprotectina fecale è risultata aumentata in circa il 40% dei pazienti, ma anche in questo caso senza associarsi al precedente riscontro di alterazioni endoscopiche o istologiche. Inoltre, circa il 30% dei pazienti è risultato positivo per infezioni enteropatogene all'esame su feci, ma non sono emerse caratteristiche demografiche o cliniche distintive rispetto ai pazienti risultati negativi.

La quasi totalità dei pazienti lamentava sintomi addominali (97.5%) al momento della visita: in particolare il meteorismo (70%), la diarrea (55%) e il dolore addominale (45%) sono stati quelli più frequentemente riportati, con un importante impatto sia sulla qualità della vita che sugli esami di laboratorio: in particolare, il dolore

addominale e il meteorismo sono risultati significativamente associati ad un maggior riscontro di anemia e rialzo della calprotectina fecale.

## **Conclusioni**

Questo studio ha confermato l'elevata frequenza di sintomi e problematiche gastrointestinali nei pazienti con CVID, associati anche ad un peggioramento significativo della qualità della vita. Tuttavia, le alterazioni riscontrate al GastroPanel® e l'aumento della calprotectina fecale non sono risultati correlati alle alterazioni endoscopiche ed istologiche riscontrate nell'ultimo esame endoscopico disponibile, ma molto probabilmente perché queste indagini erano state eseguite nella maggior parte dei casi più di un anno prima. Anche la sierologia per l'*Helicobacter pylori* in questa categoria di pazienti sembra avere un ruolo diagnostico limitato. Tuttavia, questi dati preliminari andranno confermati in casistiche più ampie e con studi prospettici.

## **Abstract**

### **Introduction**

Common variable immunodeficiency (CVID) is the most frequent symptomatic primary antibody deficiency. Clinical manifestations are heterogeneous and, in addition to an increased infectious diathesis, inflammatory diseases and autoimmune disorders and malignancies can be present. A gastrointestinal involvement is common, leading, together with the increased risk of gastric tumor reported in these patients, to a frequent execution of endoscopic exams.

### **Aim of the study**

The primary aim of this study was the evaluation of the possible utility of non-invasive tests to analyze the gastric function and gastrointestinal inflammation in endoscopically well characterized CVID patients. The secondary aims were the description of abdominal symptoms, the identification of gastrointestinal infections and quality of life evaluation.

### **Materials and methods**

The study design included a retrospective phase and then a cross-sectional observation. Adult CVID patients who previously underwent both esophagogastroduodenoscopy and colonoscopy and referring to the Immunology Clinic of Treviso Ca' Foncello Hospital were included.

All the potential patients were asked to give a blood sample for lab tests (blood count with differential white cell subset analysis, iron metabolism, and protein electrophoresis) and for the GastroPanel®; furthermore, they were invited to bring fecal samples for calprotectin dosage and for infection detection. Finally, patients answered two questionnaires about the presence and the frequency of gastrointestinal symptoms and their quality of life.

## Results

Among 140 patients with CVID treated at our Center, 72 were included in this study and 40 of these agreed to participate in the protocol. The subjects included in the study showed a high prevalence of gastrointestinal disorders already in their previous clinical history (62%), of which gastroesophageal diseases were the most common (20%). Furthermore, 60% and 25% presented previous endoscopic and histological alterations at the gastroscopy or at the colonoscopy, respectively, even if not all the patients underwent biopsies during the endoscopic procedure.

Regarding lab results, 91.4% of patients presented alterations in at least one of parameters of the GastroPanel®, but the majority of these did not show a clinically significant picture. In five patients gastric atrophy was revealed at the GastroPanel®: of these, one was previously gastrectomised and one had histological atrophy at the last gastroscopy, whereas the other three didn't have a previous picture of atrophy. Moreover, between the patients with an altered pattern at the GastroPanel®, even if not clinically significant, one had a previous finding of gastric atrophy. *Helicobacter pylori* serology resulted positive in 11 patients (27.5%), but of these only 3 had a known history of a previous infection. Fecal calprotectin resulted increased in approximately 40% of patients, but even in this case without an association to a previous finding of endoscopic and histological alterations. Furthermore, about 30% of patients resulted positive to enteropathogenic infection, but we didn't observe distinctive demographics or clinical features from patients with negative results.

Almost all patients reported abdominal symptoms (97.5%) during the visit: in particular, meteorism (70%), diarrhea (55%) and abdominal pain (45%) have been the most reported, with a significant impact both on the quality of life and on laboratory exams: in particular, abdominal pain and meteorism resulted significantly associated to a higher prevalence of anemia and an increase level of fecal calprotectin.

## Conclusions

This study confirmed the high frequency of gastrointestinal symptoms and disorders in CVID patients, associated to a significant impact on patients' quality

of life. However, the alterations shown in the GastroPanel® and the increase of fecal calprotectin didn't result associated to endoscopic and histological alterations in the last available endoscopic exam, but probably because these investigations had been done more than a year earlier. In these patients, also *Helicobacter pylori* serology seems to have a limited diagnostic role. However, our preliminary data should be confirmed in larger cohorts of patients and with prospective studies.

## Introduzione

### Immunodeficienze primarie

Le immunodeficienze sono un gruppo di patologie caratterizzate da un'alterazione delle funzioni dell'immunità innata o adattativa. Si associano a una maggiore suscettibilità alle infezioni e alle patologie di tipo neoplastico. Si classificano in primarie e secondarie: le immunodeficienze primarie si associano a difetti genetici o anomalie cromosomiche che interessano lo sviluppo del sistema immunitario, mentre le immunodeficienze secondarie sono causate da fattori esterni o acquisiti, come farmaci, malattie infettive, neoplasie e altri disordini sistemici. (1)

Le immunodeficienze primarie (PID) sono un gruppo eterogeno di disordini caratterizzato da infezioni ricorrenti, autoimmunità, linfoproliferazione, malattie granulomatosi, atopia e malignità. (2)

Sono tipicamente considerate patologie rare, però vista la loro numerosità messe insieme non sono così rare. Hanno una prevalenza di 1-5 su 50.000 individui, anche se probabilmente la vera prevalenza è più alta dato che in molti casi la patologia non viene diagnosticata. (3) Grazie alla identificazione di nuove mutazioni risulta che l'incidenza possa essere di 1 su 1000 individui. (4)

Il punto di svolta nella storia di queste patologie è stato negli anni '50 con l'identificazione della agammaglobulinemia X-linked (XLA), poi associata al deficit della chinasi di Bruton. (5) In seguito, sono state identificate anche l'immunodeficienza combinata grave (SCID) e la malattia granulomatosa cronica (CGD). Negli ultimi anni il campo delle PID ha visto importanti sviluppi e grazie alle nuove tecnologie ad oggi si conoscono più di 240 PID, numero che è in continua crescita. (6)

Queste patologie sono causate da mutazioni germinali monogeniche che tipicamente si associano a *loss of expression*, *loss of function* (LOF) o *gain of function* (GOF) delle proteine codificate. L'applicazione della *next-generation sequencing* (NGS) ha permesso il riconoscimento di nuovi difetti genetici associati alle PID e ad oggi sono stati riconosciuti più di 320 geni coinvolti. (7)(8)

Le PID possono coinvolgere tutti gli aspetti della risposta immunitaria e vengono classificate in base al componente del sistema immunitario interessato e ai meccanismi del difetto. (9)

La *International Union of Immunological Societies Expert Committee* fornisce aggiornamenti sulle cause genetiche dei difetti e della disregolazione del sistema immunitario. Solo i geni con convincente evidenza di patogenicità sono inclusi tra le cause degli errori congeniti dell'immunità (IEI). In base all'ultimo aggiornamento, gli IEI sono classificati in 10 gruppi: Immunodeficienze combinate, Immunodeficienze combinate con caratteristiche sindromiche, Carenze prevalentemente anticorpali, Malattie di disregolazione immunitaria, Difetti congeniti dei fagociti, Difetti dell'immunità intrinseca e innata, Malattie autoinfiammatorie, Carenza del complemento, Difetti genetici che causano insufficienza del midollo osseo e Fenocopie di errori congeniti dell'immunità (Tabella I). (10)

*Tabella I: Classificazione aggiornata delle immunodeficienze primitive/errori innati dell'immunità* (10)

<b>Classificazione delle PID</b>	
1	Immunodeficienze combinate
2	Immunodeficienze combinate con caratteristiche sindromiche
3	Carenze prevalentemente anticorpali
4	Malattie di disregolazione immunitaria
5	Difetti congeniti dei fagociti
6	Difetti dell'immunità intrinseca e innata
7	Malattie autoinfiammatorie
8	Carenza del complemento
9	Difetti genetici che causano insufficienza del midollo osseo
10	Fenocopie di errori congeniti dell'immunità

Molte PID si presentano nell'infanzia; le forme che si presentano nell'età adulta sono caratterizzate da un decorso clinico meno evidente e questo spesso si associa a un ritardo diagnostico. La presenza di una storia familiare è fondamentale per la rapida diagnosi di PID in pazienti con manifestazioni ricorrenti. (11)

Clinicamente i pazienti sono più vulnerabili alle infezioni da parte di microrganismi patogeni o opportunistici; la localizzazione del sito di infezione e il tipo di microrganismo coinvolto possono aiutare ad arrivare alla diagnosi. (9)

Il ritardo diagnostico e la mancata diagnosi si associano a una mortalità più elevata a causa del trattamento non ottimale. (12)

Per aumentare la consapevolezza delle PID e per ridurre la morbilità e la mortalità associate, la *Jeffrey Modell Foundation* ha sviluppato i “*10 Warning Signs of Primary Immunodeficiency*”, ovvero dei segnali di allarme sia negli adulti che nei bambini che devono far sorgere il sospetto clinico di PID. Sono stati redatti per la prima volta nel 1993, successivamente sono stati rivisti fino alla versione del 2013 (Tabella II). (13)

Tabella II: 10 Warning Signs of Primary Immunodeficiency nei bambini e negli adulti (13)

<b>Segnali di allarme di immunodeficienza primaria nei bambini</b>	
1	Quattro o più otiti in 1 anno
2	Due o più sinusiti gravi in 1 anno
3	Due o più mesi di trattamento con antibiotici con scarsi risultati
4	Due o più polmoniti in 1 anno
5	Ritardo di crescita o peso sotto la norma
6	Ricorrenti ascessi profondi della cute o di organi interni
7	Persistente candidosi orale o cutanea
8	Necessità di antibiotici per via intravenosa per eradicare l'infezione
9	Due o più infezioni gravi (inclusa la setticemia)
10	Familiarità per PID
<b>Segnali di allarme di immunodeficienza primaria negli adulti</b>	
1	Due o più otiti in 1 anno
2	Due o più sinusiti gravi in 1 anno, in assenza di allergia
3	Almeno una polmonite all'anno per più di 1 anno
4	Diarrea cronica con perdita di peso
5	Infezioni virali ricorrenti (raffreddori, herpes, verruche, condilomi)
6	Ricorrente bisogno di antibiotici per via intravenosa per eradicare l'infezione
7	Ricorrenti ascessi profondi della cute o di organi interni
8	Persistente candidosi orale o cutanea
9	Infezioni da micobatteri atipici
10	Familiarità per PID

## **Immunodeficienze primarie anticorpali**

Il sottogruppo di PID più frequente è quello caratterizzato da carenze anticorpali e ne rappresenta più del 50% dei casi. Le immunodeficienze primarie anticorpali (PAD) sono dei disordini caratterizzati da difetti nello sviluppo o nella funzione dei linfociti B con conseguente alterata risposta ai patogeni, ricorrenti infezioni piogene e, in alcuni casi, disregolazione a più livelli del sistema immunitario. (14) Tra tutte le PAD, l'immunodeficienza comune variabile (CVID) è il disordine clinicamente più rilevante essendo la deficienza anticorpale sintomatica più frequentemente diagnosticata in età adulta. È seconda per frequenza al deficit di IgA, il quale ha una prevalenza di 1 su 223-1000 individui, ma quest'ultimo disordine è asintomatico nell'85-90% dei casi, per cui è meno rilevante dal punto di vista clinico. (15)

## **Immunodeficienza comune variabile**

### **Epidemiologia**

La CVID è il più frequente difetto di anticorpi sintomatico, si caratterizza per bassi livelli sierici di uno o più isotipi di immunoglobuline e ha una prevalenza di 1 su 20.000 individui. (9) Tale prevalenza aumenta negli USA, mentre tassi più bassi si osservano in Medio Oriente e in Africa, probabilmente anche per differenze nelle differenti disponibilità di appropriati metodi diagnostici, nell'assenza di registri e nella ridotta conoscenza delle immunodeficienze primarie.(16) In molti pazienti la diagnosi avviene tra i 20 e i 40 anni, anche se ci può essere un ritardo diagnostico di 6 o 8 anni dopo l'esordio dei primi sintomi. (17)(18)

L'età di esordio si associa a delle specifiche manifestazioni cliniche: per esempio, nei pazienti con esordio pediatrico sono più frequenti le otiti medie, mentre nei pazienti adulti sono più comuni le bronchiti. (19)

Una storia familiare si riscontra nel 10% dei pazienti. Una chiara ereditarietà autosomica dominante si può riscontrare in alcune famiglie, mentre l'ereditarietà

autosomica recessiva è più rara. Nella maggior parte dei casi, tuttavia, non può essere identificata una precisa causa genetica o molecolare. (9)

Dato che la CVID è considerata un gruppo eterogeneo di PID con varie manifestazioni cliniche e immunologiche, risulta essenziale una appropriata classificazione dei pazienti affetti. Le classificazioni dei pazienti CVID si basano sulle varie manifestazioni cliniche e sui dati immunologici.

## Patogenesi

### Difetti genetici e molecolari

L'identificazione delle cause monogeniche ha contribuito ad aumentare la conoscenza di questa condizione patologica.

In particolare, nella patogenesi della CVID sono implicati diversi membri della superfamiglia dei recettori del fattore di necrosi tumorale (TNF): si possono avere difetti di singoli geni che codificano per molecole di questo pathway, come TACI (*Transmembrane Activator and Calcium modulator and Cyclophilin ligand interactor*, codificato da TNFRSF13B), BAFF-R (*B cell Activating Factor Receptor*, codificato da TNFRSF13C), TWEAK (*TNF-like weak inducer of apoptosis*, codificato da TNFRSF12) e CD27 (codificato da TNFRSF7). Sebbene l'8-10% dei pazienti ha un difetto di TACI, queste mutazioni sono state descritte anche nella popolazione generale senza ipogammaglobulinemia. (20) (21) (22)

In aggiunta, sono stati descritti difetti del complesso CD19 e delle molecole costimolatorie, come i recettori di CD20 e IL-21. Inoltre, in un gruppo di pazienti CVID-like con associata anormalità dei linfociti T si sono riscontrati difetti di due recettori costimolatori e inibitori dei linfociti T, ICOS (*Inducible T Cell Costimulator*) e CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*). (23)

Anche i meccanismi epigenetici possono influenzare l'espressione genetica e hanno un ruolo importante nel normale programma di sviluppo delle cellule immunitarie. I meccanismi che appaiono coinvolti nella patogenesi di questa patologia includono: demetilazione del DNA, modificazione degli istoni, espressione di fattori di trascrizione e *noncoding* RNA (ncRNA). (24)

In particolare, la metilazione del DNA operata dalla DNA metiltransferasi reprime l'espressione genica, influenzando a diversi livelli lo sviluppo dei linfociti B. È stata osservata, inoltre, l'associazione tra l'ipermetilazione dei geni *BCL2L1* (*B-cell Lymphoma 2 Like 1*), *RPS6KB2* (*Ribosomal Protein S6 Kinase B2*), *TCF3* (*Transcription Factor 3*) e *KCNN4* (*Potassium Calcium-Activated Channel subfamily N member 4*) nei linfociti B e l'alterazione della demetilazione durante la transizione da cellule naïve a cellule della memoria. (25)

Altri fattori implicati nella regolazione epigenetica dei linfociti B sono i ncRNA, che svolgono funzioni regolatorie sui cambiamenti post trascrizionali dei mRNA e sulla trascrizione del DNA. (26)

### **Alterazioni delle cellule del sistema immunitario**

I pazienti con COVID possono presentare un'alterata funzione del sistema immunitario sia adattativo che innato (Tabella III). Tipicamente si ha un'alterata funzione dei linfociti B con ridotti livelli di plasmacellule e conseguente ridotta produzione di anticorpi. Anche se il numero totale di linfociti B può essere ridotto, in circa il 90% dei pazienti rientra nei limiti di norma. La carente produzione anticorpale nonostante la normale conta dei linfociti B suggerisce un difetto nella differenziazione dei linfociti B in cellule della memoria e plasmacellule. (27) (28)

Anche le anomalie dei linfociti T sono frequenti nei pazienti con COVID: infatti, si può rilevare la riduzione dei linfociti T CD4+ e in particolare dei linfociti T CD4+ naïve. (29) I pazienti con questo difetto più frequentemente sviluppano patologie autoimmunitarie e linfoproliferative, indicando una forte correlazione tra la quantità dei linfociti T CD4+ naïve e queste manifestazioni cliniche. (30)

In questi pazienti ci può anche essere l'interessamento di altre popolazioni di cellule immunitarie, come le cellule dendritiche con una conseguente riduzione del loro numero assoluto e/o un'anormalità della loro maturazione e funzione. (31) Inoltre, ci può essere una riduzione del numero assoluto di cellule NK CD3-CD16+. (32)

Tabella III: Alterazioni delle cellule del sistema immunitario nei pazienti con COVID (33)

Tipo di cellula	Sottotipo	Aumento/riduzione
Cellule B	Cellule B transizionali	Aumento
	Cellule B CD21low	Aumento
	Cellule B IgM della memoria (CD19+/CD27+)	Riduzione
	Cellule B class-switched memory (CD19+/CD27+/IgD-/IgM-)	Riduzione
	Plasmacellule	Riduzione
Cellule T	Cellule T naïve CD4+	Riduzione
	Cellule T effector memory CD4+	Aumento
	Cellule T central memory CD4+	Aumento
	Cellule T attivate CD4+	Aumento
	TH1/TH2	Tendenza verso TH1 o TH2
	Cellule TH17	Riduzione
	Cellule T helper follicolari (CD4+/CXCR5+)	Aumento/riduzione
	Cellule T regolatorie	Nessuna differenza tra i pazienti e i controlli sani/riduzione
	Cellule T naïve CD8+	Riduzione
	Cellule T effector memory CD8+	Aumento
	Cellule T central memory CD8+	Aumento
Cellule T attivate CD8+	Aumento	
Cellule T $\gamma\delta$ +	Aumento	
Cellule dendritiche	Cellule dendritiche	Riduzione
Monociti/macrofagi	Monociti IL12+	Aumento
Cellule linfoidi innate	Cellule IL17+CD127+Thy1+ Lin-	Riduzione
	Cellule Lin-CD127+ che producono IFN- $\gamma$ , IL17A e IL22	Aumento
	Cellule NK CD3-CD16+CD56+CD28+	Aumento
	Cellule NK CD3-CD16+CD56+CD28-	Riduzione
NKT	Cellule NKT	Nessuna differenza tra i pazienti e i controlli sani
iNKT	Cellule iNKT	Riduzione

Abbreviazioni: CD cluster of differentiation, Ig immunoglobuline, TH T helper, CXCR CXC chemokine receptor, IL interleuchina, IFN interferone, NK natural killer, NKT natural killer T, iNKT invariant natural killer T

## Diagnosi

Il sospetto clinico di CVID deve emergere in caso di ipogammaglobulinemia e infezioni ricorrenti.

I nuovi criteri ESID (*European Society of Immunodeficiencies*) del 2014 per la diagnosi di CVID (34) sono:

- Almeno 1 dei seguenti:
  - Aumentata suscettibilità alle infezioni;
  - Manifestazioni autoimmuni;
  - Malattia granulomatosa;
  - Linfoproliferazione policlonale non spiegata;
  - Familiare affetto da deficienza anticorpale;
- Marcata riduzione di IgG e marcata riduzione di IgA o riduzione dei livelli di IgM (rilevata almeno in due occasioni, con livelli <2 deviazioni standard ai riferimenti per età);
- Almeno 1 dei seguenti:
  - Ridotta risposta anticorpale ai vaccini (<70% dei livelli età-correlati);
  - Ridotti livelli di cellule B *switched memory*;
- Esclusione delle cause secondarie di ipogammaglobulinemia;
- Diagnosi dopo la quarta decade di vita (anche se i sintomi si possono presentare prima);
- Esclusione di profonda deficienza dei linfociti T definita con l'esclusione di almeno due delle seguenti:
  - CD4 cellule/ $\mu$ L: 2-6 anni <300, 6-12 anni <250, >12 anni <200;
  - % di CD4 naïve: 2-6 anni <25%, 6-16 anni <20%, >16 anni <10%;
  - Assente proliferazione di linfociti T.

La storia familiare e l'esame fisico sono utili per differenziare i pazienti con CVID da quelli con altri fattori di rischio predisponenti a infezioni ricorrenti. Per

confermare la diagnosi, vanno eseguiti esami di laboratorio integrati a test per la funzione immunitaria. (35)

La valutazione laboratoristica iniziale deve includere emocromo con formula, analisi dei sottotipi di linfociti e misurazione delle immunoglobuline sieriche. I pazienti con CVID hanno tipicamente bassi livelli di immunoglobuline nel siero e/o ridotta risposta alla vaccinazione. Vanno usati *cut-off* età-specifici quando si valuta l'*assay* delle immunoglobuline. Nei pazienti con basse immunoglobuline nel siero va esclusa la possibilità di una perdita di proteine, controllando anche i livelli di albumina sierica, che se bassi suggeriscono la perdita di proteine attraverso i reni o l'intestino. I titoli di anticorpi IgG in risposta ai vaccini antigenici possono essere misurati per determinare la specifica risposta anticorpale. (36)

Nella valutazione secondaria è fondamentale valutare la specifica risposta immunitaria. In caso di anomalità della immunità umorale vanno eseguiti ulteriori test, tra cui l'analisi della sottoclasse di IgG e la citometria a flusso per classificare i sottotipi di linfociti B.

La valutazione terziaria consiste in test genetici, sia come test molecolari che citogenetici. Il microarray cromosomiale è utile per rilevare *copy number variants*. (37)

Il *gold standard* dello screening delle mutazioni è il sequenziamento del DNA con tecniche di prima generazione. Questo metodo è molto accurato e può rilevare mutazioni puntiformi, delezioni e duplicazioni. Il sequenziamento Sanger si effettua in caso di diagnosi in circostanze in cui un singolo gene o un piccolo set di geni è molto probabilmente la causa della patologia. È usato per valutare i familiari di un paziente affetto da mutazioni note. (38)

L'indagine genetica può aiutare a migliorare la prognosi, guidare il follow-up e assicurare un adeguato *counseling* genetico familiare.

### **Classificazione della immunodeficienza comune variabile**

L'EUROclass classifica i pazienti in base alla percentuale di linfociti B CD19 (Figura 1 e figura 2). I pazienti con i linfociti B CD19 <1% fanno parte del gruppo B- e quelli con una percentuale più alta fanno parte del gruppo B+. Il gruppo B+ è diviso in

smB- con linfociti B *memory switched* <2% e smB+ se queste cellule sono >2%. In aggiunta, questa classificazione distingue i pazienti in base all'espansione dei linfociti B CD21low: se la percentuale è >10% i pazienti rientrano nel gruppo CD21low se, invece, è inferiore, i pazienti rientrano nel gruppo CD21norm. La significativa riduzione dei linfociti B *memory switched* è associata a una riduzione delle IgG e delle IgA nel siero. Il numero assoluto di linfociti B della zona marginale e i numeri assoluti e relativi delle plasmacellule sono severamente ridotti nei pazienti del gruppo smB-.

Questa classificazione è la più adatta a predire le complicanze come malattie granulomatose, linfadenopatie e splenomegalia. Una severa riduzione dei linfociti B *memory switched* è associata a un rischio più alto di splenomegalia e malattie granulomatose. Nello specifico la splenomegalia si associa a una espansione dei linfociti B CD21low, mentre la linfadenopatia è associata all'espansione dei linfociti B transizionali. (39)

Figura 1: Classificazione EUROclass A (39)

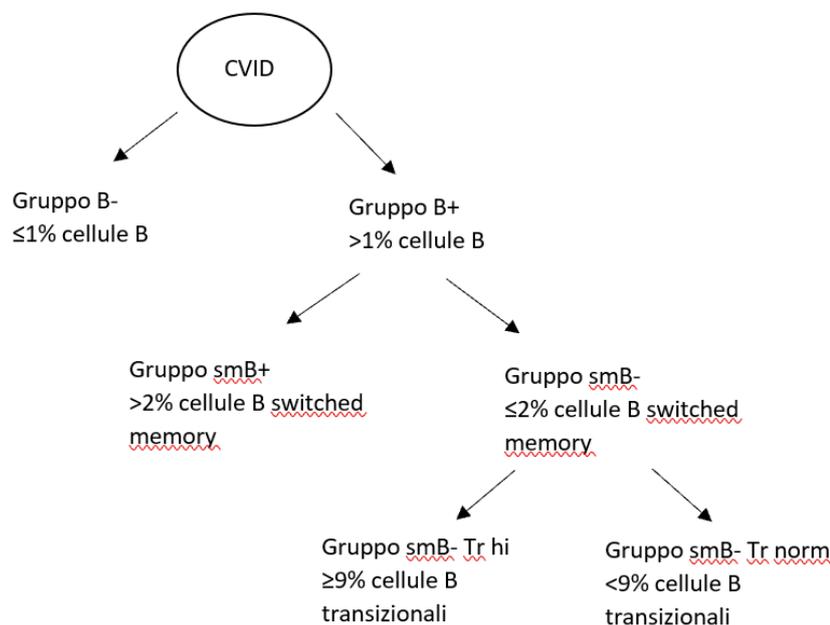
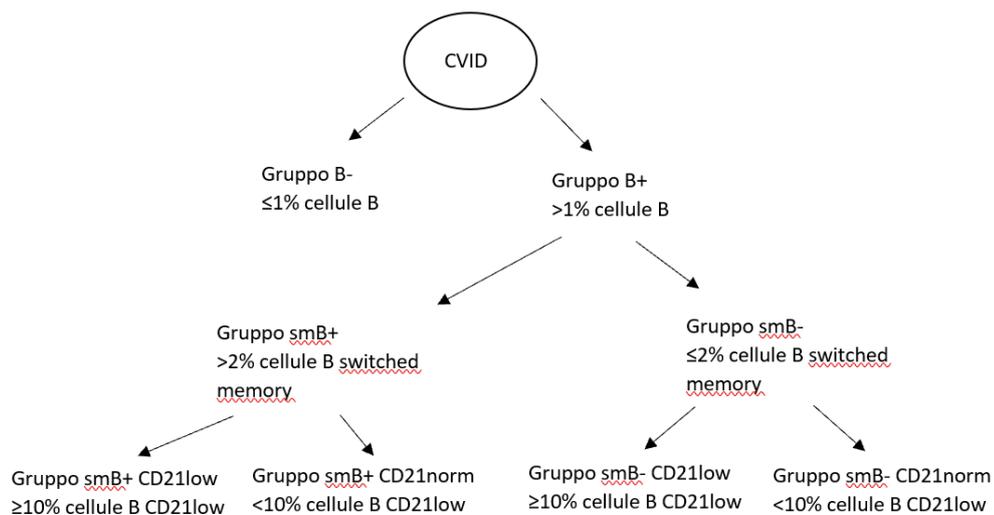


Figura 2: Classificazione EUROclass B (39)



A causa della eterogeneità clinica che caratterizza la CVID, è importante anche la classificazione di questi pazienti in distinti fenotipi clinici, creando gruppi omogenei che permettano una valutazione anche prognostica di questi pazienti. Inizialmente sono state identificate 5 diverse categorie cliniche: assenza di complicazioni, presenza di autoimmunità, infiltrazione linfocitica policlonale, enteropatia e malignità linfoidi. (40)

In seguito, questa classificazione è stata rivista suddividendo i pazienti in sole 4 categorie: assenza di complicanze correlate alla malattia (precedentemente definito come “solo infezioni”), presenza di citopenia (trombocitopenia, anemia emolitica autoimmune, neutropenia), linfoproliferazione policlonale (granuloma, LIP, linfadenopatia persistente non spiegata) ed enteropatia persistente non spiegata (Tabella IV). I fenotipi risultano essere correlati alla prognosi. (41)

La classificazione però presenta dei limiti in quanto nella pratica clinica si è rilevato che spesso i pazienti possono presentare diverse complicanze non infettive contemporaneamente. (42)

Tabella IV: Classificazione di Chapel in base ai fenotipi clinici originale e rivista (41)

FENOTIPI CLINICI ORIGINALI	FENOTIPI CLINICI RIVISTI
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Assenza di complicanze associate alla malattia (“solo infezioni”)</li> <li>- Autoimmunità (incluse malattie autoimmuni organo-specifiche e citopenie)</li> <li>- Linfoproliferazione policlonale (incluse epatomegalia, linfadenopatia persistente non spiegata, polmonite linfoide interstiziale, granulomi non infettivi)</li> <li>- Enteropatia (non spiegata, escluse le enteropatie infettive, autoimmuni e da sensibilità al glutine)</li> <li>- Neoplasie linfoidi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Assenza di complicanze associate alla malattia (“solo infezioni”)</li> <li>- Citopenie autoimmuni</li> <li>- Linfoproliferazione policlonale (incluse linfadenopatia persistente non spiegata, polmonite linfoide interstiziale, granuloma non infettivo)</li> <li>- Enteropatia (non spiegata, escluse enteropatie infettive, autoimmuni e da sensibilità al glutine)</li> </ul>

## Manifestazioni cliniche principali

Le manifestazioni cliniche nei pazienti con CVID possono essere molto eterogenee. Le più frequenti sono quelle infettive, mentre le complicanze non infettive più tipiche sono problematiche autoimmunitarie, malattie linfoproliferative, enteropatie, asma e diatesi allergica.

Le manifestazioni infettive coinvolgono principalmente l'apparato respiratorio e il tratto gastrointestinale. (43) I pazienti che presentano solo complicanze infettive hanno solitamente un quadro clinico più indolente e una sopravvivenza più lunga. (44)

Le infezioni a carico delle alte e basse vie respiratorie sono la complicanza più comune e contribuiscono alla morbilità e mortalità di questi pazienti. I batteri che vengono individuati più frequentemente in questa sede sono *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria Meningitidis* e *Stafilococco spp.* Le infezioni possono anche essere causate da patogeni virali come *Rhinovirus*, *Herpes Zoster* e *Mycoplasma pneumoniae*. (45) Le infezioni opportunistiche date da *Pneumocystis jiroveci* e *Citomegalovirus*

possono essere trovate nei pazienti con una concomitante bassa conta di linfociti T CD4-. (46)

Le bronchiectasie e le malattie interstiziali polmonari sono le principali complicanze polmonari, secondarie ad infezioni polmonari ricorrenti e gravi. (47) Inoltre, in circa metà dei pazienti si possono trovare sinusiti ricorrenti, bronchiti e otiti medie. La terapia con supplementazione di immunoglobuline può ridurre la frequenza delle infezioni, ma la suscettibilità rimane una problematica. (45)

Le manifestazioni autoimmuni sono comuni nei pazienti con immunodeficienza primaria (10-30% dei casi). (48) Le citopenie autoimmuni, come porpora trombocitopenica idiopatica, anemia emolitica autoimmune e neutropenia autoimmune, sono le manifestazioni più comuni e potenzialmente gravi (49); in questi pazienti si possono presentare anche disordini reumatologici. (50)

Molti fattori che influenzano l'induzione della tolleranza dei linfociti T possono portare ad autoimmunità, come ridotto numero dei linfociti T e dei linfociti T regolatori e alterazioni della produzione delle citochine. (51) È importante sottolineare che, nonostante la ridotta produzione di citochine, in alcuni pazienti con CVID è stata riportata la presenza di autoanticorpi. (52)

I pazienti con CVID hanno una aumentata incidenza di cancro in tutti i siti rispetto alla popolazione generale, in particolare di linfoma non-Hodgkin e di tumore gastrico. I pazienti che diventano oncologici hanno una sopravvivenza più breve rispetto agli altri. (53)

In caso di linfoproliferazione policlonale si ha un aumentato rischio di malignità linfoidi, con un rischio complessivo del 2-10%. I pazienti sviluppano linfomi che più frequentemente hanno origine dai linfociti B e spesso si presentano in siti extra nodali. (54)

I pazienti con CVID e deficienza di IgA sono predisposti a sviluppare condizioni atopiche, probabilmente a causa del difetto della immunità a livello mucosale e della disregolazione immunitaria. I disordini allergici includono asma, riniti allergiche, dermatiti atopiche, eczema allergico, allergie alimentari, orticaria, congiuntiviti allergiche e allergie ai farmaci, e si presentano dal 12% al 42% dei casi. (55) (56)

È meno frequente il coinvolgimento del sistema nervoso ed epatico. Il sistema nervoso può essere interessato da patologie infettive, mieliti autoimmuni e infiammatorie, alterazioni neuroendocrine o deficienze nutrizionali (vitamine E e B12). (57) Fino al 10% dei pazienti può avere significative alterazioni epatiche. Le manifestazioni più comuni sono colangite biliare primitiva, malattie granulomatose epatiche e ipertensione portale idiopatica non cirrotica. (58)

## **Immunodeficienza comune variabile e coinvolgimento gastrointestinale**

L'apparato gastrointestinale è l'organo linfoide più grande del corpo umano. Le alterazioni dei meccanismi regolatori dell'equilibrio tra immunità attiva e tolleranza possono portare a infiammazione e danno della mucosa e a malattie gastrointestinali. Non sorprende, quindi, che diverse forme di problematiche infiammatorie intestinali siano presenti nel 5-50% nei pazienti con immunodeficienza. (17)

Le malattie gastrointestinali che si presentano in caso di PID sono complesse e associate a morbidità e mortalità significative. Nella maggior parte dei casi il trattamento con sostituzione di immunoglobuline e antibiotici non previene il loro sviluppo. (18)

Nei pazienti con CVID la frequenza di malattie gastrointestinali è del 9-20%. (54) Le manifestazioni cliniche più frequenti sono la diarrea, la perdita di peso e la malnutrizione. Queste ultime possono essere talmente gravi da richiedere la nutrizione parenterale. (59) La terapia con immunoglobuline ha pochi effetti sulle malattie non-infettive, per cui dopo aver escluso le infezioni, i pazienti devono essere trattati con steroidi orali e altri immunosoppressori.

Le manifestazioni gastrointestinali si possono classificare in 4 tipo: infettive, infiammatorie, autoimmunitarie e tumorali. Alcuni quadri possono mimare altre forme di malattia come malattia celiaca, malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) e anemia perniziosa, ma possono presentare caratteristiche istologiche differenti da queste e soprattutto difficilmente rispondono alle terapie convenzionali usate (per es. dieta agglutinata per la malattia celiaca). (17)

## Infezioni gastrointestinali

I pazienti con CVID presentano frequentemente infezioni del tratto gastrointestinale, che si possono manifestare con i classici sintomi delle gastroenteriti acute, per esempio diarrea, nausea, vomito, febbre e dolore addominale. (47) Le gastroenteriti possono essere causate da batteri o parassiti (Tabella V), tra cui i più comuni sono: Giardia lamblia, Dientamoeba fragilis, Campylobacter, Salmonella, Yersinia, Clostridium difficile ed Escherichia coli. L'infezione virale più comune riscontrata nei pazienti con CVID è data dal Norovirus, ma si possono trovare anche pazienti con infezione da Citomegalovirus e Herpes simplex virus. (60) In caso di infezione dovuta a Microsporidia o a Cryptosporidia deve sorgere il sospetto di una riduzione dei linfociti T di grado maggiore. (59)

A livello gastrico si può osservare anche l'infezione da parte dell'Helicobacter pylori, che presenta un ruolo fondamentale nello sviluppo di gastrite, displasia e adenocarcinoma gastrico. (61) La prevalenza di questa infezione nei pazienti con CVID è paragonabile a quella della popolazione generale (62) e rappresenta il 15-50% delle gastriti. (62) (63) L'eradicazione, tuttavia, nei pazienti con CVID sembra non risolvere la flogosi gastrica, per cui a causa del rischio aumentato di adenocarcinoma è fondamentale la sorveglianza endoscopica. (64)

Le infezioni del tratto gastrointestinale possono causare danni alla mucosa e associarsi ad altre patologie GI. L'infezione da Giardia lamblia, che è il più comune agente infettivo in questi pazienti, spesso si manifesta con iperplasia nodulare linfoide ed ad atrofia dei villi del piccolo intestino. (65) Mentre l'infezione cronica da norovirus, che è frequente nei pazienti con immunodeficienza, si può associare alla enteropatia celiachia-like con atrofia dei villi intestinali e conseguente malassorbimento. (66)

Le infezioni gastrointestinali sono frequenti nei pazienti con carenti livelli sierici di IgA, tuttavia, la terapia con integrazione di immunoglobuline non porta a un miglioramento dei sintomi gastrointestinali. (60)

Nei pazienti con CVID a causa della mancanza di IgA e della possibile mancanza di IgG e IgM nel lume intestinale si può anche presentare una sovraccrescita batterica

intestinale. Questa diagnosi è, però, difficile dato che i pazienti con CVID spesso sono esposti ad antibiotici in maniera cronica o a intermittenza. Comunque, per la conferma diagnostica è richiesto il *breath test* all'idrogeno e l'eventuale terapia si basa sull'utilizzo di antibiotici ad ampio spettro non assorbibili. (59)

Tabella V: Patogeni comunemente identificati nel tratto GI dei pazienti affetti da CVID

Batteri	Virus	Parassiti
Helicobacter pylori, Campylobacter, Salmonella, Yersinia, Clostridium difficile, Escherichia coli	Norovirus, Citomegalovirus, Herpes Simplex virus	Giardia lamblia, Dientamoeba fragilis, Blastocystis hominis, Cryptosporidia

## Patologie gastrointestinali benigne

Oltre alle infezioni, i pazienti con CVID possono presentare varie patologie infiammatorie e autoimmuni coinvolgenti qualunque segmento del tratto gastrointestinale (Tabella VI). In generale, il coinvolgimento dell'esofago è poco comune, anche se sono riportati casi di malattia da reflusso gastroesofageo (MRGE). (63)

Il coinvolgimento gastrico, invece, è molto frequente. Le principali manifestazioni sono la gastrite cronica e la gastrite atrofica, che possono essere associate o meno all'infezione da *Helicobacter pylori*. Si possono trovare anche polipi benigni e proliferazione linfatica benigna. (63) A causa della maggior frequenza di patologie autoimmuni, nei pazienti con CVID è possibile il riscontro di gastrite autoimmune che presenta una prevalenza del 3.1%. (67)

A livello del duodeno e del digiuno si può avere una enteropatia simile a quella tipica della malattia celiaca ("celiachia-like"), che si caratterizza per appiattimento dei villi duodenali e infiltrato flogistico, con conseguente malassorbimento che in alcuni casi è talmente grave da rendere necessaria la nutrizione parenterale (59) con peggioramento significativo anche della prognosi dei pazienti. (68)

L'interessamento flogistico può coinvolgere anche il resto del tenue e il colon, simulando le MICI, come la malattia di Crohn e la colite ulcerosa, o altre forme meno frequenti come la colite collagene o quella linfocitica. (63) Nei pazienti con

immunodeficienza la presenza di flogosi intestinale è dovuta all'interessamento del sistema immunitario mucosale, che ha un ruolo fondamentale nell'induzione della tolleranza, la sua alterazione causa, quindi, patologie GI. (17) Dal punto di vista clinico, i quadri possono essere molto variabili, fino però ad arrivare a forme gravi e invalidanti, con necessità di terapie immunosoppressive o con farmaci biologici.

In caso di sintomi intestinali, i pazienti con CVID devono essere sottoposti ad esami endoscopici ed istologici. L'indicazione più frequente all'esecuzione di esami endoscopici è la diarrea cronica, seguita da anemia e dolore addominale. (69) La calprotectina fecale può essere usata come strumento di screening per valutare la presenza di infiammazione GI prima della endoscopia dato che i suoi livelli aumentano in caso di infiammazione intestinale acuta (63), anche se in questo setting particolare di pazienti non ne sono state documentate sensibilità e specificità.

I quadri endoscopici possono essere variegati sia a livello gastro-duodenale che colico, ma di grande aiuto è l'esecuzione dell'esame istologico, anche a fronte di mucosa macroscopicamente normale.

A livello istologico si deve descrivere la presenza di: plasmacellule, infiammazione acuta e/o cronica, infiltrato eosinofilo, atrofia, NLH, aumento dei linfociti intraepiteliali, distorsione della architettura della mucosa, deposito di collagene subepiteliale, granulomi e ovviamente eventuali lesioni pre-cancerose o tumorali. (70)

Nei pazienti con CVID tipicamente mancano le plasmacellule nella lamina propria, anche in caso di importante flogosi intestinale. L'assenza di plasmacellule nelle biopsie GI deve far porre il sospetto clinico di CVID, tuttavia, questa patologia non può essere esclusa se sono presenti; inoltre, l'assenza di plasmacellule si può presentare anche in caso di altre immunodeficienze primarie. (60)

I quadri istologici intestinali presenti nei pazienti con CVID possono essere categorizzati in tre grandi categorie: celiachia-like, MICI-like e iperplasia nodulare linfoide. (71)

L'enteropatia celiachia-like è definita dalla evidenza istologica di tutte le caratteristiche tipiche della celiachia (infiltrato CD3+ intraepiteliale con vari gradi

di atrofia dei villi) e spesso di associa anche a sintomi intestinali e segni di malassorbimento o malnutrizione. (40) Tuttavia, a differenza della celiachia vera e propria, l'enteropatia celiachia-like associata a CVID non risponde nella maggior parte dei casi alla dieta aglutinata, non presenta l'HLA caratteristico e ovviamente spesso non si accompagna alla sierologia celiachia-specifica, dato il deficit anticorpale di base. (72)

La forma MICI-like si presenta con caratteristiche cliniche, endoscopiche ed istologiche tipiche delle MICI più comuni (malattia di Crohn o rettocolite ulcerosa) o di forme più rare come le coliti microscopiche. La principale differenza istologica tra l'enteropatia MICI-like e le MICI vere e proprie è la frequente e pressoché totale assenza delle plasmacellule nei pazienti con CVID. (47) (73)

L'iperplasia nodulare linfoide è caratterizzata da un accumulo di noduli di almeno 1 mm di diametro con un centro germinale. La NLH è frequente nei pazienti immunocompromessi, l'eziologia non è chiara. (74)

*Tabella VI. Patologie gastrointestinali benigne associate a CVID*

Sede	Patologia	Prevalenza
Esofago	MRGE	4%(63)
Stomaco	Gastrite Hp+	4.4% (63)
	Gastrite Hp-	23.3% (63)
Intestino	Enteropatia celiachia-like	8.8% (63) – 13.6% (71)
	MICI-like	4.5% (71) - 8% (63)
	Iperplasia nodulare linfoide	34.3% (71)
	Colite microscopica	2.3% (71) - 9% (63)

Abbreviazioni: MRGE malattia da reflusso gastroesofageo, Hp Helicobacter pylori, MICI malattia infiammatoria cronica intestinale

## **Tumore gastrico e infezione da Helicobacter pylori nei pazienti con CVID**

I pazienti con CVID hanno un rischio 10 volte superiore alla popolazione generale di sviluppare il tumore dello stomaco. (75) Gli step della storia naturale istologica di questa neoplasia prevedono: infiammazione cronica attiva, atrofia multifocale, metaplasia intestinale e displasia.

Nei pazienti con CVID il cancro gastrico è il secondo tumore per frequenza, preceduto solamente dal linfoma non-Hodgkin, e tipicamente si sviluppa 15 anni prima rispetto alla popolazione generale. (53)

Spesso la diagnosi viene fatta quando il paziente è già in stadio oncologico avanzato, per cui risulta fondamentale lo screening. Infatti, in questi pazienti l'endoscopia del tratto GI superiore andrebbe sempre eseguita al momento della diagnosi e andrebbe ripetuta ogni 24 mesi in caso di istologia normale, ogni 12 mesi in caso di atrofia gastrica o metaplasia intestinale e ogni 6 mesi in caso di lesioni displastiche. (53)

L'infezione da *Helicobacter pylori* (Hp) è fondamentale nella patogenesi e nell'esordio precoce del cancro gastrico, in quanto è direttamente correlata a gastrite, metaplasia intestinale e cancro gastrico. (76) L'Hp è un cancerogeno di gruppo 1 secondo la classificazione WHO e causa lo sviluppo di una infiammazione locale persistente che impatta sulla funzione delle cellule epiteliali gastriche e ne facilita la carcinogenesi. (77)

Nonostante l'aumentata suscettibilità alle infezioni nei pazienti con CVID, non sono state descritte significative differenze tra la prevalenza dell'infezione da Hp nei pazienti con CVID rispetto agli individui sani. Una possibile spiegazione è la comune prescrizione di antibiotici sia profilattici che terapeutici in questo gruppo di pazienti, che potrebbe comportare l'eradicazione dell'infezione prima della diagnosi. (78) Dato il ruolo di questa infezione nello sviluppo di displasia e cancro gastrico, sono particolarmente importanti lo screening e l'eradicazione dell'Hp. (79)

La flogosi gastrica persistente si associa a un aumentato rischio di cancro gastrico. La presenza di gastrite a livello istologico si può quantificare tramite la classificazione OLGA (*Operative Link on Gastritis Assessment*) che valuta la presenza, l'estensione e la topografia dei cambiamenti atrofici della mucosa gastrica. (80) L'atrofia della mucosa viene valutata con il sistema Sydney e viene classificata in assente (score 0), lieve (score 1), moderata (score 2) o grave (score 3). In base agli score ottenuti a livello del corpo e dell'antro si ottiene lo stadio OLGA, va da 0 a IV (Tabella VII). I pazienti con uno stadio III o IV sono considerati ad alto rischio di cancro allo stomaco. (81)

Tabella VII: Classificazione OLGA (81)

		Corpo			
Antro	Score della atrofia	Assenza di atrofia (score 0)	Atrofia lieve (score 1)	Atrofia moderata (score 2)	Atrofia grave (score 3)
	Assenza di atrofia (score 0)	Stadio 0	Stadio I	Stadio II	Stadio II
	Atrofia lieve (score 1)	Stadio I	Stadio I	Stadio II	Stadio III
	Atrofia moderata (score 2)	Stadio II	Stadio II	Stadio III	Stadio IV
	Atrofia grave (score 3)	Stadio III	Stadio III	Stadio IV	Stadio IV

## GastroPanel®

Il GastroPanel® è un test non invasivo che permette la valutazione della presenza e la localizzazione della atrofia gastrica, attraverso il dosaggio di un pannello di biomarcatori sierici composto da pepsinogeno I, pepsinogeno II, gastrina 17 e anticorpi anti-Hp. (80)

I pepsinogeni sono delle proteasi secrete principalmente nel lume gastrico, ma una minima porzione diffonde nel circolo sanguigno e può essere misurata. Il pepsinogeno I è prodotto principalmente dalle cellule gastriche del corpo dello stomaco. In caso di atrofia della mucosa del corpo dello stomaco si ha una riduzione dei suoi livelli, mentre in caso di infiammazione in assenza di atrofia si ha un aumento dei suoi valori nel sangue. Il pepsinogeno II è prodotto principalmente dalle ghiandole ossintiche della mucosa dello stomaco che si trovano a livello dell'antro dello stomaco e del duodeno. Anche la sua concentrazione plasmatica aumenta in caso di infiammazione e si riduce in caso di atrofia. Il PGI e il PGII risultano aumentati nei pazienti con gastrite Hp positiva. In caso di atrofia della mucosa del corpo dello stomaco si ha un calo maggiore del PGI rispetto al PGII per cui si riduce anche il rapporto PGI/PGII. (82)

La gastrina 17 è prodotta esclusivamente a livello dell'antro dello stomaco e del duodeno. Stimola le cellule enterocromaffini a rilasciare istamina nella

circolazione sanguigna, la quale lega il recettore sulla superficie delle cellule parietali e stimola la secrezione di acido cloridrico. La concentrazione di gastrina 17 nel sangue si riduce per *feedback* negativo quando l'acidità del contenuto gastrico aumenta oppure in caso di atrofia della mucosa dell'antro dello stomaco. (83) L'assunzione di PPI, invece, riducendo la secrezione di acido cloridrico da parte delle cellule parietali, provoca per *feedback* positivo un aumento della secrezione di gastrina 17. (84)

Gli anticorpi IgG anti-Hp sono prodotti in caso di infezione da parte di questo patogeno. La loro presenza indica un'infezione in corso o una precedente esposizione, e alti livelli di anticorpi possono persistere nel plasma anche per mesi dopo l'eradicazione.

A seconda del risultato ottenuto al GastroPanel® si possono distinguere diversi quadri clinico-patologici che definiscono la funzionalità gastrica e indicano la possibile presenza di atrofia: mucosa normale, ipercloridria, ipocloridria secondaria a possibile uso di PPI, infezione da Hp senza atrofia, gastrite atrofica del fondo, gastrite atrofica dell'antro o pangastrite atrofica associate o meno all'infezione da Hp. (83)

Attualmente il GastroPanel® viene effettuato in caso di sintomi intestinali, quali dispepsia, epigastralgia, digestione difficoltosa. È stato, inoltre, proposto e valutato l'uso del GastroPanel® come strumento per lo screening di condizioni pre-neoplastiche, come la gastrite atrofica, nei soggetti ad alto rischio di tumore allo stomaco. (85) Ad oggi, comunque, la gastroscopia rimane l'esame cardine per rilevare lesioni precancerose o cancerose in stadi precoci e potenzialmente curabili.

Dati sull'utilizzo del GastroPanel® nella caratterizzazione funzionale gastrica dei pazienti con CVID al momento sono molto limitati e ristretti ad un numero limitato di pazienti.

## **Cenni di terapia della CVID**

Il trattamento principale della CVID si basa sulla correzione dell'ipogammaglobulinemia attraverso la somministrazione di immunoglobuline

per via endovenosa o sottocutanea. Questa terapia riduce la frequenza delle infezioni ricorrenti e gravi, e riduce di conseguenza la necessità di ospedalizzazione, migliorando la qualità di vita dei pazienti. (86) La via sottocutanea viene preferita per la ridotta incidenza di eventi avversi e la maggiore praticità di somministrazione, oltre che per la capacità di mantenere livelli di immunoglobuline più costanti. (87)

In caso di gravidanza e comorbidità che comportano un'ulteriore perdita di proteine, è richiesto un aggiustamento della dose. Sono raccomandati vaccini con antigeni inattivati e ovviamente in caso di infezioni bisogna trattare i pazienti con le terapie antimicrobiche specifiche. (86)

In caso di mutazione di CTLA-4 e LRBA si possono usare farmaci immunosoppressivi Abatacept (inibitore di CTLA-4), Infliximab (anti-TNF) e Rituximab (anti-CD20), mentre in caso di difetti del *signaling* di PI3K si possono usare anche gli inibitori di mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*). (88)

Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche è un approccio potenzialmente curativo applicato in alcuni pazienti con COVID. Attualmente è consigliato solo in casi estremamente gravi, associati a difetti dell'immunità cellulare e autoimmunità resistenti alla terapia. (89)

## **Obiettivi dello studio**

I pazienti con CVID spesso soffrono di complicanze gastrointestinali che li portano ad eseguire nel corso della loro vita numerosi esami endoscopici.

L'ipotesi su cui si basa questo studio è che alcuni test non invasivi possano dare informazioni riguardo al quadro gastrointestinale dei pazienti con CVID e possano associarsi a quanto osservato a livello endoscopico ed istologico.

L'obiettivo principale dello studio è, quindi, valutare con test non invasivi la funzionalità gastrica e la flogosi gastrointestinale in una popolazione di pazienti con diagnosi di CVID già caratterizzati endoscopicamente.

Gli obiettivi secondari dello studio includono la descrizione del quadro sintomatologico addominale, la ricerca di eventuali quadri infettivi gastrointestinali e la valutazione della qualità della vita nei pazienti con CVID e sintomi gastrointestinali.

## Materiali e metodi

### Disegno e popolazione dello studio

Il disegno dello studio è in parte retrospettivo e in parte osservazionale trasversale. In particolare, è stata eseguita una valutazione retrospettiva dei dati anamnestici, endoscopici ed istologici, mentre i dati sulla sintomatologia clinica e sugli esami di laboratorio sono stati raccolti in modo trasversale.

Sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti adulti (età  $\geq 17$  anni), con diagnosi certa di CVID, secondo i nuovi criteri diagnostici ESID elencati in precedenza, seguiti presso l'ambulatorio di Immunologia dell'Ospedale Ca' Foncello di Treviso e con una adeguata caratterizzazione anamnestica ed endoscopica gastrointestinale.

Sono stati esclusi i pazienti che:

- Non hanno una diagnosi certa di CVID;
- Non hanno effettuato almeno una esofagogastroduodenoscopia (EGDS);
- Non hanno effettuato almeno una colonscopia;
- Hanno eseguito sia EGDS che colonscopia ma i cui referti non sono disponibili.

A tutti i pazienti che soddisfacevano i criteri di inclusione/esclusione dello studio è stata offerta la possibilità di accedere al Servizio di Attività Diurna Area Medica dell'Ospedale Ca' Foncello di Treviso per eseguire i test non invasivi previsti dal protocollo oppure di eseguire questi esami nel centro prelievi dell'Ospedale Universitario di Padova. I pazienti sono stati contattati telefonicamente per ricevere le informazioni riguardo alla modalità di svolgimento dello studio e sono stati liberi di accettare o rifiutare le prestazioni proposte. Il periodo di arruolamento è stato settembre-novembre 2022.

La raccolta dei dati demografici, dell'immunofenotipo e delle eventuali patologie gastrointestinali già note è stata effettuata attraverso la revisione delle cartelle cliniche ambulatoriali, sia cartacee che informatizzate. I dati raccolti includono:

- Età alla diagnosi di CVID;
- Sesso;

- Abitudini tabagiche;
- Durata della malattia espressa in anni;
- Comorbidità;
- Pregressa chirurgia addominale;
- Immunofenotipo secondo EUROclass;
- Classificazione di Chapel;
- Deficit di IgA alla diagnosi (parziale o completo);
- Terapia farmacologica in corso all'ultima valutazione;
- Terapia con PPI pregressa;
- Eventuale nota diagnosi di patologia gastrointestinale;
- Eventuale diagnosi di tumore gastrointestinale;
- Precedenti esami endoscopici fatti, in particolare l'ultima EGDS e l'ultima colonscopia disponibili con i relativi esami istologici.

### **Dati endoscopici e istologici**

Sono stati raccolti retrospettivamente i dati relativi agli esami endoscopici del tratto GI eseguiti in tutti i pazienti che rientravano nei criteri di inclusione dello studio. I pazienti erano stati sottoposti a questi esami a causa dei sintomi, di anomalità agli esami di laboratorio o per screening.

Dato che al centro di Immunologia dell'Ospedale Ca' Foncello di Treviso afferiscono pazienti da diverse aree geografiche dell'Italia, in particolare del Veneto, questi esami endoscopici sono stati eseguiti in varie sedi.

Gli esami endoscopici ed istologici presi in considerazione per l'analisi nel nostro studio sono stati quelli più recentemente eseguiti. In particolare, i dati raccolti includono:

- Data di esecuzione dell'ultima EGDS disponibile;
- Alterazioni endoscopiche gastriche:
  - Iperemia;
  - Atrofia;
  - Erosioni;
  - Ulcere;

- Polipi;
- Alterazioni endoscopiche duodenali;
- Alterazioni istologiche gastriche:
  - Gastrite;
  - Infiltrato linfocitario;
  - Atrofia;
  - Displasia;
  - Metaplasia;
  - Punteggio OLGA;
- Alterazioni istologiche duodenali:
  - Infiltrato flogistico;
  - Appiattimento dei villi;
- Data di esecuzione dell'ultima colonscopia disponibile;
- Alterazioni endoscopiche alla colonscopia:
  - Polipi;
  - Ulcere;
  - Iperemia;
- Alterazioni istologiche alla colonscopia:
  - Infiltrato linfocitario;
  - Displasia;
  - Granulomi.

## **Dati clinici**

Per i pazienti che hanno accettato di partecipare a questo protocollo, è stato elaborato un questionario (Figura 3) per indagare la presenza e la frequenza settimanale e giornaliera negli ultimi tre mesi dei principali sintomi di interessamento esofageo, gastrico e intestinale.

Inoltre, i pazienti hanno compilato un questionario per la valutazione della qualità della vita, specifico per i pazienti con CVID (CVID-QoL, Figura 4). Si tratta di un questionario di autovalutazione malattia-specifico che contiene 32 voci che valutano la sfera emotiva, la sfera relazionale e i sintomi gastrointestinali e cutanei

dei pazienti. In base alla cadenza, a ciascuna voce è associato un punteggio da 0 a 4 (mai=0, raramente=1, a volte=2, spesso=3, sempre=4); i punteggi più alti esprimono un maggiore livello di disabilità. (90)

Figura 3: Questionario sui sintomi GI

Sintomo		n/die	gg/settimana
Febbre	<input type="checkbox"/>		
Diarrea	<input type="checkbox"/>		
Dolore addominale	<input type="checkbox"/>		
Mancanza di appetito	<input type="checkbox"/>		
Ematochezia/rettorragia	<input type="checkbox"/>		
Vomito	<input type="checkbox"/>		
Nausea	<input type="checkbox"/>		
Aftosi orale	<input type="checkbox"/>		
Meteorismo	<input type="checkbox"/>		
Bruciore retrosternale	<input type="checkbox"/>		
Frequente eruttazione	<input type="checkbox"/>		
Incontinenza fecale	<input type="checkbox"/>		
Dolore/bruciore anale	<input type="checkbox"/>		
Digestione lenta	<input type="checkbox"/>		
Stipsi	<input type="checkbox"/>		
Glossite	<input type="checkbox"/>		
Altro (specificare):	<input type="checkbox"/>		
Altro (specificare):	<input type="checkbox"/>		

Figura 4: Questionario CVID\_QoL

Questionario CVID_QoL
-----------------------

COGNOME:

CODICE PAZIENTE:

NOME:

DATA:

**Per favore, metta una crocetta sul ciascuna delle seguenti affermazioni che meglio descrive la sua condizione, considerando il suo stato di salute e la sua qualità di vita**

**A causa della mia malattia, negli ultimi tre mesi:**

		Mai	Raramente	A volte	Spesso	Sempre
1	Mi sono sentito triste	<input type="checkbox"/>				
2	Ho dovuto modificare la mia alimentazione	<input type="checkbox"/>				
3	Ho provato rabbia	<input type="checkbox"/>				
4	Ho avuto diarrea	<input type="checkbox"/>				
5	Ho dovuto rinunciare a fare programmi a lungo termine	<input type="checkbox"/>				
6	Ho avuto tosse e/o catarro	<input type="checkbox"/>				
7	Non mi sono potuto occupare dei miei cari come avrei voluto	<input type="checkbox"/>				
8	Ho avuto paura che la mia salute potesse peggiorare	<input type="checkbox"/>				
9	Ho avuto fastidi e/o dolore alle articolazioni	<input type="checkbox"/>				
10	Ho avuto bisogno di aiuto nella cura della mia persona	<input type="checkbox"/>				
11	Ho avuto paura di restare senza medicine e/o immunoglobuline	<input type="checkbox"/>				
12	Ho avuto paura delle reazioni alla terapia con le immunoglobuline	<input type="checkbox"/>				
13	Sono stato preoccupato per la mia vita futura	<input type="checkbox"/>				
14	Ho evitato di uscire di casa a causa della diarrea	<input type="checkbox"/>				
15	Mi sono sentito meno autonomo del solito	<input type="checkbox"/>				
16	Ho avuto paura di contagiare gli altri con le mie infezioni	<input type="checkbox"/>				

**A causa della mia malattia, negli ultimi tre mesi:**

		Mai	Raramente	A volte	Spesso	Sempre
17	Mi è stato difficile svolgere il mio lavoro abituale/ studiare	<input type="checkbox"/>				
18	Ho avuto paura di morire	<input type="checkbox"/>				
19	Ho evitato di uscire di casa a causa della tosse	<input type="checkbox"/>				
20	Ho avuto la tendenza ad isolarmi	<input type="checkbox"/>				
21	Ho avuto paura di ammalarmi	<input type="checkbox"/>				
22	Mi sono sentito fragile	<input type="checkbox"/>				
23	Sono stato condizionato nella mia attività sessuale	<input type="checkbox"/>				
24	Ho provato fastidio a causa della terapia con immunoglobuline	<input type="checkbox"/>				
25	È stato difficile svolgere le mie abituali attività del tempo libero	<input type="checkbox"/>				
26	Sono stato a disagio a causa dei problemi della mia pelle (macchie, rossore, infezioni)	<input type="checkbox"/>				
27	Ho avuto difficoltà a relazionarmi con le persone che frequento	<input type="checkbox"/>				
28	Mi sono sentito una persona malata	<input type="checkbox"/>				
29	Mi sono sentito in imbarazzo	<input type="checkbox"/>				
30	Ho avuto paura che gli altri mi potessero contagiare con le loro malattie	<input type="checkbox"/>				
31	Mi sono sentito turbato dalla relazione con pazienti che hanno la mia stessa malattia	<input type="checkbox"/>				
32	Mi sono sentito stanco	<input type="checkbox"/>				

Controlli di aver risposto **a tutte** le affermazioni.  
Grazie della collaborazione.

## Esami di laboratorio

I pazienti che hanno aderito allo studio sono stati sottoposti a un prelievo di sangue e sono stati invitati a portare 3 campioni di feci, raccolti possibilmente la mattina della visita.

Gli esami del sangue comprendevano:

- Emocromo con formula;
- Protidogramma;
- Saturazione della transferrina;
- Proteina C-reattiva (PCR);
- Transaminasi;
- GastroPanel®:
  - Pepsinogeno I;
  - Pepsinogeno II;
  - Rapporto pepsinogeno I/pepsinogeno II;
  - Gastrina 17;
  - Anticorpi IgG anti-Hp;
- Calprotectina fecale;
- Pannello PCR (Polymerase Chain Reaction) per virus e batteri su feci;
- Pannello PCR per protozoi su feci.

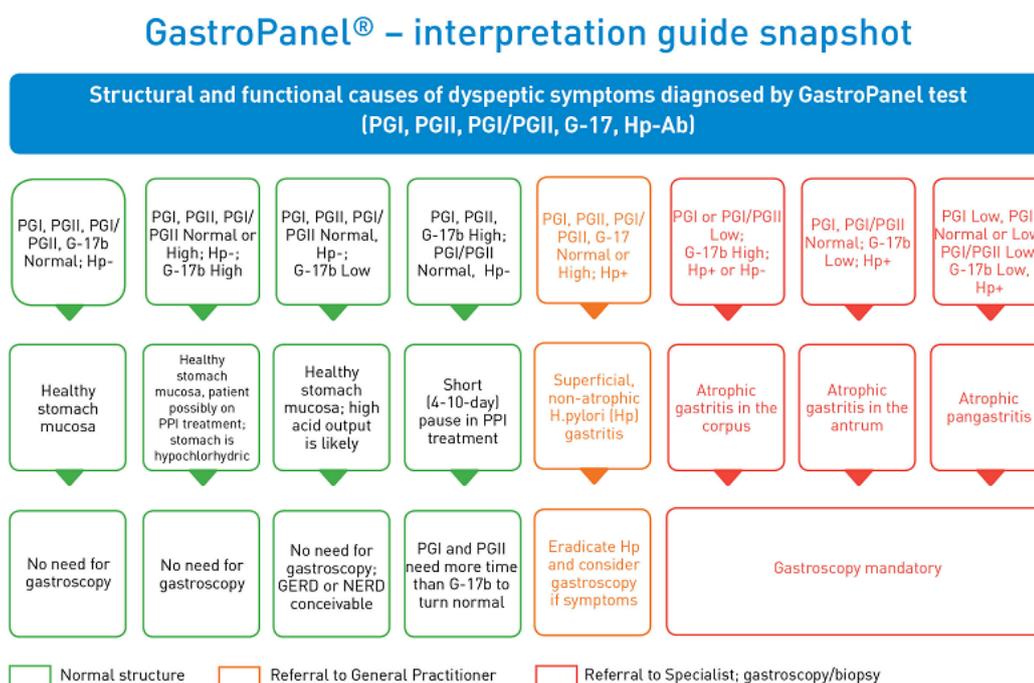
La PCR sulle feci ha indagato la presenza dei seguenti patogeni: Salmonella, Shigella, Campylobacter, Norovirus GI, Norovirus GII, Adenovirus, Rotavirus, Sapovirus, Astrovirus, Yersinia, Vibrio, Escherichia Coli, Giardia, Blastocystis hominis, Entamoeba spp inclusa histolytica, Cyclospora e Criptosporidium. In caso di positività della PCR per i batteri, i pazienti sono stati invitati ad effettuare una coprocoltura di conferma, per stabilire la necessità di trattamento.

## Analisi statistica

I dati sono stati descritti come percentuali o mediane con IQR (interquantile range) a seconda del tipo di variabile. Per l'analisi sono stati usati test parametrici o non parametrici, come più appropriato.

Per quanto riguarda il GastroPanel®, sono stati analizzati i risultati creando delle combinazioni in base a quelle che sono le indicazioni suggerite proprio dalla ditta produttrice (Figura 5). Oltre alla alterazione generale del GastroPanel® (GastroPanel® alterato sì/no), sono stati identificati 8 possibili pattern di funzionalità/flogosi gastrica, di cui gli ultimi 3 identificano una condizione di gastrite atrofica (6 del corpo, 7 dell'antro, 8 pangastrica) e quindi unificati in un unico *outcome* (atrofia sì/no). I livelli di gastrina 17 sono stati analizzati sia come variabile continua che come dicotomica in base all'aumento o alla riduzione. Il risultato della calprotectina fecale è stato valutato come variabile continua, mentre il suo aumento ( $\geq 50$  mcg/kg) come variabile dicotomica. L'analisi statistica è stata effettuata con Jamovi (Versione 2.3.16.0 per MAC). (91)

Figura 5: Interpretazione del Gastropanel®(92)



## Aspetti etici

Tutti i pazienti inclusi in questo protocollo hanno espresso il proprio consenso informato all'inserimento nel Registro delle Immunodeficienze primitive e

secondarie approvato dal Comitato Etico della Marca Trevigiana (approvazione 818/CE Marca).

## Risultati

### Popolazione in studio

I pazienti con COVID afferiti finora all'Ambulatorio di Immunologia Clinica del Ca' Foncello sono in totale 140. Di questi 72 (51.4%) rispettavano i criteri di inclusione ed esclusione dal protocollo. Due pazienti, però, risultavano deceduti al momento dell'arruolamento e dei restanti che sono stati contattati 40 (56%) hanno accettato di partecipare. Le caratteristiche demografiche dei pazienti inclusi nel protocollo sono descritte nella tabella VIII. In particolare, in termini di età media, sesso, abitudine tabagica, comorbidità, classificazione secondo Chapel, immunofenotipo, deficit di IgA alla diagnosi e terapia sostitutiva con immunoglobuline non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra i pazienti che hanno partecipato al protocollo e quelli che non hanno acconsentito. Per quanto, invece, riguarda l'eventuale patologia gastrointestinale già segnalata in anamnesi e la terapia farmacologica, i pazienti che hanno acconsentito a sottoporsi alle indagini previste dal protocollo avevano più frequentemente una diagnosi nota di gastrite in generale (52% versus 22%,  $p=0.008$ ), di gastrite Hp-relata (20% versus 3.1%,  $p=0.037$ ) e di malattia da reflusso gastroesofageo (MRGE, 20% versus 3.1%,  $p=0.037$ ) e avevano assunto maggiormente inibitori di pompa protonica (PPI, 30% versus 3.1%,  $p=0.003$ ) in passato rispetto ai pazienti che non hanno aderito al progetto (Tabella IX). Da notare come il 62% ( $n=25$ ) dei pazienti inclusi nel protocollo avesse già una diagnosi di patologia gastrointestinale in anamnesi, nella maggior parte dei casi a coinvolgimento gastroesofageo.

Tabella VIII: Caratteristiche della popolazione in studio

	Esclusi N=32 (44%)	Inclusi N=40 (56%)	Tutti N=72
Età alla diagnosi (anni, mediana, IQR)	36 (18)	43 (18)	40 (21)
Sesso maschile (n, %)	15 (47)	17 (42)	32 (44.4)
Fumo attivo (n, %)	4 (12)	4 (10)	8 (11.1)
Ex fumatori (n, %)	8 (25)	5 (12)	13 (18.1)
Durata malattia (anni, mediana, IQR)	16 (10)	12 (10)	13.5 (10.3)
Comorbidità (n, %)	24 (75)	26 (65)	50 (69.4)
Pregressa chirurgia (n, %)	9 (28)	12 (30)	21 (29.2)
EUROclass (n, %)			
- B+ smB+ CD21norm	10 (31)	18 (45)	28 (38.9)
- B+ smB+ CD21low	4 (12)	5 (12)	9 (12.5)
- B+ smB- CD21low	2 (6.2)	0 (0)	2 (2.8)
- B+ smB- CD21norm	3 (9.4)	8 (20)	11 (15.3)
- B-	3 (9.4)	0 (0)	3 (9.7)
- Non noto	10 (31)	9 (22)	19 (26.4)
Classificazione di Chapel			
- Ch1 (n, %)	16 (53)	25 (64)	41 (59.4)
- Ch2 (n, %)	8 (27)	6 (15)	14 (20.3)
- Ch3 (n, %)	7 (23)	6 (15)	13 (18.8)
- Ch4 (n, %)	9 (30)	10 (26)	19 (27.5)
IgA alla diagnosi (mg/dL, mediana, IQR)	24 (48.0)	12 (50.0)	21.0 (50.8)
Deficit IgA completo (n, %)	8 (25)	18 (45)	26 (36.1)
Deficit IgA parziale (n, %)	19 (59)	18 (45)	37 (51.4)
Terapia con Ig (n, %)	30 (94)	35 (88)	65 (90.3)
Tumore GI (n, %)	4 (12)	3 (7.5)	7 (9.7)
Tumore gastrico (n, %)	2 (6.2)	2 (5.0)	4 (5.6)
Deceduti (n, %)	2 (6.2)	0 (0)	2 (2.8)

Abbreviazioni: IQR range interquartile, CD cluster di differenziazione, Ch Classificazione di Chapel, Ig immunoglobuline, GI gastrointestinale

Tabella IX: Diagnosi e terapie gastrointestinali riportate all'ultima visita di follow-up (per i pazienti esclusi) o alla visita di arruolamento (per i pazienti inclusi)

	Esclusi N=32 (44%)	Inclusi N=40 (56%)	Tutti N=72
Patologia GI	13 (41)	25 (62)	38 (52.8)
MRGE	1 (3.1)	8 (20)	9 (12.5)
Enteropatia	3 (9.4)	3 (7.5)	6 (8.3)
Celiachia	0 (0)	1 (2.5)	1 (1.4)
MICI	1 (3.1)	1 (2.5)	2 (2.8)
Colite microscopica	0 (0)	1 (2.5)	1 (1.4)
Gastrite	7 (22)	21 (52)	28 (38.9)
Gastrite Hp positiva	1 (3.1)	8 (20)	9 (12.5)
Gastrite Hp negativa	7 (22)	13 (32)	20 (27.8)
Gastrite autoimmune	1 (3.1)	2 (5.0)	3 (4.2)
PPI attuali	8 (25)	17 (42)	25 (34.7)
PPI pregressi	1 (3.1)	12 (30)	13 (18.1)
Antibiotici	2 (6.0)	0 (0)	2 (2.8)
Antibiotici a cicli	4 (12)	4 (10)	8 (11.1)
FANS attuali	7 (22)	3 (7.5)	10 (13.9)
Antiacidi attuali	1 (3.1)	5 (12)	6 (8.3)

Abbreviazioni: GI gastrointestinale, MRGE malattia da reflusso gastroesofageo, MICI malattia infiammatorie croniche intestinali, Hp Helicobacter pylori, PPI inibitori di pompa protonica, FANS farmaci antinfiammatori non steroidei. Tutti i valori sono espressi in n, (%).

Per quanto riguarda i dati endoscopici ed istologici, i due gruppi di pazienti (inclusi ed esclusi dal protocollo) sono risultati sovrapponibili. In particolare, l'ultimo esame endoscopico, sia EGDS che colonscopia, risale a più di un anno prima dell'arruolamento in questo protocollo (mediana di 18 mesi con IQR 10-26 nei pazienti inclusi, tabella X). C'è una tendenza, anche se statisticamente non significativa, ad una maggiore prevalenza di alterazioni endoscopiche alla gastroscopia nel gruppo dei pazienti inclusi rispetto ai non inclusi (60% versus 38%,  $p=0.058$ ). L'alterazione endoscopica più frequentemente riscontrata a livello gastrico è stata l'iperemia, mentre non si è osservata alcuna ulcera peptica. Le alterazioni endoscopiche sono risultate complessivamente meno frequenti nelle colonscopie eseguite (19% e 18% negli inclusi ed esclusi, rispettivamente) rispetto alle alterazioni gastriche. Inoltre, mentre più del 90% dei pazienti ha effettuato biopsie in corso di gastroscopia, questa percentuale si riduce al 50% circa in quelli

sottoposti a colonscopia. Tra le alterazioni istologiche più frequentemente descritte spicca l'infiltrato linfocitario sia a livello gastrico (35% e 28% negli inclusi ed esclusi, rispettivamente), che a livello duodenale (18% e 6.2%) e colico (18% e 31%).

*Tabella X: Caratteristiche endoscopiche ed istologiche della popolazione in studio*

	<b>Esclusi N=32 (44%)</b>	<b>Inclusi N=40 (56%)</b>	<b>Tutti N=72</b>
Mesi dall'ultima EGDS (mediana, IQR)	18 (28)	18 (16)	18 (21.5)
Mesi dall'ultima colonscopia (mediana, IQR)	29 (29)	26 (31)	27 (32)
Alterazioni endoscopiche gastriche (n, %)	12 (38)	24 (60)	36 (50.0)
- Iperemia (n, %)	6 (19)	15 (38)	21 (29.2)
- Atrofia endoscopica (n, %)	0 (0)	2 (5.0)	2 (2.8)
- Erosioni (n, %)	5 (16)	5 (12)	10 (13.9)
- Ulcere (n, %)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
- Polipi (n, %)	2 (6.2)	3 (7.5)	5 (6.9)
Alterazioni endoscopiche duodenali (n, %)	2 (6.2)	6 (15)	8 (11.1)
Biopsia gastrica disponibile (n, %)	30 (94)	37 (92)	67 (93.1)
Alterazioni istologiche alla EGDS (n, %)	19 (59)	24 (60)	43 (59.7)
Alterazioni istologiche gastriche (n, %)	19 (59)	22 (55)	41 (56.9)
- Gastrite alla istologia (n, %)	11 (34)	13 (32)	24 (33.3)
- Infiltrato linfocitario (n, %)	9 (28)	14 (35)	23 (31.9)
- Atrofia alla istologia (n, %)	3 (9.4)	3 (7.5)	6 (8.3)
- Displasia gastrica (n, %)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
- Metaplasia gastrica (n, %)	4 (12)	4 (10)	8 (11.1)
Biopsia duodenale disponibile (n, %)	14 (44)	24 (60)	38 (52.8)
Alterazioni istologiche duodenali (n, %)	3 (9.4)	7 (18)	10 (13.9)
- Infiltrato duodenale (n, %)	2 (6.2)	7 (18)	9 (12.5)
- Atrofia duodenale (n, %)	0 (0)	1 (2.5)	1 (1.4)

- Villi appiattiti (n, %)	1 (3.1)	1 (2.5)	2 (2.8)
Alterazioni endoscopiche alla colonscopia (n, %)	6 (19)	7 (18)	13 (18.1)
- Polipi del colon (n, %)	6 (19)	6 (15)	12 (16.7)
- Ulcere alla colonscopia (n, %)	2 (6.2)	1 (2.5)	3 (4.2)
- Iperemia alla colonscopia (n, %)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Biopsia eseguita durante colonscopia (n, %)	17 (53)	20 (50)	37 (51.4)
Alterazioni istologiche coliche (n, %)	11 (34)	10 (25)	21 (29.2)
- Infiltrato (n, %)	10 (31)	7 (18)	17 (23.6)
- Displasia (n, %)	4 (12)	3 (7.5)	7 (9.7)
- Granulomi (n, %)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Abbreviazioni: EGDS esofagogastroduodenoscopia, IQR range interquartile

## Risultati degli esami di laboratorio

I risultati degli esami di laboratorio eseguiti nei 40 pazienti che hanno accettato di partecipare al protocollo sono descritti nella tabella XI. Nonostante la sideropenia sia stata riscontrata in circa il 25% dei pazienti, una effettiva riduzione di emoglobina e quindi una condizione di anemia è emersa nel 15% (n=6). La microcitemia e la macrocitemia sono riportate con uguale distribuzione nei pazienti. La mediana della conta linfocitica è risultata nei limiti (1.41 con IQR 0.66), ma la leucopenia in generale è stata riscontrata nel 25% dei casi. Da segnalare, inoltre, la persistenza di ipogammaglobulinemia all'elettroforesi proteica in 12 soggetti (30%), ma di questi 4 non assumeva terapia di supplementazione. Per quanto riguarda gli indici di flogosi, una consistente quota di pazienti ha riportato un aumento della PCR (17.9%) o della calprotectina fecale > 50 mcg/kg (39.3%). Tuttavia, l'incremento della calprotectina non è risultato associato né alle alterazioni endoscopiche o istologiche descritte in occasione dell'ultima procedura endoscopica eseguita, né alla pregressa diagnosi di patologia gastrointestinale.

Tabella XI: Risultati degli esami di laboratorio nella popolazione arruolata

	<b>Inclusi N=40</b>
Hb (g/L, mediana, IQR)	143 (26.5)
Microcitemia (n, %)	4 (10.0)
Macrocitemia (n, %)	6 (15.0)
Piastrinopenia (n, %)	7 (17.5)
Linfociti (10 <sup>3</sup> /microL, mediana, IQR)	1.41 (0.66)
Gammaglobuline (% , mediana, IQR)	11.0 (2.8)
Ipogammaglobulinemia (n, %)	12 (30.0)
Proteina C-reattiva (mg/dL, mediana, IQR)	0.19 (0.34)
Aumento della proteina C-reattiva (n, %)	7 (17.5)
Aumento delle transaminasi (n, %)	5 (12.5)
Calprotectina fecale (microg/g, mediana, IQR)	25.0 (84.0)
Aumento della calprotectina fecale (n, %)	11 (39.3)
Sideropenia (n, %)	11 (27.5)
GP alterato (n, %)	32 (80.0)
Aumento della gastrina (n, %)	11 (27.5)
Atrofia al GP (n, %)	5 (12.5)
Sierologia Hp positiva (n, %)	11 (27.5)
PCR sulle feci positiva (n, %)	12 (30.8)

Abbreviazioni: Hb emoglobina, IQR range interquartile, GP GastroPanel®, Hp Helicobacter pylori, PCR Polymerase Chain Reaction

Trentacinque pazienti hanno effettuato l'esame del GastroPanel®, che nell'91.4% dei casi (n=32) è risultato alterato in almeno uno dei dosaggi considerati (Tabella XI). I pattern riscontrati hanno documentato alterazioni non clinicamente significative in 19 pazienti (47.5%, figura 6). Tra questi 2 pazienti avevano un riscontro istologico all'ultima EGDS di gastrite atrofica. In 5 soggetti il quadro è risultato compatibile con atrofia gastrica (Figura 7). Confrontando i risultati con gli ultimi dati istologici a disposizione, in uno dei 5 pazienti, che in anamnesi aveva un riscontro istologico di atrofia gastrica, questa è stata confermata anche al GastroPanel®; anche una paziente con precedente gastrectomia totale ha presentato, giustamente, un quadro di atrofia completa al GastroPanel®. Negli altri 3, invece, non era descritto un quadro di atrofia istologica all'ultimo esame

disponibile. Due pazienti hanno presentato un risultato al GastroPanel® che non rientra in modo preciso in nessuna delle categorie descritte.

Figura 6: Risultati del GastroPanel®

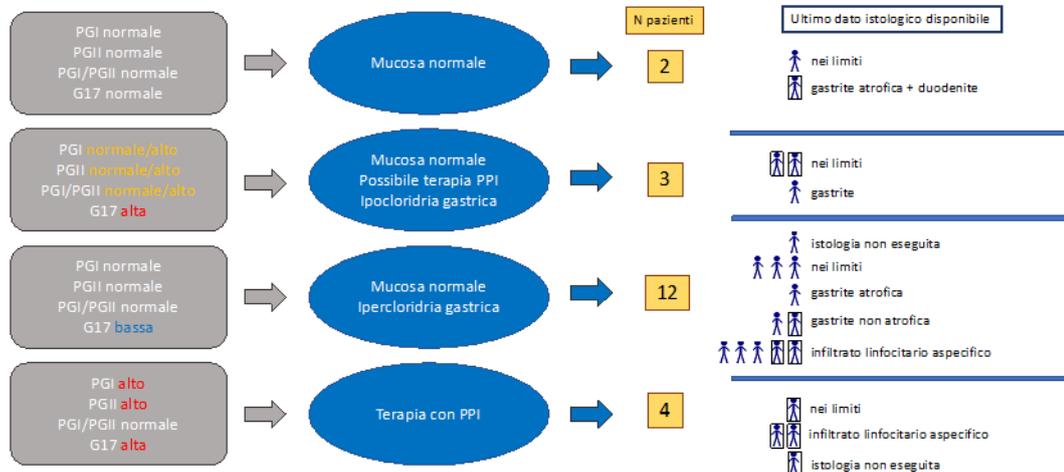
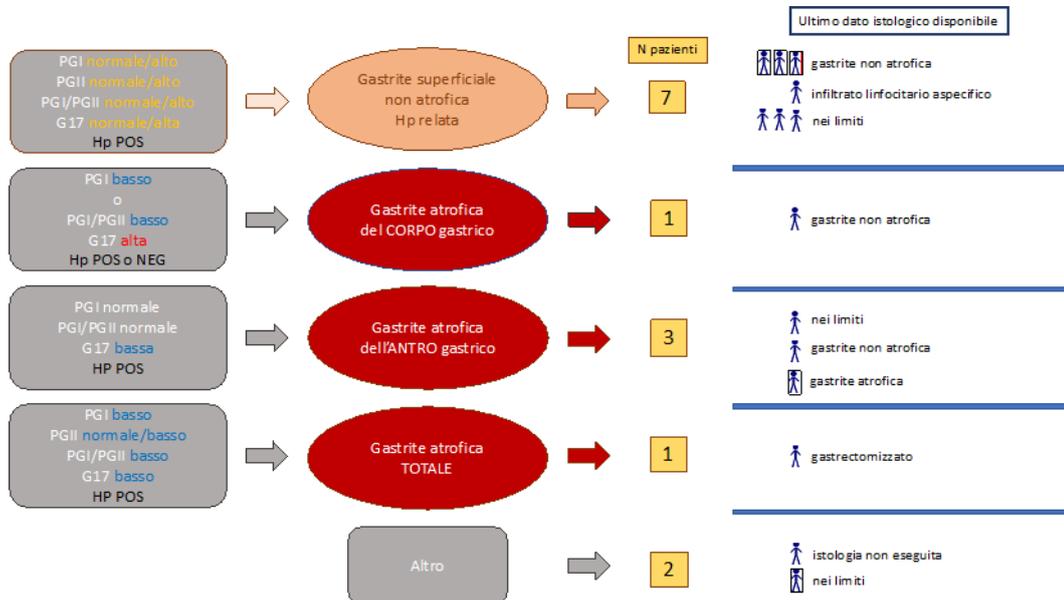


Figura 7: Risultati del GastroPanel® più clinicamente significativi (sierologia per Hp positiva o riscontro di atrofia gastrica)



I livelli di gastrina 17 aumentati (31.4%) sono risultati associati in modo statisticamente significativo alla terapia in corso con PPI ( $p=0.016$ ). In modo speculare, i livelli di gastrina 17 ridotti (46%) sono risultati inversamente associati all'uso concomitante di PPI ( $p=0.008$ ).

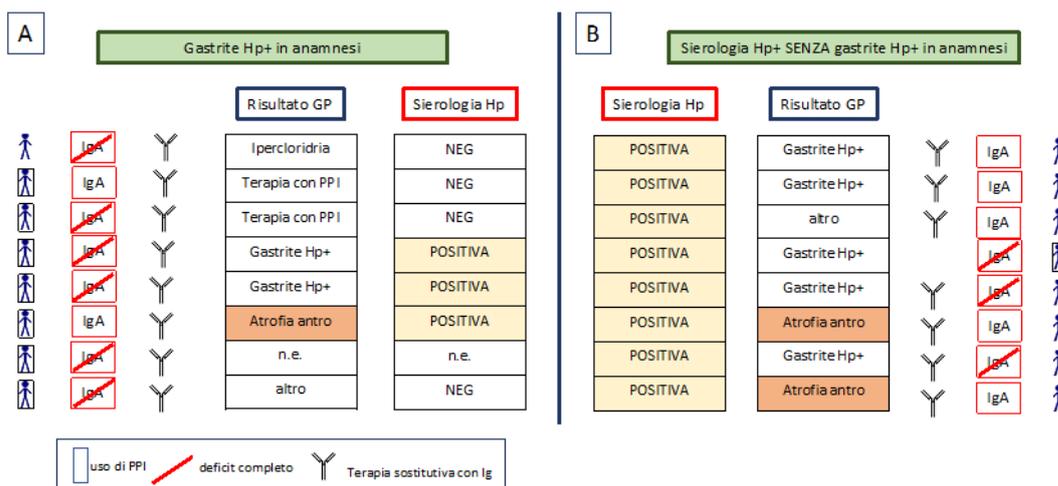
Dei 4 pazienti con tumore gastrico presenti nella casistica in studio, due hanno espresso il consenso a partecipare al protocollo, di cui una paziente

precedentemente sottoposta a gastrectomia totale (con atrofia al GastroPanel®) ed un paziente con pregressa gastroresezione, che però non ha effettuato il prelievo per il GastroPanel®.

I pazienti con GastroPanel® alterato non presentano differenze significative rispetto a quelli con un quadro laboratoristico normale né nelle caratteristiche demografiche né in quelle cliniche, in particolare nei sintomi riportati.

Per quanto riguarda la sierologia per Hp, questa è risultata positiva in 11 pazienti in totale (27.5%). Di questi, solo 3 avevano in anamnesi una storia di gastrite Hp positiva (figura 8A), mentre gli altri 8 non avevano un precedente riscontro di infezione da Hp (figura 8B). La maggior parte di questi pazienti era in terapia sostitutiva con immunoglobuline al momento della valutazione, con un conseguente livello normale di gammaglobuline all'elettroforesi proteica. Anche in questo caso, non è stata riscontrata alcuna differenza in termini di sintomatologia (soprattutto per quanto riguarda il dolore addominale e la piroisi) tra i pazienti risultati positivi all'Hp rispetto a quelli negativi.

Figura 8: Risultati relativi alla sierologia per Hp. Pannello A: pazienti con storia di gastrite Hp positiva in anamnesi. Pannello B: restanti pazienti con sierologia Hp positiva che non avevano storia di infezione da Hp in anamnesi



## Test microbiologici

Trentadue pazienti hanno portato in occasione della visita anche un campione di feci per i test microbiologici, di cui 30 sono stati al momento refertati. Dodici di

questi (40%) sono risultati positivi alla PCR per virus e batteri o per protozoi. In particolare, sono stati documentati: 2 casi di Norovirus, 1 Dientamoeba fragilis, 4 casi di Blastocystis hominis, 1 caso di Blastocystis hominis insieme a Campylobacter, 2 Campylobacter, 1 Giardia e 1 Salmonella. I pazienti con riscontro di PCR positiva a batterio, sono stati successivamente inviati ad eseguire una coprocoltura di controllo, per confermare l'indicazione alla terapia specifica, ma i risultati sono ancora in corso.

Analizzando eventuali differenze demografiche o cliniche tra i pazienti con positività o meno ai test microbiologici su feci, non è emerso alcun fattore associato statisticamente (Tabella XII). In particolare, non sembra influire sulla prevalenza di queste infezioni né il deficit di IgA né la terapia in corso con PPI o antibiotici a cicli; inoltre, i pazienti con PCR positiva non hanno presentato nessuna differenza laboratoristica (per es. percentuale di gammaglobuline, numero di linfociti o aumento degli indici di flogosi), né sintomatologica rispetto ai pazienti con risultato negativo.

*Tabella XII: Confronto tra i pazienti risultati negativi o positivi alla PCR su feci per microrganismi*

	No N=18 (60%)	Si N=12 (40%)	p-value
Età alla diagnosi (anni, mediana, IQR)	43 (15)	44 (13)	0.78
Sesso maschile (n, %)	6 (33)	4 (33)	>0.99
BMI (kg/m <sup>2</sup> , mediana, IQR)	26 (10)	22 (5)	0.28
Durata della malattia (anni, mediana, IQR)	16 (11)	10 (4)	0.086
Comorbidità (n, %)	14 (78)	7 (58)	0.42
Pregressa chirurgia (n, %)	6 (33)	5 (42)	0.71
IgA alla diagnosi (mg/dL, mediana, IQR)	22 (54)	15 (35)	0.82
Deficit IgA completo (n, %)	8 (44)	4 (33)	0.13
Deficit IgA parziale (n, %)	10 (56)	5 (42)	0.13
PPI attuali (n, %)	9 (50)	7 (58)	0.65
Antibiotici a cicli (n, %)	16 (89)	11 (92)	>0.99
Patologia GI (n, %)	14 (78)	8 (67)	0.68
Gastrite (n, %)	11 (61)	7 (58)	>0.99
Febbre (n, %)	2 (11)	2 (17)	>0.99

Diarrea (n, %)	12 (67)	6 (50)	0.46
Dolore addominale (n, %)	9 (50)	6 (50)	>0.99
Inappetenza (n, %)	4 (22)	2 (17)	>0.99
Rettorragia (n, %)	4 (22)	0 (0)	0.13
Vomito (n, %)	4 (22)	2 (17)	>0.99
Nausea (n, %)	6 (33)	2 (17)	0.42
Meteorismo (n, %)	14 (78)	9 (75)	>0.99
Punteggio QoL (% , mediana, IQR)	27 (10)	23 (13)	0.37
Hb (g/L, mediana, IQR)	144 (29)	128 (22)	0.73
Linfociti (10 <sup>3</sup> /microL, mediana, IQR)	1.35 (0.50)	1.35 (0.52)	0.97
Gammaglobuline (% , mediana, IQR)	12.0 (2.0)	11.0 (4.5)	0.28
Proteina C-reattiva (mg/dL, mediana, IQR)	0.16 (0.35)	0.18 (0.16)	0.89
Aumento delle transaminasi	2 (11)	1 (9.1)	>0.99
Calprotectina fecale>50 (n, %)	7 (44)	4 (40)	>0.99
GP alterato (n, %)	16 (89)	11 (92)	>0.99
Alterazioni endoscopiche gastriche (n, %)	10 (56)	7 (58)	0.88
Alterazioni endoscopiche duodenali (n, %)	3 (17)	2 (17)	>0.99
Alterazioni istologiche alla EGDS (n, %)	9 (50)	8 (67)	0.62
Alterazioni istologiche duodenali (n, %)	2 (11)	4 (33)	0.36
Alterazioni endoscopiche alla colonscopia (n, %)	5 (28)	2 (17)	0.80
Alterazioni istologiche alla colonscopia (n, %)	5 (28)	4 (33)	>0.99

Abbreviazioni: PCR Polymerase Chain Reaction, IQR range interquartile, BMI body mass index, PPI inibitori di pompa protonica, GI gastrointestinale, QoL Quality of life, Hb emoglobina, GP GastroPanel®, EGDS esofagogastroduodenoscopia

## Sintomatologia

La maggior parte dei pazienti valutati nel protocollo ha lamentato la presenza di sintomi al momento della visita (97.5%, tabella XIII). Di questi i più

frequentemente riportati sono stati il meteorismo (70.0%), la diarrea (55.0%) e il dolore addominale (45.0%). Analizzando le caratteristiche dei pazienti con e senza questi sintomi, è emerso come il dolore addominale (Tabella XIV) e il meteorismo (Tabella XV) siano associati a peggiori esami di laboratorio, in particolare a minor valore dell'emoglobina e alterati valori di calprotectina fecale, mentre la diarrea (Tabella XVI) non è risultata associata a nessuna caratteristica clinica o bioumorale.

*Tabella XIII: Sintomi gastrointestinali nei pazienti arruolati.*

	<b>Inclusi N=40</b>
Sintomi GI	39 (97.5)
Diarrea	22 (55.0)
Dolore addominale	18 (45.0)
Inappetenza	7 (17.5)
Rettorragia	4 (10.0)
Vomito	6 (15.0)
Nausea	8 (20.0)
Aftosi orale	7 (17.5)
Meteorismo	28 (70.0)
Pirosi	6 (15.0)
Eruttazione	6 (15.0)
Incontinenza fecale	4 (10.0)
Dolore anale	8 (20.0)
Dispepsia	13 (32.5)
Stipsi	8 (20.0)
Glossite	4 (10.0)

Abbreviazioni: GI gastrointestinali. Tutti i valori sono espressi in n, (%).

*Tabella XIV: Caratteristiche bioumorali, endoscopiche ed istologiche dei pazienti arruolati in base alla presenza o meno di dolore addominale*

	<b>No N=22 (55%)</b>	<b>Si N=18 (45%)</b>	<b>p-value</b>
Hb (g/L, mediana, IQR)	152 (16)	128 (23)	<0.001
Linfociti (10 <sup>3</sup> /microL, mediana, IQR)	1.5 (0.5)	1.3 (0.7)	0.41
Gammaglobuline (% , mediana, IQR)	11.0 (2.0)	12.0 (2.0)	0.41
Proteina C-reattiva (mg/dL, mediana, IQR)	0.18 (0.37)	0.18 (0.32)	0.62
Calprotectina fecale (microg/g, mediana, IQR)	10 (31)	67 (201)	0.065

GP alterato (n, %)	17 (77)	15 (83)	>0.99
Sierologia HP positiva (n, %)	4 (18)	7 (39)	0.39
PCR sulle feci positiva (n, %)	6 (27)	6 (35)	0.38
Alterazioni endoscopiche gastriche (n, %)	13 (59)	11 (61)	0.90
Alterazioni istologiche alla EGDS (n, %)	13 (59)	11 (61)	0.29
Alterazioni istologiche duodenali (n, %)	1 (4.5)	6 (33)	0.073
Alterazioni endoscopiche alla colonscopia (n, %)	6 (27)	1 (5.6)	0.068
Alterazioni istologiche alla colonscopia (n, %)	6 (27)	4 (22)	>0.99

Abbreviazioni: Hb emoglobina, IQR range interquartile, GP GastroPanel®, HP Helicobacter pylori, PCR Polymerase Chain Reaction, EGDS esofagogastroduodenoscopia

*Tabella XV: Caratteristiche bioumorali, endoscopiche ed istologiche dei pazienti arruolati in base alla presenza o meno di meteorismo*

	No N=12 (30%)	Si N=28 (70%)	p-value
Hb (g/L, mediana, IQR)	153 (16)	132 (27)	0.003
Linfociti (10 <sup>3</sup> /microL, mediana, IQR)	1.71 (0.38)	1.33 (0.69)	0.13
Gammaglobuline (% , mediana, IQR)	11.0 (2.50)	11.0 (3.5)	0.40
Proteina C-reattiva (mg/dL, mediana, IQR)	0.15 (0.21)	0.20 (0.34)	0.60
Calprotectina fecale (microg/g, mediana, IQR)	6 (15)	67 (132)	0.017
GP alterato (n, %)	9 (75)	23 (82)	0.45
Sierologia HP positiva (n, %)	1 (8.3)	10 (36)	0.14
PCR sulle feci positiva (n, %)	3 (27)	9 (32)	0.54
Alterazioni endoscopiche gastriche (n, %)	7 (58)	17 (61)	>0.99
Alterazioni istologiche alla EGDS (n, %)	7 (58)	17 (61)	>0.99
Alterazioni istologiche duodenali (n, %)	2 (17)	5 (18)	0.90
Alterazioni endoscopiche alla colonscopia (n, %)	3 (25)	4 (14)	0.23
Alterazioni istologiche alla colonscopia (n, %)	4 (33)	6 (21)	0.61

Abbreviazioni: Hb emoglobina, IQR range interquartile, GP GastroPanel®, HP Helicobacter pylori, PCR Polymerase Chain Reaction, EGDS esofagogastroduodenoscopia

Tabella XVI: Caratteristiche bioumorali, endoscopiche ed istologiche dei pazienti arruolati in base alla presenza o meno di diarrea

	No N=18 (45%)	Si N=22 (55%)	p-value
Hb (g/L, mediana, IQR)	144 (14)	139 (30)	0.37
Linfociti ( $10^3/\text{microL}$ , mediana, IQR)	1.44 (0.64)	1.37 (0.62)	0.74
Gammaglobuline (% , mediana, IQR)	12.0 (4.0)	11.0 (2.0)	0.50
Proteina C-reattiva (mg/dL, mediana, IQR)	0.18 (0.19)	0.19 (0.35)	0.83
Calprotectina fecale (microg/g, mediana, IQR)	30 (68)	18 (136)	0.78
GP alterato (n, %)	16 (89)	16 (73)	0.35
Sierologia HP positiva (n, %)	6 (33)	5 (23)	0.90
PCR sulle feci positiva (n, %)	6 (35)	6 (27)	0.54
Alterazioni endoscopiche gastriche (n, %)	12 (67)	12 (55)	0.44
Alterazioni istologiche alla EGDS (n, %)	13 (72)	11 (50)	0.42
Alterazioni istologiche duodenali (n, %)	3 (17)	4 (18)	0.31
Alterazioni endoscopiche alla colonscopia (n, %)	4 (22)	3 (14)	0.42
Alterazioni istologiche alla colonscopia (n, %)	3 (17)	7 (32)	0.21

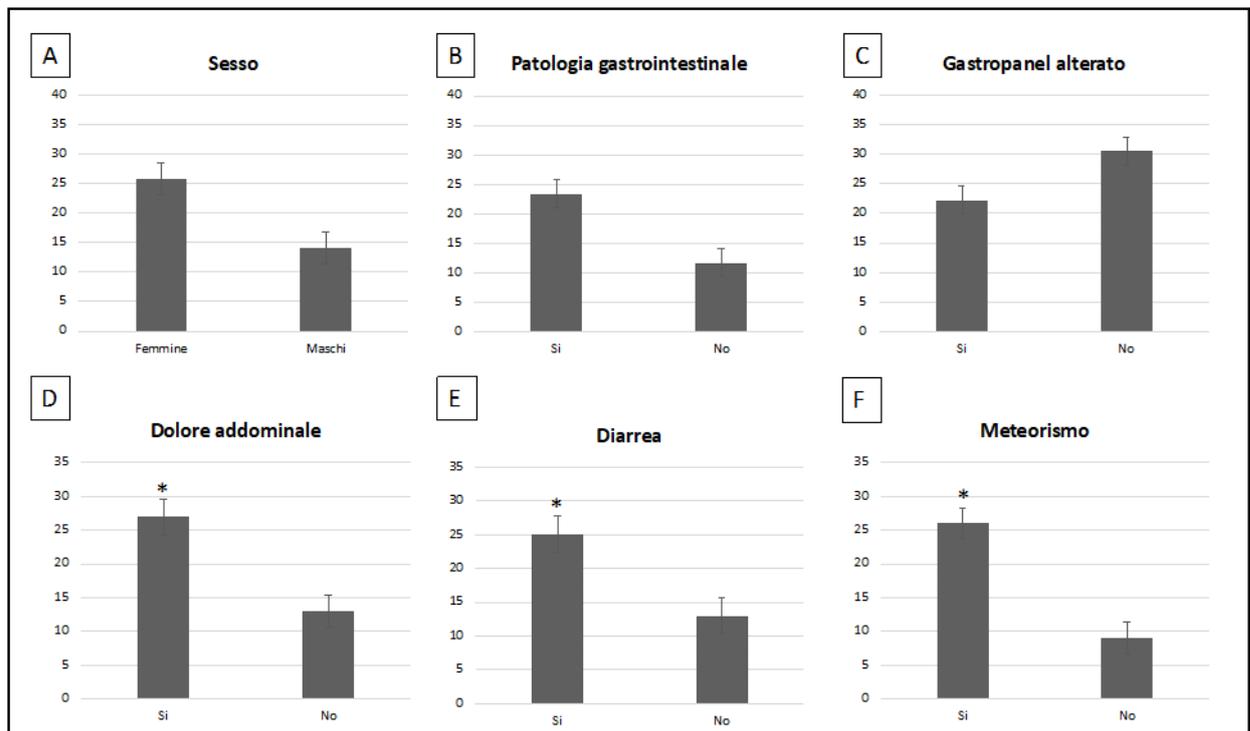
Abbreviazioni: Hb emoglobina, IQR range interquartile, GP GastroPanel®, HP Helicobacter pylori, PCR Polymerase Chain Reaction, EGDS esofagogastroduodenoscopia

## Qualità della vita

Il punteggio mediano ottenuto con il questionario sulla qualità della vita nei pazienti che hanno partecipato al protocollo è stato 21.9 (IQR 20.5). Le caratteristiche che tendono ad influenzare negativamente la qualità di vita di questa popolazione selezionata di CVID, anche se non in modo statisticamente significativo, sono il sesso, perché le donne hanno ottenuto punteggi più alti al questionario rispetto ai maschi (mediana di 26 con IQR 12 versus 14 con IQR 15,  $p=0.059$ , figura 9A), e una diagnosi già presente di patologia gastrointestinale ( $p=0.078$ , figura 9B). Inoltre, tra i sintomi influiscono negativamente sulla qualità

di vita quelli maggiormente riportati, e quindi il dolore addominale, la diarrea e il meteorismo, tutti in modo statisticamente significativo (figura 9D-E-F). Il riscontro di un GastroPanel® alterato, invece, non sembra avere un impatto sulla qualità di vita dei pazienti con CVID (figura 9C), mentre la sierologia positiva per Hp si (p=0.012, con un punteggio mediano di 28 (IQR7) nei positivi rispetto a 15 (IQR 17) nei negativi).

Figura 9ABCDEF: Qualità della vita



## Discussione

I dati preliminari emersi da questo studio non mostrano una associazione dei test non invasivi previsti dal protocollo con il quadro gastrointestinale, né a livello endoscopico e istologico, né per quanto riguarda la pregressa diagnosi di patologia gastrointestinale.

Considerando che l'immunodeficienza comune variabile è una malattia rara, i pazienti seguiti presso il Centro di Immunologia dell'Ospedale Ca' Foncello di Treviso risultano essere tanti. Tuttavia, circa la metà era ben caratterizzata endoscopicamente avendo già eseguito una EGDS e una colonscopia, di cui il 55.6% ha accettato di partecipare al protocollo. Questi soggetti hanno presentato più frequentemente una diagnosi patologia gastrointestinale rispetto a coloro che hanno rifiutato di aderire al protocollo, in particolare di gastrite in generale, di gastrite Hp-relata e di malattia da reflusso gastroesofageo. Questo dato può essere giustificato dal maggiore interesse dei pazienti con disturbi gastrointestinali a sottoporsi ad esami che indagano la funzionalità di questo apparato rispetto ai pazienti che non presentano problematiche rilevanti in questo ambito. Inoltre, è stato riscontrato un maggior uso degli inibitori di pompa protonica nei pazienti che hanno aderito al protocollo, questo dato non sorprende data la maggiore incidenza di gastriti e malattia da reflusso gastroesofageo in questi individui.

Dagli esami di laboratorio eseguiti è emerso un aumento degli indici di flogosi (proteina C-reattiva e calprotectina fecale) in un consistente numero di pazienti. L'aumento della calprotectina non è risultato associato ad alterazioni endoscopiche o istologiche all'ultimo esame endoscopico eseguito, né alla pregressa diagnosi di malattia gastrointestinale. Il GastroPanel® è risultato alterato nella quasi totalità dei casi, ma solo in 5 pazienti è risultato compatibile con un quadro di atrofia gastrica, di cui uno presentava un precedente riscontro istologico di gastrite atrofica e un altro era stato gastrectomizzato. Invece, un altro paziente con un riscontro di atrofia gastrica all'ultima EGDS ha presentato un GastroPanel® normale. Gli alti livelli di gastrina 17 sono risultati associati alla terapia con PPI. Non sono emerse differenze a livello anamnestico, laboratoristico

o sintomatologico tra i pazienti in cui la PCR su feci è risultata positiva e coloro in cui invece è risultata negativa.

La quasi totalità dei pazienti ha riportato almeno un sintomo GI, i più frequenti sono stati meteorismo, diarrea e dolore addominale. La diarrea non ha presentato correlazioni con alterazioni cliniche o bioumorali, mentre il meteorismo e il dolore addominale sono risultati associati alla riduzione dell'emoglobina e all'aumento della calprotectina fecale.

Infine, la qualità della vita è risultata più bassa nei pazienti con una sintomatologia GI più rilevante, in particolare in caso di dolore addominale, meteorismo e diarrea. Nel nostro studio è emersa la presenza di disturbi GI in 38 pazienti (52.8%), la gastrite è risultata la patologia più frequente presentandosi in 28 pazienti (38.9%). Si è riscontrata una anamnesi di gastrite Hp-positiva in 9 pazienti (12.5%), gastrite Hp-negativa in 20 pazienti (27.8%) e gastrite autoimmune in 3 pazienti (4.2%). La prevalenza di gastrite riscontrata in letteratura è varia: in uno studio condotto da Maarschalk-Ellerbroerl *et al.* la presenza di gastrite è risultata nel 20% dei pazienti, in metà dei casi non è stata associata all'infezione da Hp (62). Mentre, in un altro studio condotto da Pikkarainen *et al.* si è riscontrata gastrite nel 27.7% dei pazienti, nel 4.4% dei casi è risultata Hp-positiva (63). La prevalenza di gastrite è risultata più bassa in studi con coorti di pazienti più ampie (40), mentre è risultata più alta in coorti di pazienti più piccole (10-20%) (93). A livello esofageo, abbiamo osservato la malattia da reflusso gastroesofageo in 9 pazienti (12.5%), mentre la prevalenza individuata dallo studio condotto da Pikkarainen *et al.* è risultata inferiore (4%). L'elevata prevalenza di gastrite e malattia da reflusso gastroesofageo riscontrata in questo studio potrebbe essere dovuta ai criteri di inclusione dello stesso. Infatti, abbiamo selezionato pazienti ben caratterizzati endoscopicamente, che in molti casi sono stati sottoposti a queste indagini a causa di sintomi gastrointestinali, mentre non è stata fatta tale selezione negli studi in letteratura.

Per quanto concerne l'interessamento di duodeno, digiuno e colon, l'enteropatia si è presentata in 6 pazienti (8.3%), è stato meno comune il riscontro di celiachia (1.4%), MICI (2.8%) e colite microscopica (1.4%). Nello studio condotto da Pikkarainen *et al.* sono state riscontrate enteropatia nel 9% dei casi, celiachia nel

3% dei casi, MICI nell'8% dei casi e colite microscopica nel 9% dei casi (63). Si osserva una minor prevalenza di queste patologie nel nostro studio rispetto alla letteratura, potrebbe essere dovuto alla esecuzione poco frequente di biopsie duodenali e coliche, che sono state eseguite rispettivamente nel 52.8% e nel 51.4% dei casi, in occasione dell'indagine endoscopica.

Sono stati valutati i dati relativi agli esami endoscopici ed istologici eseguiti nella popolazione inclusa nello studio; in particolare, sono state prese in considerazione l'ultima EGDS e l'ultima colonscopia. Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra i pazienti che hanno accettato e quelli che hanno rifiutato di partecipare al protocollo; si è notata solamente la maggiore prevalenza a livello endoscopico delle alterazioni gastriche, in particolare della iperemia, e delle alterazioni duodenali nei pazienti inclusi nel protocollo. In entrambi i gruppi, le alterazioni endoscopiche gastriche e duodenali sono risultate più elevate rispetto a quelle coliche. A livello gastrico sono state osservate più frequentemente l'iperemia e le erosioni, mentre a livello colico i polipi hanno costituito la quasi totalità delle alterazioni.

Mentre tra i due gruppi non sono state rilevate differenze riguardo alla percentuale di pazienti sottoposti a biopsia a livello gastrico e alla colonscopia, la biopsia duodenale è stata eseguita più frequentemente nei pazienti inclusi (60% rispetto al 44%) e sono state riscontrate maggiori alterazioni istologiche a questo livello (18% rispetto al 9.4%). L'alterazione più frequente è stata l'infiltrato linfocitario, che si è presentato anche in caso di mucosa macroscopicamente indenne. Inoltre, l'infiltrato linfocitario è stato riscontrato numerose volte anche a livello gastrico e colico.

A causa dell'elevato rischio di cancro allo stomaco, risulta fondamentale l'esecuzione della biopsia gastrica per il ritrovamento di lesioni pre-cancerose quali gastrite, atrofia, displasia e metaplasia; nei pazienti inclusi nello studio è stata eseguita nel 93.1% dei casi. Invece, la biopsia duodenale è stata eseguita nel 52.8% dei pazienti e la biopsia colica nel 51.4% dei pazienti. Negli individui con COVID sarebbe opportuno eseguire la biopsia durante tutti gli accertamenti endoscopici, sia a livello gastrico, che duodenale, che colico, per poter rilevare alterazioni istologiche anche in caso di un quadro endoscopico normale.

Bisogna sottolineare un limite del nostro studio dovuto al tempo trascorso dall'ultima endoscopia, infatti la mediana del tempo passato dall'ultima EGDS è di 18 mesi e dall'ultima colonscopia è di 27 mesi. Questo dato potrebbe giustificare l'assenza di una corrispondenza tra i dati endoscopici ed istologici e l'attività clinica o i dati di laboratorio. Per determinare l'adeguatezza degli esami non invasivi proposti dal protocollo nell'ottenere informazioni riguardo al quadro GI nei pazienti, sarebbe opportuna l'esecuzione più ravvicinata degli esami endoscopici ed istologici.

Per quanto concerne gli esami di laboratorio eseguiti nei pazienti che hanno accettato di partecipare al protocollo, si sottolinea la presenza di anemia nel 15% dei pazienti, di piastrinopenia nel 17.5% e di leucopenia nel 25% dei casi nonostante la mediana della conta linfocitaria nei limiti. Si pone l'attenzione sulla persistenza di ipogammaglobulinemia all'elettroforesi proteica in 12 soggetti (30%), di cui 8 sottoposti alla terapia con immunoglobuline. In base ai livelli sierici di IgG potrebbe essere necessario modificare la terapia negli 8 pazienti che assumono immunoglobuline ed iniziare il trattamento nei 4 soggetti che non le assumono.

In merito agli indici di flogosi, si evidenzia un aumento della PCR nel 17.9% dei soggetti e un aumento della calprotectina fecale, valutato in caso di valori > 50 mcg/g, nel 39.3% dei casi. Il rialzo della calprotectina non è risultato correlato ad alterazioni endoscopiche o istologiche né alla pregressa diagnosi di patologia gastrointestinale. Si suppone nuovamente che l'elevato numero di mesi trascorsi dall'ultima endoscopia possa motivare l'assenza di tale associazione.

Il GastroPanel® ha mostrato alterazioni di almeno uno degli indici considerati nella quasi totalità dei pazienti (91.4%), però nella maggior parte dei casi sono risultate aspecifiche. L'aumento della gastrina si è associato in maniera statisticamente significativa all'utilizzo di PPI, per cui potrebbe essere utile la sospensione di questo farmaco qualche giorno prima di effettuare il prelievo ematico. Solo in 5 pazienti il GastroPanel® ha documentato un quadro compatibile con atrofia gastrica, di cui uno aveva anche un precedente quadro istologico di gastrite atrofica all'ultima EGDS, mentre l'altro era stato sottoposto a gastrectomia totale per adenocarcinoma gastrico. Un altro paziente in cui era

emerso un quadro di atrofia gastrica all'ultima EGDS ha presentato un GastroPanel® normale. Con i limiti di esami endoscopici fatti tanti mesi prima del test e di numeri molto limitati di casi di atrofia (sia al GastroPanel® che alle precedenti EGDS), i risultati di questo studio al momento non sostengono l'utilizzo di questo test per il monitoraggio non invasivo delle lesioni gastriche precancerose. Ovviamente, i pazienti a cui è stata riscontrata possibile atrofia al GastroPanel® (ad eccezione del paziente gastrectomizzato) hanno ricevuto indicazione a ripetere quanto prima una gastroscopia con biopsie, e idealmente per poter validare tutti i test fatti questa indicazione dovrebbe essere estesa a tutti i pazienti inclusi nello studio.

La sierologia per Hp è risultata positiva in 11 soggetti (27.5%), ma di questi solo 3 presentavano una anamnesi positiva per infezione da Hp, mentre nei restanti 8 era negativa. Nei 7 pazienti con anamnesi nota di gastrite Hp-relata che hanno eseguito il GastroPanel®, 4 non hanno presentato aumento significativo degli anticorpi anti-Hp. I pazienti con CVID sono caratterizzati dalla riduzione dei livelli sierici di immunoglobuline, visto che proprio per l'immunodeficienza di base presentano una alterata produzione di anticorpi. Non sorprende, quindi, l'assenza di anticorpi anti-Hp nei pazienti con anamnesi positiva per gastrite Hp-relata.

D'altra parte, la sierologia anti-Hp è risultata positiva in 8 individui con anamnesi negativa per tale infezione. Anche in questo caso, è stata data indicazione ad eseguire esami di conferma (*Urea Breath Test* o EGDS, a seconda del quadro clinico). Se l'infezione non venisse confermata, questo dato potrebbe teoricamente essere la conseguenza della contaminazione con la terapia con immunoglobuline. In particolare, la falsa positività potrebbe essere dovuta alla presenza di anticorpi che resistono alla preparazione delle immunoglobuline e che persistono di più in circolo. È possibile che la presenza degli anticorpi contro i patogeni nelle immunoglobuline somministrate ai pazienti possa avere un effetto protettivo nei confronti delle infezioni, ma dati specifici sull'incidenza di infezione da Hp nei pazienti con CVID in terapia sostitutiva non ci sono.

La PCR per batteri e virus o protozoi su feci è risultata positiva in 12 soggetti (40% dei campioni refertati), una prevalenza superiore a quella del 20% circa riportata in altri studi, sebbene i dati in letteratura non siano tanti. (71) Questo esame,

tuttavia, è molto sensibile, perché può potenzialmente individuare residui di batteri non attivi. Il patogeno individuato più frequentemente è stato il *Blastocystis hominis* (5 casi), che in generale è considerato un saprofito che non necessita di terapia specifica a meno che non sia associato a quadri acuti di enterocolite non altrimenti spiegata. Sono stati rilevati anche *Campylobacter* (3 casi), *Norovirus* (2 casi), *Dientamoeba fragilis* (1 caso), *Giardia* (1 caso) e *Salmonella* (1 caso). Di questi anche il *Norovirus* non richiede trattamento specifico né ulteriori esami di accertamento, anche se in letteratura sono riportati casi di enterite refrattaria alla terapia medica con positività immunocitochimica al *Norovirus* su biopsie intestinali, che sono stati trattati con ribavirina con successo. (94) Negli altri casi è stata data indicazione a conferma dell'infezione tramite l'esecuzione di una coprocoltura; in caso di positività, bisognerà iniziare il trattamento antimicrobico specifico. Non è emersa alcuna differenza statisticamente significativa a livello immunofenotipico, farmacologico, laboratoristico o sintomatologico tra il gruppo di pazienti con PCR positiva e quelli in cui è risultata negativa (Tabella XII), per cui non è emerso alcun fattore di rischio per sovrainfezione intestinale nella nostra casistica di pazienti.

La quasi totalità di pazienti inclusi nel protocollo (97.5%) ha riportato la presenza di sintomi GI. La prevalenza riportata in letteratura, invece, è decisamente inferiore: in particolare, è stata del 40% nello studio condotto da Malamut *et al.*(64) e del 64% in quello realizzato da Maarschalk-Ellerbroek *et al.* (62) Si sottolinea, però, che il nostro studio ha considerato una popolazione di pazienti selezionata con una elevata prevalenza di patologie GI e non la popolazione globale di pazienti con COVID. Inoltre, anche il fatto di aver sottoposto un questionario specifico sui sintomi intestinali rispetto al ricavare retrospettivamente il dato potrebbe aver contribuito all'alta prevalenza di sintomi nella nostra coorte di malati.

I sintomi rilevati più frequentemente sono stati meteorismo (70%), diarrea (55%) e dolore addominale (45%). È interessante osservare la correlazione del dolore addominale con la riduzione della emoglobina e l'aumento della calprotectina fecale. Questo sintomo è anche risultato associato a una maggiore frequenza di sierologia Hp positiva e ad alterazioni istologiche duodenali, anche se in maniera

non statisticamente significativa. Anche nel caso del meteorismo si è osservata una correlazione statisticamente significativa a ridotti livelli di emoglobina e ad aumentata calprotectina fecale, mentre l'associazione con una sierologia Hp positiva non è stata statisticamente significativa. I soggetti che lamentavano diarrea non hanno presentato particolari differenze rispetto al gruppo di pazienti senza questo sintomo, se non per una maggiore prevalenza di alterazioni istologiche alla colonscopia. Da questi risultati preliminari si potrebbe dedurre come sia possibile identificare dei sintomi di allarme ("red flags") anche in questa categoria particolare di malati per aiutare nell'iter diagnostico, soprattutto nel dare indicazione ad accertamenti endoscopici invasivi. La diarrea, in generale, non è risultata un sintomo di allarme, perché non associata ad alterazioni degli esami di laboratorio; tuttavia, la raccolta dei dati su questo sintomo è stata solo descrittiva e non ne sono state descritte le caratteristiche precise, come per esempio il numero di evacuazioni quotidiane, la consistenza delle feci o la presenza di scariche notturne.

Per quanto riguarda gli altri sintomi, si osserva che la rettorragia, che di solito è un sintomo di allarme, non si è associata ad un aumento della calprotectina fecale. Sempre dal punto di vista sintomatologico, è interessante notare come i soggetti con PCR su feci positiva non hanno riportato una maggiore comparsa di febbre o altri particolari sintomi da gastroenterite acuta, quali nausea, vomito o diarrea, rispetto ai pazienti con PCR negativa. Questo da un lato potrebbe significare che in questi pazienti le sovrainfezioni possono non peggiorare il quadro clinico, ma dall'altro il test utilizzato è molto sensibile per cui potrebbe trattarsi di falsi positivi. Per la conferma diagnostica di infezione gastrointestinale, infatti, i pazienti sono stati tutti invitati ad eseguire una coprocoltura, tuttora in corso, sulla base della quale verrà data anche l'eventuale indicazione al trattamento specifico. La qualità della vita dei pazienti che hanno partecipato al protocollo è stata indagata tramite la somministrazione di un questionario specifico per i pazienti con CVID. Il questionario CVID\_QoL indaga le sfere emotiva e relazionale e la presenza di sintomi gastrointestinali e cutanei; i pazienti che ottengono punteggi più alti presentano una maggiore disabilità. Dai nostri dati emerge come la presenza di sintomi GI influisce notevolmente sulla qualità della vita; in

particolare, nei pazienti che hanno riportato dolore addominale, diarrea e meteorismo si sono osservati punteggi più alti al CVID\_QoL in maniera statisticamente significativa. Anche il sesso femminile e la presenza già documentata di patologie GI hanno contribuito alla riduzione della qualità della vita, ma non in modo statisticamente significativo. Infine, l'alterazione del GastroPanel® non ha influenzato negativamente la qualità della vita, sottolineando come le alterazioni di questo test siano aspecifiche in molti casi.

Questo studio presenta diversi limiti. Innanzitutto, uno dei limiti più importanti è rappresentato dalla data di esecuzione dell'ultimo esame endoscopico: la mediana dell'ultima EGDS è risultata di un anno e mezzo, mentre quella dell'ultima colonscopia è risultata superiore ai due anni. In questo intervallo di tempo potrebbe essere avvenuto un cambiamento del quadro gastrointestinale nei pazienti presi in esame che rende complessa l'associazione dei risultati dei test non invasivi previsti dal protocollo con i pregressi referti endoscopici ed istologici. Questo vale soprattutto per la presenza di flogosi intestinale, mentre dal punto di vista dell'atrofia ci si aspetterebbe una stazionarietà o al massimo un peggioramento del quadro nel corso del tempo. Nonostante, quindi, la scarsa concordanza emersa da questi dati, ci sono le basi per realizzare uno studio prospettico osservazionale in cui tutti questi test non invasivi vengano ripetuti pochi giorni prima di un esame endoscopico, così da avere un dato temporalmente valido.

Uno altro limite è dovuto alla esigua numerosità degli individui che hanno accettato di partecipare al protocollo. Questo è in parte dovuto al fatto che ai pazienti è stato chiesto di venire un giorno in più esclusivamente per lo studio. Programmando gli esami in occasione delle visite o degli esami endoscopici, questo *bias* si potrebbe ridimensionare. Inoltre, essendo il Centro di Immunologia Clinica del Ca' Foncello un centro di riferimento terziario a cui afferiscono pazienti con malattie immunologiche rare da tutta Italia, molti pazienti convocati hanno rifiutato proprio per la lontananza. Questo limite rappresenta al tempo stesso un punto di forza per lo studio, perché in una programmazione prospettica di arruolamento si potrebbe avere una casistica più numerosa con dati robusti su una patologia che continua ad essere considerata rara.

Infine, un altro limite importante del nostro studio è l'assenza di un gruppo controllo per il confronto, soprattutto sulla prevalenza dei sintomi gastrointestinali e sulla qualità della vita.

## Conclusioni

Lo studio ha considerato una popolazione selezionata di pazienti con immunodeficienza comune variabile (CVID), una malattia immunologica rara. In questi soggetti non è risultata una correlazione tra gli esiti degli esami non invasivi previsti dal protocollo e il quadro endoscopico o istologico descritto in occasione dell'ultima endoscopia, né con la pregressa diagnosi di patologia gastrointestinale. In base ai dati preliminari, risulta necessaria l'esecuzione di studi su casistiche più ampie e con prelievo eseguito in occasione dell'indagine endoscopica, così da avere un dato temporalmente valido, per poter confermare quanto emerso dal nostro studio.

Sulla base della elevata prevalenza di alterazioni istologiche che è stata osservata in questi soggetti, si conferma l'indicazione all'esecuzione delle biopsie in occasione delle procedure endoscopiche, anche in caso di un quadro endoscopico privo di alterazioni, dato che questo non esclude la presenza di anomalie a livello istologico.

Infine, in base ai dati emersi dallo studio che confermano un'ampia prevalenza di disturbi GI nei pazienti con CVID con significativo impatto negativo sulla loro qualità di vita, è fortemente raccomandato indagare con domande specifiche l'eventuale presenza di sintomatologia GI in questo particolare *setting* clinico-immunologico.

## Bibliografia

1. Huq M, Bhatnagar N, Hostoffer R. Hypogammaglobulinemia. StatPearls [Internet]; 2022.
2. Casanova J, Abel L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy. *Science* (1979). 2007;
3. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. Vol. 4, *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology; 2016. p. 38–59.
4. Zhang Q, Frange P, Blanche S, Casanova JL. Pathogenesis of infections in HIV-infected individuals: Insights from primary immunodeficiencies [Internet]. Vol. 48, *Curr Opin Immunol*. 2017. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>
5. Bruton O. Agammaglobulinemia. *Pediatrics*. 1952;
6. Raje N, Dinakar C. Overview of Immunodeficiency Disorders. Vol. 35, *Immunology and Allergy Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2015. p. 599–623.
7. Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2018 Jan 1;38(1):96–128.
8. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, Ailal F, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, et al. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol*. 2018 Jan 1;38(1):129–43.
9. Jameson L, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 20th ed. Vol. 2. McGraw-Hill Education ; 2018. 2488–2496 p.
10. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Chatila T, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2020 Jan 1;40(1):24–64.
11. de Vries E, Alvarez Cardona A, Abdul Latiff AH, Badolato R, Brodzski N, Cant AJ, et al. Patient-centred screening for primary immunodeficiency, a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists: 2011 update. *Clin Exp Immunol*. 2012 Jan;167(1):108–19.

12. Modell V, Knaus M, Modell F, Roifman C, Orange J, Notarangelo LD. Global overview of primary immunodeficiencies: a report from Jeffrey Modell Centers worldwide focused on diagnosis, treatment, and discovery. *Immunol Res.* 2014 Oct 1;60(1):132–44.
13. Modell V, Quinn J, Orange J, Notarangelo LD, Modell F. Primary immunodeficiencies worldwide: an updated overview from the Jeffrey Modell Centers Global Network. *Immunol Res.* 2016 Jun 1;64(3):736–53.
14. Tarzi MD, Grigoriadou S, Carr SB, Kuitert LM, Longhurst HJ. Clinical immunology review series: An approach to the management of pulmonary disease in primary antibody deficiency. Vol. 155, *Clinical and Experimental Immunology*. 2009. p. 147–55.
15. Yel L. Selective IgA Deficiency. Vol. 30, *Journal of Clinical Immunology*. 2010. p. 10–6.
16. Modell V, Orange JS, Quinn J, Modell F. Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on disease classification, regional trends, treatment modalities, and physician reported outcomes. *Immunol Res.* 2018 Jun 1;66(3):367–80.
17. Agarwal S, Mayer L. Diagnosis and Treatment of Gastrointestinal Disorders in Patients With Primary Immunodeficiency. Vol. 11, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2013. p. 1050–63.
18. Agarwal S, Cunningham-Rundles C. Gastrointestinal Manifestations and Complications of Primary Immunodeficiency Disorders. Vol. 39, *Immunology and Allergy Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2019. p. 81–94.
19. Sanchez LA, Maggadottir SM, Pantell MS, Lugar P, Rundles CC, Sullivan KE, et al. Two Sides of the Same Coin: Pediatric-Onset and Adult-Onset Common Variable Immune Deficiency. *J Clin Immunol.* 2017 Aug 1;37(6):592–602.
20. Martinez-Gallo M, Radigan L, Almejún MB, Martínez-Pomar N, Matamoros N, Cunningham-Rundles C. TACI mutations and impaired B-cell function in subjects with CVID and healthy heterozygotes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2013 Feb;131(2):468–76.
21. Kutukculer N, Gulez N, Karaca NE, Aksu G, Berdeli A. Three different classifications, B lymphocyte subpopulations, TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFF-R), TNFSF13 (APRIL) gene mutations, CTLA-4 and ICOS gene polymorphisms in turkish patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2012 Dec;32(6):1165–79.

22. Romberg N, Chamberlain N, Saadoun D, Gentile M, Kinnunen T, Ng YS, et al. COVID-associated TACI mutations affect autoreactive B cell selection and activation. *Journal of Clinical Investigation*. 2013 Oct 1;123(10):4283–93.
23. Azizi G, Rezaei N, Kiaee F, Tavakolinia N, Yazdani R, Mirshafiey A, et al. T-cell abnormalities in common variable immunodeficiency. Vol. 26, *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. ESMON Publicidad S.A.; 2016. p. 233–43.
24. Rae W. Indications to Epigenetic Dysfunction in the Pathogenesis of Common Variable Immunodeficiency. Vol. 65, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. Birkhauser Verlag AG; 2017. p. 101–10.
25. Rodríguez-Cortez VC, del Pino-Molina L, Rodríguez-Ubreva J, Ciudad L, Gómez-Cabrero D, Company C, et al. Monozygotic twins discordant for common variable immunodeficiency reveal impaired DNA demethylation during naïve-to-memory B-cell transition. *Nat Commun*. 2015 Jun 17;6.
26. Zhou H, Hu H, Lai M. Non-coding RNAs and their epigenetic regulatory mechanisms. *Biol Cell*. 2010 Dec;102(12):645–55.
27. Ahn S, Cunningham-Rundles C. Role of B cells in common variable immune deficiency. Vol. 5, *Expert Review of Clinical Immunology*. 2009. p. 557–64.
28. Warnatz K, Schlesier M. Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency. Vol. 74, *Cytometry Part B - Clinical Cytometry*. 2008. p. 261–71.
29. Martin Holm A, Aukrust P, Martin Aandahl E, Müller F, Taskén K, Frøland SS. Impaired Secretion of IL-10 by T Cells from Patients with Common Variable Immunodeficiency-Involvement of Protein Kinase A Type I 1 [Internet]. Vol. 170, *CVID. The Journal of Immunology*. 2003. Available from: <http://journals.aai.org/jimmunol/article-pdf/170/11/5772/1161683/5772.pdf>
30. Bateman EAL, Ayers L, Sadler R, Lucas M, Roberts C, Woods A, et al. T cell phenotypes in patients with common variable immunodeficiency disorders: Associations with clinical phenotypes in comparison with other groups with recurrent infections. *Clin Exp Immunol*. 2012 Nov;170(2):202–11.
31. Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Galicier L, Lepelletier Y, Webster D, et al. Common variable immunodeficiency is associated with defective functions of dendritic cells. *Blood*. 2004 Oct 15;104(8):2441–3.
32. Aspalter RM, Sewell WAC, Dolman K, Farrant J, Webster ADB. Deficiency in circulating natural killer (NK) cell subsets in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinaemia. Vol. 121, *Clin Exp Immunol*. 2000.

33. Yazdani R, Habibi S, Sharifi L, Azizi G, Abolhassani H, Olbrich P, et al. Common variable immunodeficiency: Epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, classification, and management. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2020;30(1):14–34.
34. Ameratunga R, Brewerton M, Slade C, Jordan A, Gillis D, Steele R, et al. Comparison of diagnostic criteria for Common Variable Immunodeficiency Disorder. *Front Immunol*. 2014;5(AUG).
35. de Vries E, Driessen G. Educational paper: Primary immunodeficiencies in children: A diagnostic challenge. Vol. 170, *European Journal of Pediatrics*. 2011. p. 169–77.
36. Reust CE. Evaluation of Primary Immunodeficiency Disease in Children [Internet]. Vol. 87. 2013. Available from: [www.aafp.org/afpAmericanFamilyPhysician773](http://www.aafp.org/afpAmericanFamilyPhysician773)
37. Stray-Pedersen A, Sorte HS, Samarakoon P, Gambin T, Chinn IK, Coban Akdemir ZH, et al. Primary immunodeficiency diseases: Genomic approaches delineate heterogeneous Mendelian disorders. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017 Jan 1;139(1):232–45.
38. Abolhassani H, Aghamohammadi A, Fang M, Rezaei N, Jiang C, Liu X, et al. Clinical implications of systematic phenotyping and exome sequencing in patients with primary antibody deficiency. *Genetics in Medicine*. 2019 Jan 1;21(1):243–51.
39. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E, et al. The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. 2008; Available from: [www.esid.org](http://www.esid.org)
40. Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. 2008;
41. Chapel H, Lucas M, Patel S, Lee M, Cunningham-Rundles C, Resnick E, et al. Confirmation and improvement of criteria for clinical phenotyping in common variable immunodeficiency disorders in replicate cohorts. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012;130(5).
42. Gathmann B, Mahlaoui N, Gérard L, Oksenhendler E, Warnatz K, Schulze I, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014;134(1).

43. Patuzzo G, Barbieri A, Tinazzi E, Veneri D, Argentino G, Moretta F, et al. Autoimmunity and infection in common variable immunodeficiency (CVID). Vol. 15, *Autoimmunity Reviews*. Elsevier B.V.; 2016. p. 877–82.
44. Chapel H, Cunningham-Rundles C. Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions. Vol. 145, *British Journal of Haematology*. 2009. p. 709–27.
45. Yazdani R, Abolhassani H, Asgardoost M, Shaghghi M, Modaresi M, Azizi G, et al. Infectious and noninfectious pulmonary complications in patients with primary immunodeficiency disorders. Vol. 27, *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. ESMON Publicidad S.A.; 2017. p. 213–24.
46. Kainulainen L, Vuorinen T, Rantakokko-Jalava K, Österback R, Ruuskanen O. Recurrent and persistent respiratory tract viral infections in patients with primary hypogammaglobulinemia. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010 Jul;126(1):120–6.
47. Oksenhendler E, Gérard L, Fieschi C, Malphettes M, Mouillot G, Jaussaud R, et al. Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency. *Clinical Infectious Diseases*. 2008 May 15;46(10):1547–54.
48. Sarmiento E, Mora R, Rodríguez-Mahou M, Rodríguez-Molina J, Fernández-Cruz E, Carbone J. Enfermedad autoinmune en inmunodeficiencias primarias de anticuerpos. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2005;33(2):69–73.
49. Boileau J, Mouillot G, Gérard L, Carmagnat M, Rabian C, Oksenhendler E, et al. Autoimmunity in common variable immunodeficiency: Correlation with lymphocyte phenotype in the French DEFI study. *J Autoimmun*. 2011 Feb;36(1):25–32.
50. Xiao X, Miao Q, Chang C, Gershwin ME, Ma X. Common variable immunodeficiency and autoimmunity - an inconvenient truth. Vol. 13, *Autoimmunity Reviews*. Elsevier; 2014. p. 858–64.
51. Kofod-Olsen E, Jørgensen SE, Nissen SK, Westh L, Møller BK, Østergaard L, et al. Altered fraction of regulatory B and T cells is correlated with autoimmune phenomena and splenomegaly in patients with CVID. *Clinical Immunology*. 2016 Jan 1;162:49–57.
52. Baldovino S, Montin D, Martino S, Sciascia S, Menegatti E, Roccatello D. Common variable immunodeficiency: Crossroads between infections, inflammation and autoimmunity. Vol. 12, *Autoimmunity Reviews*. 2013. p. 796–801.

53. Pulvirenti F, Pecoraro A, Cinetto F, Milito C, Valente M, Santangeli E, et al. Gastric cancer is the leading cause of death in Italian adult patients with common variable immunodeficiency. *Front Immunol*. 2018 Nov 5;9(NOV).
54. Resnick ES, Moshier EL, Godbold JH, Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood* [Internet]. 2012;119(7):1650–7. Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/119/7/1650/1356365/zh800712001650.pdf>
55. Agondi R, Barros M, Rizzo L, Kalil J, Giavina-Bianchi P. Allergic asthma in patients with common variable immunodeficiency. *Allergy*. 2010;
56. Yazdani R, Heydari A, Azizi G, Abolhassani H, Aghamohammadi A. Asthma and Allergic Diseases in a Selected Group of Patients With Common Variable Immunodeficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2016;
57. Nguyen JTU, Green A, Wilson MR, DeRisi JL, Gundling K. Neurologic Complications of Common Variable Immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2016 Nov 1;36(8):793–800.
58. Ward C, Lucas M, Piris J, Collier J, Chapel H. Abnormal liver function in common variable immunodeficiency disorders due to nodular regenerative hyperplasia. *Clin Exp Immunol*. 2008 Sep;153(3):331–7.
59. Uzzan M, Ko HM, Mehandru S, Cunningham-Rundles C. Gastrointestinal Disorders Associated with Common Variable Immune Deficiency (CVID) and Chronic Granulomatous Disease (CGD). Vol. 18, *Current Gastroenterology Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2016.
60. Daniels JA, Lederman HM, Maitra A, Montgomery EA. Gastrointestinal Tract Pathology in Patients With Common Variable Immunodeficiency (CVID) A Clinicopathologic Study and Review. 2007.
61. Zullo A, Romiti A, Rinaldi V, Vecchione A, Tomao S, Aiuti F, et al. Gastric pathology in patients with common variable immunodeficiency. *Gut*. 1999;45(1):77–81.
62. Maarschalk-Ellerbroek LJ, Oldenburg B, Monbers IMH, Hoepelman AIM, Brosens LAA, Offerhaus GJA. Outcome of screening endoscopy in common variable immunodeficiency disorder and X-linked agammaglobulinemia. *Endoscopy*. 2013;45:320-3.
63. Pikkarainen S, Martelius T, Ristimäki A, Siitonen S, Seppänen MRJ, Färkkilä M. A High Prevalence of Gastrointestinal Manifestations in Common Variable Immunodeficiency. *American Journal of Gastroenterology*. 2019 Apr 1;114(4):648–55.

64. Malamut G, Verkarre V, Suarez F, Viallard JF, Lascaux AS, Cosnes J. The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: the delineated frontiers with celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2010;105:2262-75.
65. Choi JH, Han DS, Kim J, Yi K, Oh YH, Kim Y. Diffuse nodular lymphoid hyperplasia of the intestine caused by common variable immunodeficiency and refractory giardiasis. *Internal Medicine*. 2017;56(3):283-7.
66. Woodward J, Gkrania-Klotsas E, Kumararatne D. Chronic norovirus infection and common variable immunodeficiency. Vol. 188, *Clinical and Experimental Immunology*. Blackwell Publishing Ltd; 2017. p. 363-70.
67. Mormile I, Punziano A, Riolo CA, Granata F, Williams M, de Paulis A, et al. Common Variable Immunodeficiency and Autoimmune Diseases: A Retrospective Study of 95 Adult Patients in a Single Tertiary Care Center. *Front Immunol*. 2021 Jul 5;12.
68. Ruffner MA, Sullivan KE. Complications Associated with Underweight Primary Immunodeficiency Patients: Prevalence and Associations Within the USIDNET Registry. *J Clin Immunol*. 2018 Apr 1;38(3):283-93.
69. Jørgensen SF, Reims HM, Frydenlund D, Holm K, Paulsen V, Michelsen AE, et al. A Cross-Sectional Study of the Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Pathology in Patients with Common Variable Immunodeficiency. *American Journal of Gastroenterology*. 2016 Oct 1;111(10):1467-75.
70. Pehlivanoğlu B, Ardeniz Ö, Hassoy H, Sezak M, Özdemir H, Ünal NG, et al. Gastrointestinal findings in 26 adults with common variable immunodeficiency: The fickle nature of the disease manifests in gastrointestinal biopsies. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2019;30(9):789-800.
71. van Schewick CM, Lowe DM, Burns SO, Workman S, Symes A, Guzman D, et al. Bowel Histology of CVID Patients Reveals Distinct Patterns of Mucosal Inflammation. *J Clin Immunol*. 2022 Jan 1;42(1):46-59.
72. Teahon K, Webster AD, Price AB, Weston J, Bjarnason I. Studies on the enteropathy associated with primary hypogammaglobulinaemia. Vol. 35, *Gut*. 1994.
73. Khodadad A, Aghamohammadi A, Parvaneh N, Rezaei N, Mahjoob F, Bashashati M, et al. Gastrointestinal manifestations in patients with common variable immunodeficiency. *Dig Dis Sci*. 2007 Nov;52(11):2977-83.

74. Hermans PE, Huizenga KA, Brown Jr AL, Markowitz H. Dysgammaglobulinemia associated with nodular lymphoid hyperplasia of the small intestine. *Am J Med.* 1966;
75. Dhalla F, da Silva SP, Lucas M, Travis S, Chapel H. Review of gastric cancer risk factors in patients with common variable immunodeficiency disorders, resulting in a proposal for a surveillance programme. Vol. 165, *Clinical and Experimental Immunology.* 2011. p. 1–7.
76. Leone P, Vacca A, Dammacco F, Racanelli V. Common variable immunodeficiency and gastric malignancies. Vol. 19, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG; 2018.
77. Algood HMS. T Cell Cytokines Impact Epithelial Cell Responses during *Helicobacter pylori* Infection . *The Journal of Immunology.* 2020 Mar 15;204(6):1421–8.
78. Everhart JE, Kruszon-Moran D, Perez-Perez GI, Tralka TS, Mcquillan G. Seroprevalence and Ethnic Differences in *Helicobacter pylori* Infection among Adults in the United States [Internet]. Vol. 181, *The Journal of Infectious Diseases.* 2000. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article/181/4/1359/856832>
79. Motta-Raymundo A, Rosmaninho P, Santos DF, Ferreira RD, Silva SP, Ferreira C, et al. Contribution of *Helicobacter pylori* to the Inflammatory Complications of Common Variable Immunodeficiency. *Front Immunol.* 2022 May 31;13.
80. Coelho MCF, Ribeiro HG, Gomes CGDO, Marinho FP, Barbosa AJA, Coelho LGV. *Helicobacter pylori* chronic gastritis on patients with premalignant conditions: Olga and olgim evaluation and serum biomarkers performance. *Arq Gastroenterol.* 2021;58(1):39–47.
81. Rugge M, Meggio A, Pennelli G, Pisciole F, Giacomelli L, de Pretis G, et al. Gastritis staging in clinical practice: The OLGA staging system. *Gut.* 2007 May;56(5):631–6.
82. Iijima K, Sekine H, Koike T, Imatani A, Ohara S, Shimosegawa T. Serum pepsinogen concentrations as a measure of gastric acid secretion in *Helicobacter pylori*-negative and -positive Japanese subjects. *J Gastroenterol.* 2005 Oct;40(10):938–44.
83. Loo A, Dumitraşcu DL. *Helicobacter pylori* Infection, Gastric Cancer and Gastropanel. Vol. 54, *Romanian journal of internal medicine = Revue roumaine de medecine interne.* 2016. p. 151–6.
84. Mattar R, Marques SB, Ribeiro IB, Visconti TA de C, Funari M, de MOURA EGH. Diagnostic accuracy of gastropanel® for atrophic gastritis in brazilian

- subjects and the effect of proton pump inhibitors. *Arq Gastroenterol*. 2020 Apr 1;57(2):154–60.
85. Iijima K, Abe Y, Kikuchi R, Koike T, Ohara S, Sipponen P, et al. Serum biomarker tests are useful in delineating between patients with gastric atrophy and normal, healthy stomach. *World J Gastroenterol*. 2009 Feb 21;15(7):853–9.
  86. Salehzadeh M, Aghamohammadi A, Rezaei N. Evaluation of Immunoglobulin Levels and Infection Rate in Patients with Common Variable Immunodeficiency After Immunoglobulin Replacement Therapy. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2010 Feb;43(1):11–7.
  87. Quinti I, Pierdominici M, Marziali M, Giovannetti A, Donnanno S, Chapel H, et al. European surveillance of immunoglobulin safety - Results of initial survey of 1243 patients with primary immunodeficiencies in 16 countries. *Clinical Immunology*. 2002;104(3):231–6.
  88. Azizi G, Ziaee V, Tavakol M, Alinia T, Yazdai R, Mohammadi H, et al. Approach to the Management of Autoimmunity in Primary Immunodeficiency. Vol. 85, *Scandinavian Journal of Immunology*. Blackwell Publishing Ltd; 2017. p. 13–29.
  89. Wehr C, Gennery AR, Lindemans C, Schulz A, Hoenig M, Marks R, et al. Multicenter experience in hematopoietic stem cell transplantation for serious complications of common variable immunodeficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015 Apr 1;135(4):988-997.e6.
  90. Andersen JB, Midttun K, Feragen KJB. Measuring quality of life of primary antibody deficiency patients using a disease-specific health-related quality of life questionnaire for common variable immunodeficiency (CVID\_QoL). *J Patient Rep Outcomes*. 2019 Dec 1;3(1).
  91. The Jamovi project (2022). Jamovi. (Version 2.3) [Computer Software]. Retrieved from <https://jamovi.org>.
  92. <https://www.gastropanel.com/it/professionale/i-risultati-del-test>.
  93. Jørgensen SF, Reims HM, Frydenlund D, Holm K, Paulsen V, Michelsen AE, et al. A Cross-Sectional Study of the Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Pathology in Patients with Common Variable Immunodeficiency. *American Journal of Gastroenterology*. 2016 Oct 1;111(10):1467–75.
  94. Woodward JM, Gkrania-Klotsas E, Cordero-Ng AYK, Aravinthan A, Bandoh BN, Liu H, et al. The role of chronic norovirus infection in the enteropathy associated with common variable immunodeficiency. *American Journal of Gastroenterology*. 2015 Feb 5;110(2):320–7.