

# Diabete e celiachia

Raffaella Buzzetti, Marco Capizzi

Dipartimento di Scienze Cliniche, Università "Sapienza" di Roma, UOC di Diabetologia, Ospedale S.M.Goretti, Latina

## Introduzione

La celiachia è una malattia intestinale cronica causata dall'ipersensibilità alle prolamine, le proteine ricche di glutamina e prolina contenute nel grano, nella segale e nell'orzo.

L'identificazione di marcatori sierologici di semplice esecuzione ha determinato una radicale ridefinizione di questa malattia su base patogenetica più che meramente sintomatica. Nel frattempo, a partire dagli anni '60, la malattia celiaca iniziava ad essere accostata al diabete di tipo 1, prima dal punto di vista epidemiologico e poi anche fisiopatologico grazie all'identificazione delle fasi principali nel percorso di elaborazione dell'antigene e della relativa risposta immune. La perdita della funzione di barriera intestinale, secondaria alla sovraespressione della zonulina (proteina di regolazione delle giunzioni strette intestinali) e/o allo stato infiammatorio, permetterebbe il continuo passaggio di antigeni non self (come il glutine) in grado di determinare una reazione autoimmune direttamente o successiva alla modifica da parte della transglutaminasi. Ciò avverrebbe in quegli individui in cui specifici determinanti genetici (sia HLA sia non HLA) causano una inappropriata presentazione antigenica a livello del *gut associated lymphoid tissue* (GALT). Dal punto di vista epidemiologico la significativa associazione tra il diabete tipo 1 e la celiachia ha posto il quesito relativo allo screening della celiachia in pazienti con diabete tipo 1.

La panoramica degli studi riguardanti la prevenzione e la terapia della malattia celiaca nei pazienti con diabete tipo 1 è ancora limitata a causa dei notevoli problemi di applicazione clinica dovuti alla non sufficiente conoscenza di predittori precoci di sviluppo di malattia nonché alle difficoltà di instaurazione di un trattamento dietetico in bambini sani e a incerto sviluppo di malattia o malati e già sottoposti ai notevoli stress psichici di una dieta restrittiva.

## Celiachia

### Ridefinizione dell'entità nosologica

La prima osservazione che mise in evidenza un legame tra la celiachia e il suo agente eziologico ambientale risale agli anni '50 quando Dicke descrisse in un primo tempo la riduzione della diarrea nei soggetti celiaci durante la II guerra mondiale e quindi la ripresa della sintomatologia in seguito al piano ausiliare svedese che aveva fornito farina di grano agli olandesi.

Attualmente la celiachia è definita come una malattia intestinale cronica causata dall'ipersensibilità alle prolamine, le proteine ricche di glutamina e prolina contenute nel grano, nella segale e nell'orzo [il ruolo dell'avena è attualmente in discussione (1)]. Nel corso degli anni il progredire delle conoscenze riguardanti la celiachia ha determinato la ridefinizione delle forme con cui questa malattia si può presentare. Se negli anni '70 i criteri ESPGAN (Società Europea di Gastroenterologia Pediatrica) erano per lo più basati su un approccio semeiotico tanto da permettere di definire la diagnosi di celiachia come "classica" (2), nella seconda metà degli anni '80 si è passati alla diagnosi "contemporanea" grazie all'identificazione di marcatori anticorpali di semplice rilevazione (3).

Ad oggi, gli anticorpi più utilizzati sono gli EMA (anticorpi anti-endomisio: sensibilità 90%, specificità 99%), i tTGA (anticorpi anti-transglutaminasi: sensibilità 93%, specificità 95%) e gli AGA (anticorpi anti-gliadina: sensibilità 86-94%, specificità 70-87%) (4).

L'endoscopia è utile per documentare l'atrofia della mucosa digiunale nella celiachia attiva, mentre l'esame istologico continua a rappresentare il *gold standard* per la diagnosi. È ormai chiaro che alcune caratteristiche istologiche, come i cambiamenti dell'architettura villare o delle cripte, la densità delle cellule della lamina propria e la conta dei linfociti intraepiteliali (IEL), costituiscono un *continuum* con la classica lesione di

mucosa piatta che si trova all'estremo di questo spettro di lesioni la cui base di partenza è la normale architettura villare. È importante notare che spesso l'unica anomalia in una mucosa con normale architettura villare è la presenza di un aumentato numero di IEL (5). Gli attuali strumenti diagnostici hanno permesso di ridefinire le entità nosologiche nel seguente modo (Tabella 1): le forme cliniche che appartengono alla celiachia classica sono rimaste inalterate e continuano ad essere distinte in malattia conclamata o *sprue* e malattia paucisintomatica che insieme rappresentano il 10% delle attuali diagnosi di celiachia. Nei soggetti adulti o post-adolescenti la prima forma si presenta con una sintomatologia importante, quale diarrea, steatorrea, perdita di peso, affaticamento e anemia, mentre la seconda con una sintomatologia lieve, quale tensione addominale e dispepsia.

A fianco a queste entità nosologiche è comparsa la celiachia subclinica a sua volta caratterizzata da vari sottotipi che, a seconda delle diverse classificazioni, assumono differenti nomi e rappresentano diverse combinazioni di criteri diagnostici. Nel sistema classificatorio sono riportate le seguenti forme: quella extra-intestinale o atipica (23,2% dei celiaci) è contraddistinta dalla presenza di sintomi non gastrointestinali quali anovulatorietà, infertilità e aborti spontanei, disordini neurologici ed epilessia, disfunzioni epatocellulari; la forma silente è presente nel 10-15% dei parenti di I

grado, è asintomatica ma presenta marcatori sierologici e istologici positivi a differenza della forma latente, caratterizzata dalla positività per la sola sierologia. Infine, la celiachia è definita potenziale quando si riscontri la mera suscettibilità genetica senza danni alla mucosa (6).

Nel tempo, il rapporto delle frequenze relative dei due gruppi principali di celiachia, classica e subclinica che risultava a favore della forma classica sulla subclinica, si è modificato grazie a test diagnostici sempre più sensibili, fino a invertirsi (7).

Attualmente, le forme subcliniche interessano il 90% dei pazienti celiaci (0,45% su 0,5% della popolazione generale), permettendo di elaborare un modello di malattia tipo *iceberg*.

La quota dei subclinici non si modifica se esaminata separatamente nei bambini e negli adulti, nonostante l'innalzamento dell'età di diagnosi verificatosi a partire dagli anni '70. Ciò rende probabile l'ipotesi che i tratti del celiaco si sviluppino comunque precocemente nell'infanzia anche in coloro che saranno diagnosticati solamente in età adulta (1).

### Ridefinizione dei percorsi patogenetici

Storicamente, dagli anni '50 è noto che soggetti geneticamente predisposti che ingeriscono le proteine dei cereali possono sviluppare una enteropatia infiammatoria caratterizzata da proliferazione intraepiteliale di linfociti, iperplasia delle cripte e parziale o completa atrofia dei piccoli villi intestinali (1).

Negli ultimi tempi si è venuto a delineare un modello eziopatogenetico più completo che prevede il seguente iter (1) (Figura 1): il glutine, una volta entrato nel sistema digerente umano, viene parzialmente digerito con l'eccezione delle sequenze tossiche chiave che sono resistenti alle proteasi intestinali e che agiranno secondo due differenti modalità, diretta e mediata dal sistema immunitario. Nel primo caso il peptide del glutine (p31-43/49), attraversata la mucosa intestinale, potrà stimolare direttamente gli enterociti delle cellule dendritiche (DC) a produrre IL-15. Quest'ultima aumenterà l'espressione del MICA (una molecola di stress presente sugli enterociti) e i recettori NKG2D sui linfociti intraepiteliali. L'interazione di tali cellule porterà alla distruzione degli enterociti e, in definitiva, all'atrofia dei villi.

Gli effetti diretti della gliadina sugli enterociti potrebbero anche consistere nell'aumento diretto della permeabilità intestinale attraverso il rilascio di zonuli-

Tabella 1 **Classificazione celiachia**

#### Celiachia: sottotipi

##### Diagnosi classica (celiachia classica: 10% dei celiaci)

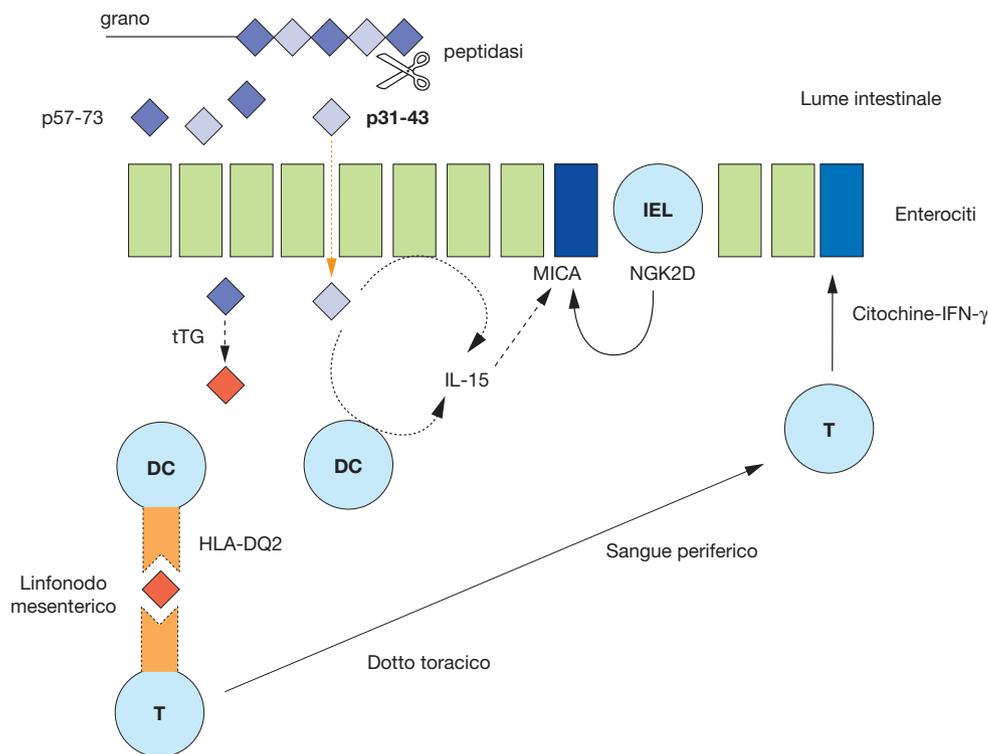
- Malattia conclamata o *sprue*: sintomatologia importante quale diarrea, steatorrea, perdita di peso, affaticamento e anemia
- Malattia paucisintomatica o monosintomatica: sintomatologia lieve quali fastidi addominali, gonfiore addominale, dispepsia

##### Diagnosi contemporanea (celiachia subclinica: 90% dei celiaci)

- Extra-intestinale o atipica (23,2% dei celiaci): sintomi non gastrointestinali
- Silente (10-15% dei parenti di I grado): asintomatica con sierologia e biopsia positiva
- Latente: asintomatica con sola sierologia positiva
- Potenziale: suscettibilità genetica ma senza danni alla mucosa

Mod. da (6).

Figura 1 Meccanismi patogenetici della malattia celiaca



Il glutine del grano è parzialmente digerito ma le sequenze tossiche sono resistenti alle proteasi intestinali. Un peptide del glutine (p31-43/49) può indurre direttamente la produzione di interleuchina (IL)-15 da enterociti e da DC, ma i dettagli precisi non sono ancora noti. Un altro peptide del glutine (p57-73) è deaminato dalle transglutaminasi tissutali (tTG) e presentato alle cellule T dall'HLA-DQB1\*02 sulle cellule presentanti l'antigene (APC). L'evento iniziale si verifica nei linfonodi mesenterici anche se l'importanza della presentazione nella mucosa resta incerta. La tossicità a carico dell'epitelio avviene grazie ad almeno due meccanismi: il rilascio di citochine (specialmente interferone (IFN)- $\gamma$  da cellule T antigene specifiche e tramite un meccanismo diretto ad opera degli IEL grazie all'interazione MICA (MHC class I chain-related gene A)-NKG2D (natural killer group 2, member D).

na, una molecola di recente studio, in grado di regolare l'ampiezza delle giunzioni intercellulari strette (TJs). Nel meccanismo patogenetico immunomediato si assiste all'azione di un altro peptide, derivato dal glutine (p57-73), il quale viene deaminato dalla tTG e, quindi, presentato alla cellula T sull'HLA-DQB1\*02 dalle cellule presentanti l'antigene (APC). L'HLA-DQB1\*02 di solito lega preferenzialmente gli amminoacidi caricati negativamente nelle posizioni chiave. Le tTG (bersaglio degli anticorpi) giocano un ruolo nella conversione di residui glutaminici in glutamato nella mucosa intestinale, generando amminoacidi carichi negativamente che meglio si legheranno con HLA-DQB1\*02. Tuttavia, la presenza degli alleli HLA DQB1\*02 e HLA-DQB1\*0302 viene considerata una condizione necessaria ma non sufficiente per lo sviluppo della malattia. Una parte consistente della popolazione generale è infatti DQB1\*02 (20%) e DQB1\*0302 positiva senza che ciò si

traduca in una forma franca di malattia celiaca (la cui prevalenza è dello 0,05%). Viceversa, la tipizzazione HLA ha altresì un valore predittivo negativo pressoché assoluto molto utile per escludere un possibile sviluppo di malattia celiaca in soggetti a rischio (8).

L'elevato valore predittivo negativo può, inoltre, spiegare il razionale sottostante la definizione di "celiachia potenziale" per tutti quei soggetti con marcatori genetici di rischio.

A conferma dell'importanza della componente genetica, vi sono gli studi eseguiti su gemelli monozigoti che mostrano una concordanza molto elevata (pari all'85%) e sui gemelli dizigoti che mostrano una concordanza pari al 20% (9).

L'attivazione dei linfociti T, mediata dalle APC, ha luogo nei linfonodi mesenterici, sebbene l'importanza della presentazione nella mucosa sia ancora incerta. La tossicità epiteliale è dovuta ad almeno due meccanismi:

il rilascio di citochine da cellule T antigene specifiche e direttamente dai linfociti intraepiteliali in seguito all'interazione MICA-NKG2D.

L'infiammazione risultante è accompagnata dallo sviluppo di anticorpi circolanti anti-transglutaminasi e anti-endomisio ma rimane a tutt'oggi incerto il motivo per cui gli anticorpi anti-transglutaminasi siano indicatori così specifici e sensibili di malattia. Se è pur vero che tali anticorpi potrebbero riconoscere i complessi crociati transglutaminasi-peptide-glutine, non è chiaro se abbiano un ruolo primario nella patogenesi o rappresentino un fenomeno secondario (1).

Rimane ad oggi non perfettamente chiaro il vasto spettro di presentazioni cliniche. Sembra che, con il miglioramento dello stile di vita, la celiachia subclinica o silente sia aumentata a discapito di quella manifesta. In tutto il mondo si è notato che un miglioramento dello stile di vita è stato seguito da un incremento parallelo nelle malattie allergiche, come asma, febbre da fieno ed eczema.

Quindi, come in altre malattie autoimmuni, una tardiva o debole esposizione a glutine, batteri o virus, in individui geneticamente suscettibili, potrebbe mantenere la risposta immune neonatale immatura che è Th2-mediata e che predispone all'atopia ma che nello stesso tempo protegge dalla celiachia manifesta. Dall'altro lato, una precoce esposizione al glutine (ad esempio per uno svezzamento) e a infezioni può innescare una malattia distruttiva Th1-mediata come quella osservata nella celiachia classica (10).

## Diabete e celiachia: sentieri comuni

L'associazione tra celiachia e diabete è stata rilevata a partire dagli anni '60 (11).

Le similitudini che sussistono tra i dati epidemiologici della celiachia e del diabete mellito tipo 1 e la coesistenza di tali patologie negli stessi individui o nelle stesse famiglie gettano nuova luce sugli elementi eziopatogenetici comuni e permettono di disegnare un modello fisiopatologico di raccordo basato su un'alterata comunicazione tra l'immunità innata e quella adattativa (come già suggerito da alcuni studi).

La perdita della funzione di barriera intestinale, secondaria alla sovraespressione della zonulina e/o allo stato infiammatorio e/o al transitorio periodo di maturazione della mucosa intestinale, permetterebbe il continuo passaggio di antigeni non self (come glutine,

latte o altri antigeni) in grado di determinare una reazione autoimmune direttamente o dopo la modifica da parte della transglutaminasi in quegli individui in cui specifici determinanti genetici (sia HLA sia non HLA) ne causino una inappropriata presentazione a livello del GALT.

## Epidemiologia

Gli studi che riguardano l'epidemiologia di soggetti con entrambe le malattie affrontano l'argomento secondo una prospettiva bipolare: da una parte gli studi il cui bacino di utenza è composto da soggetti con diabete tipo 1, dall'altra quelli che reclutano tra pazienti con malattia celiaca e valutano le prevalenze del diabete tipo 1 in tali soggetti.

Quando ancora si poneva diagnosi di celiachia classica in base alle manifestazioni cliniche, gli studi stimavano che la prevalenza di celiachia tra i bambini con diabete tipo 1 fosse dell'1-1,5%.

Oggi studi europei, nord americani e australiani indicano che la prevalenza di celiachia (classica e subclinica) tra bambini e adulti con diabete tipo 1, attestandosi su valori medi di 4,1% (range 0-10,4%), supera di molto la prevalenza di malattia nella popolazione generale, rilevando un aumento di rischio per celiachia in soggetti con diabete tipo 1 di circa 5-10 volte maggiore di quello della popolazione generale (12). Altri studi mostrano che la prevalenza della forma subclinica tra i medesimi pazienti si attesta su valori del 3-6%. Inoltre, è stato osservato che il 3,5% della prole di genitori con diabete tipo 1 sviluppa la malattia celiaca e che in questi soggetti la prevalenza di malattia celiaca incrementa con l'età (10). Più limitati sono i dati provenienti dagli studi che prendono come bacino d'utenza i pazienti con malattia celiaca in quanto, di solito, si limitano a esaminare la presenza di anticorpi anti-beta-cellula.

Un recente lavoro italiano, condotto su circa 400 pazienti, ha mostrato che la prevalenza di autoanticorpi diabete-correlati in adulti con celiachia è alta (9%) anche dopo dieta priva di glutine e che aumenta con il tempo pur essendo associata a scarso rischio di progressione a diabete (13).

Vilijamaa et al. hanno completato ulteriormente il quadro, trovando un rischio aumentato di diabete tipo 1 dal confronto di 703 individui con malattia celiaca e di 299 soggetti di controllo. Nonostante in questo studio non vi fossero dati di incidenza per il diabete tipo 1, i dati estrapolati riportavano di 126/100.000 persone

anno nei celiaci contro 6/100.000 persone anno nei controlli, indicando sostanzialmente un rischio aumentato per diabete tipo 1 in soggetti celiaci. Il tasso di rischio è stato confermato da un successivo studio multicentrico svedese in 9.000 soggetti con meno di 20 anni (14).

Sin dai primi studi era stato notato come la diagnosi di diabete tipo 1 preceda di solito quella di celiachia nei soggetti affetti da entrambe le patologie. Pocecco e Ventura hanno classificato i pazienti affetti da celiachia e diabete in due gruppi: quelli in cui la celiachia veniva diagnosticata nello stesso periodo o dopo il diabete rappresentavano l'88,5% (I gruppo) e quelli in cui veniva diagnosticata prima del diabete costituivano l'11,5% (II gruppo). Il I gruppo era caratterizzato da un esordio della celiachia più tardivo (età alla diagnosi:  $12,17 \pm 7$  anni), dai sintomi e dai segni atipici propri della forma silente, mentre il II gruppo era caratterizzato da un'età alla diagnosi più precoce e da una sintomatologia classica (15).

D'altra parte, lo studio della sequenza di insorgenza dei rispettivi marcatori di autoimmunità in soggetti a rischio figli di pazienti con diabete tipo 1 ha mostrato come nella maggioranza dei casi sia l'autoimmunità legata alla celiachia ad anticipare quella legata al diabete, aprendo ulteriori panorami speculativi (16).

### Eziologia

**Antigeni e cibo.** L'ipotesi che l'interazione tra gli antigeni del cibo e l'intestino potesse giocare un ruolo importante nell'autoimmunità ha iniziato a presentarsi con i primi studi sul ruolo dell'allattamento materno infantile. La precoce introduzione del latte vaccino e la breve durata dell'allattamento al seno materno sono state associate all'aumento di rischio per diabete mellito tipo 1 (17) e celiachia (18), per quanto riguarda il diabete, studi prospettici in bambini selezionati geneticamente hanno trovato solo una debole associazione tra la durata dell'allattamento al seno o il tempo di esposizione al latte vaccino e l'immunità specifica per il diabete tipo 1 (19).

Esistono evidenze che alcuni casi di celiachia e diabete tipo 1 possano essere correlati con i cereali. In topi obesi non diabetici (NOD) una dieta priva di glutine per 320 giorni ha ridotto l'incidenza di diabete tipo 1 dal 64 al 15% (20). Sia lo studio DAISY (*Diabetes Autoimmunity Study in the Young*) (21) sia il BABY-DIAB (22) hanno mostrato come in neonati esposti al glutine prima del 4° mese di vita vi sia un incremento

di quattro volte nel rischio di sviluppare autoanticorpi anti-beta-cellula. Gli autori hanno interpretato il dato ipotizzando un'inflammatione locale agevolata da una contemporanea immaturità del sistema di membrane intestinali o cambiamenti indotti dall'esposizione ai cereali in una beta cellula ancora immatura.

Anche la somministrazione di glutine successiva al 7° mese di vita è stata associata (anche se non univocamente) a un incremento del rischio per insorgenza di anticorpi anti-insulina (IAA). Tale dato è stato giustificato attraverso l'ipotesi che la maggiore età del neonato sia correlata a una maggiore quantità di alimento introdotto e, quindi, di una massiccia e non graduale esposizione all'antigene gliadinico (21).

**Suscettibilità genetica.** Il ruolo della componente genetica emerge dall'osservazione che l'associazione tra IAA ed età di prima esposizione al glutine è più forte in individui che posseggono il genotipo di alto rischio HLA-DRB1\*03/DRB1\*04-DQB1\*0302. A conferma, vi sono i dati sul tasso di concordanza in gemelli monozigoti che mostrano valori dell'80% per la celiachia (9) e del 50% per il diabete tipo 1.

I loci condivisi nelle due patologie sono HLA-DRB1\*03, HLA-DQB1\*02 (che è in *linkage disequilibrium* con HLA-DRB1\*03) e CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4*) (23).

L'importanza del ruolo del sistema maggiore di istocompatibilità nello spiegare i comuni percorsi genetici condivisi da celiachia e diabete tipo 1 si può evincere anche grazie alle rilevazioni di Bao et al. i quali riscontrarono che, in un gruppo di pazienti esaminati per IgA anti-tireoglobuline (anti-TG) e di cui la metà si era dimostrata positiva alla biopsia, i pazienti tipo 1 con HLA-DQB1\*02 erano positivi agli anticorpi nel 33% dei casi, mentre i pazienti tipo 1 ma senza HLA-DQB1\*02 solo nel 2%.

Per quanto riguarda il CTLA-4, l'evidenza di una suscettibilità genetica alla malattia celiaca sul cromosoma 2q è stata fornita da 5 studi di *linkage* indipendenti. In totale, 11 studi precedenti hanno analizzato *markers* intorno al CTLA-4 generando risultati ambigui: 3 degli studi riportano associazione con lo SNP A49G e uno di questi tre con lo SNP CT60 in aggiunta ad associazioni inconsistenti con microsatelliti. Uno studio recente, di proporzioni più ampie, suggerisce che la celiachia sia più fortemente associata a un aplotipo del gene CTLA-4 che a una qualsiasi delle varianti analizzate fino ad ora (23).

Nonostante l'entità del contributo genetico, l'osservazione che solamente il 10% dei soggetti con una suscettibilità genetica aumentata per diabete tipo 1 progredisca a diabete manifesto (e una quota ancora minore della suscettibilità di malattia per celiachia progredisca a malattia celiaca) mostra l'importanza della componente ambientale nell'iter patogenetico.

**Permeabilità intestinale.** La variabilità della risposta agli antigeni ambientali ha orientato verso una delle ipotesi ad oggi più accreditate, ovvero quella relativa alla variabilità della permeabilità intestinale. Un suo incremento potrebbe intensificare il tasso di assorbimento degli antigeni provenienti dalla dieta che, a sua volta, indurrebbe una risposta autoimmune in individui con una suscettibilità genetica alle malattie autoimmuni che siano soggetti a celiachia non sottoposta a trattamento o che non presentino alcuna traccia di malattia celiaca (24).

Studi su animali hanno mostrato come un incremento di permeabilità preceda l'insorgenza di diabete autoimmune nei ratti BBdp (*BioBreeding diabetic prone*) di circa 2-3 settimane, seguiti quindi da lavori clinici basati sull'assorbimento del mannitolo e del lattulosio. L'incremento di permeabilità al lattulosio nell'intestino di pazienti con diabete tipo 1 indica la presenza di una barriera intestinale danneggiata. Dato che questa anomalia è stata osservata in individui prima dell'insorgenza clinica del diabete mellito tipo 1, si può dedurre che il piccolo intestino sia in qualche modo coinvolto nello sviluppo di questa patologia (25).

La via paracellulare costituisce il sentiero dominante per il passaggio dei soluti passivi attraverso la barriera epiteliale intestinale e la sua permeabilità dipende dalla regolazione delle TJs, anche conosciute con il nome di *zonula occludens*. Quale barriera tra i compartimenti apicali e basocellulari, le TJs controllano selettivamente la diffusione di ioni e piccoli soluti solubili nell'acqua dal lume intestinale nel circolo sanguigno attraverso le vie paracellulari, agendo quindi in maniera controregolatoria rispetto ai gradienti generati dalla via transcellulare. Recentemente si è evidenziato come gli elementi che governano la via paracellulare siano strutture estremamente dinamiche coinvolte in meccanismi di tipo fisiologico, nonché patologico. Un crescente numero di malattie autoimmuni è infatti stato descritto in associazione con una disfunzione primaria delle TJs intestinali.

La zot (*zonula occludens toxin*) del *vibrio cholerae*

sembra giocare un ruolo essenziale nella regolazione della via paracellulare attraverso una cascata di eventi intracellulari che conducono alla polimerizzazione proteina-chinasi C (PKC)- $\alpha$ -dipendente di microfilamenti actinici la cui localizzazione è strategica ai fini della regolazione delle TJs. La tossina esercita il suo effetto attraverso l'interazione con recettori di membrana la cui distribuzione varia all'interno dell'intestino, essendo rilevabile nel digiuno e nell'ileo distale (ma non nel colon) e diminuendo lungo l'asse cripto-villoso (26) (Figura 2).

In base a questa osservazione, scaturì l'ipotesi che la zot potesse modulare l'effetto di un modulatore endogeno intraepiteliale di TJs. Il modello fu verificato grazie all'affinità per anticorpi purificati anti-zot che permisero l'identificazione della zonulina, un analogo intestinale della zot, che modula la permeabilità intestinale disassemblando le TJs tramite l'attivazione di un recettore bersaglio in maniera simile ad altre serina proteasi.

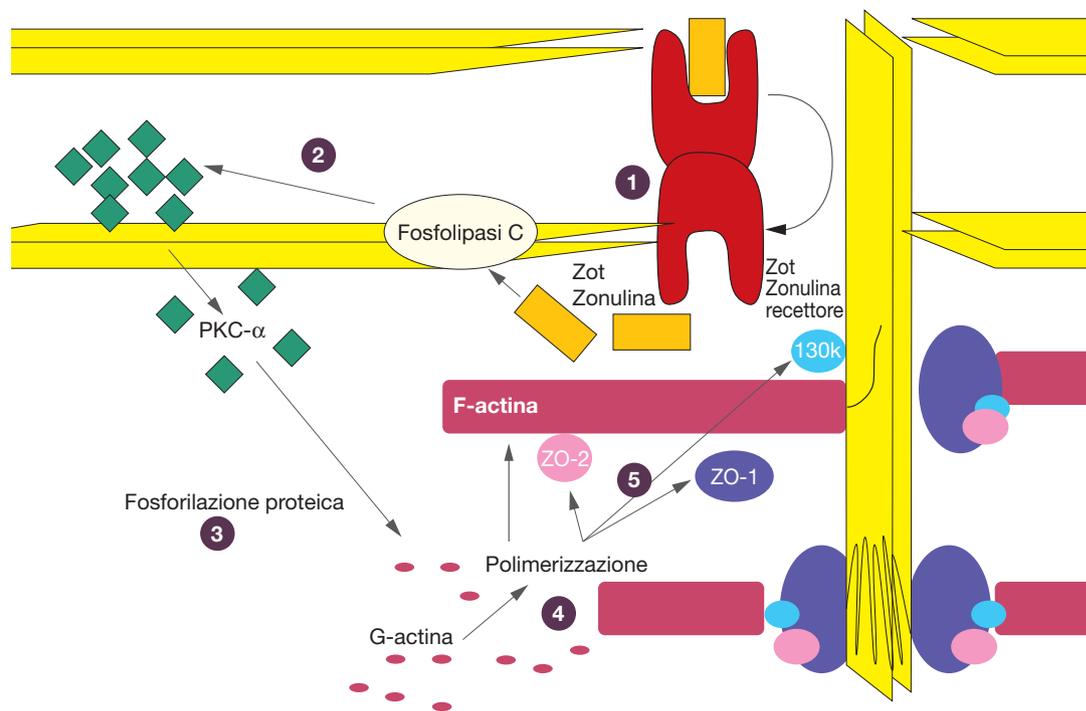
La zonulina ha un peso molecolare di 47 kDa, un motivo recettoriale N terminale che si presenta strutturalmente e funzionalmente simile al motivo di legame della zot e un dominio C terminale probabilmente coinvolto nel riarrangiamento degli elementi citoscheletrici funzionalmente connessi con le TJs intercellulari.

Alcuni risultati suggeriscono che la presenza di microrganismi enterici nel piccolo intestino (ma non nel colon dove il sistema della zonulina non è operativo) induca una risposta della mucosa dipendente dall'ospite che determina una secrezione endoluminale di zonulina.

Il fatto che l'interazione dei batteri con la mucosa intestinale induca il rilascio della zonulina, indipendentemente dai loro tratti patogenetici, può essere interpretato come un meccanismo di difesa dell'ospite batterio-indipendente che reagisce all'anormale presenza di microrganismi sulla superficie del piccolo intestino (immunità innata).

Quando sovraespressa, la zonulina gioca un ruolo nella patogenesi delle malattie autoimmuni (come la celiachia e il diabete), nell'infiammazione tissutale, nella trasformazione maligna e nella metastatizzazione. Un recente studio ha dimostrato come il 42% (141 su 339) dei pazienti con diabete tipo 1 presentasse livelli sierici di zonulina anormali, comparati con i soggetti di controllo. L'incremento dei livelli di zonulina correla con un aumento della permeabilità intestinale *in vivo* e con cambiamenti nell'espressione dei geni

Figura 2 **Meccanismo di segnalazione intracellulare da parte della tossina zonulina/zot che conduce all'apertura delle TJ**



Zonulina e zot interagiscono con lo stesso specifico recettore la cui distribuzione all'interno dell'intestino è variabile. Le proteine sono quindi internalizzate (1) e attivano la fosfolipasi C che, a sua volta, attiva indirettamente la PKC-α (2). Quest'ultima catalizza la fosforilazione delle proteine target (3) con la conseguente polimerizzazione dell'actina G solubile in actina F (4). Tale polimerizzazione causa il riarrangiamento dei filamenti di actina e il conseguente spiazamento delle proteine (5) (inclusendo la ZO-1) dal complesso funzionale. Come risultato le TJ si aprono.

della claudina-1, claudina-2 e miosina IXB, mentre non è stato rilevato alcun cambiamento nell'espressione dei geni ZO-1 e occludina (27). Quando il test è stato eseguito in campioni sierici durante la fase di pre-diabete tipo 1 (0,9-3,5 anni prima dell'insorgenza della malattia), si sono rilevati elevati livelli sierici di zonulina nel 70% di soggetti. L'aumentata espressione dei livelli sierici nella fase precedente alla patologia clinica fornisce un ipotetico legame tra incremento della permeabilità intestinale, esposizione ambientale agli antigeni non self e sviluppo di autoimmunità in individui geneticamente suscettibili.

**Transglutaminasi.** Gli antigeni, liberi di circolare, vengono modificati dalla transglutaminasi, identificata come il principale antigene contro cui viene rivolta la risposta autoanticorpale. Grazie ai suoi numerosi substrati accettori di glutamina, in analogia alla celiachia, è ipotizzabile che enzimi ubiquitari come la tTG possano modificare non solo le gliadine, ma anche altri anti-

geni self o non self sia tramite il legame crociato, sia tramite la deaminazione dei residui glutaminici per divenire neoantigeni. Questi neoantigeni potrebbero essere, quindi, riconosciuti dal sistema immunitario in un particolare background genetico come quello rappresentato, per esempio, da una molecola HLA che predisponga a una malattia autoimmune (10).

**Ruolo del gut associated lymphoid tissue.** Il conseguente passaggio aberrante di antigeni potrebbe scatenare, nei soggetti con HLA di rischio, una inappropriata presentazione da parte del GALT di antigeni non self che abbiano attraversato la barriera intestinale.

Varie linee di evidenza suggeriscono che il GALT giochi un ruolo determinante nello sviluppo del diabete tipo 1. È stato dimostrato come i linfociti circolino tra il GALT, i linfonodi e altri tessuti linfatici. La migrazione dei linfociti al pancreas appare mediata attraverso la MAdCAM-1 (*mucosal vascular addressin cell adhesion molecule*) (1) e la integrina alfa4-beta7, un recettore spe-

cifico dell'intestino per addressina che è molto espresso nei linfociti reattivi contro le beta-cellule nei pazienti con diabete tipo 1 (27). La MAdCAM-1 è specificatamente implicata nel ricircolo dei linfociti nella fase precoce del diabete autoimmune nel topo NOD. L'inibizione del MAdCAM-1 prima dell'insorgenza dell'insulite risulta in una ridotta incidenza di diabete tipo 1, mentre l'inibizione dell'alfa4 integrina blocca lo spontaneo sviluppo della malattia e il trasferimento passivo di linfociti dalla milza del topo diabetico.

### Screening della celiachia in pazienti diabetici

Nei diabetici tipo 1 lo screening per celiachia risulterebbe giustificato per una serie di motivi. In primis la frequenza di celiachia molto più elevata tra i diabetici tipo 1 rispetto alla popolazione generale. Inoltre, i pazienti asintomatici sviluppano complicazioni intestinali gravi o extra-intestinali come disturbi di crescita, deficit di vitamina D, ipocalcemia lieve, iperparatiroidismo secondario, diminuzione della *bone mineral density* (BMD) nella zona lombare, fratture, ipoglicemia, forme di diabete più severe e problemi riproduttivi (28). I disturbi di crescita sono stati ormai riportati in un terzo dei bambini sofferenti di malattia celiaca, anche se non confermati in tutti gli studi effettuati.

Le alterazioni del metabolismo osseo sono state riscontrate negli adulti ma non ancora ben determinate nei bambini (29). Per quanto riguarda le fratture tra i celiaci, 41 pazienti (25%) hanno riferito di averne subite fino a 5 nello scheletro periferico rispetto all'8% dei soggetti di controllo. L'80% delle fratture sono state rilevate prima della diagnosi di malattia celiaca o in pazienti che non seguivano la dieta priva di glutine. Solo il 7% dei pazienti ha subito fratture dopo l'inizio del trattamento.

Le ipoglicemie (30) nella celiachia sono dovute al meccanismo di malassorbimento dovuto all'atrofia dei villi intestinali. La frequenza di episodi ipoglicemici nella malattia subclinica è stata stabilita in uno studio italiano condotto su 18 bambini affetti e 26 soggetti di controllo appaiati per età, sesso, durata del diabete, altezza e punteggio *z-score* per il peso. Durante il periodo che va dai 6 ai 18 mesi precedenti la diagnosi di celiachia, il numero di episodi ipoglicemici era simile tra i soggetti celiaci e quelli di controllo, per poi raddoppiare nei celiaci dai 6 mesi precedenti alla diagno-

si ai 6 mesi successivi e infine tornare a livelli comparabili con quelli di controllo. Nel contempo, è stata evidenziata una lieve riduzione del fabbisogno insulinico nel gruppo dei celiaci. Si è quindi desunto che la malattia celiaca subclinica non trattata può incrementare il rischio di ipoglicemia, mentre una identificazione e un trattamento precoce possono ridurre il rischio ipoglicemico. Se l'ipoglicemia fosse considerata un segnale di allarme per una potenziale malattia celiaca, potrebbe essere appropriato eseguire lo screening alla diagnosi di un'aumentata frequenza di ipoglicemie più che effettuare lo screening dell'intera popolazione diabetica.

Uno studio nord europeo ha analizzato la relazione tra malattia celiaca e forme severe come diabete tipo 1, registrando un rischio aumentato di episodi di chetoacidosi o coma diabetico nei pazienti celiaci con meno di 20 anni di età [*Hazard Ratio* (HR) = 2,3 (95% CI 1,4-3,9),  $p=0,001$ ].

Infine, i problemi della fertilità sono stati associati alla malattia celiaca subclinica in un lavoro del 1996 che conclude come la celiachia silente dovrebbe essere considerata nel caso di donne con infertilità non spiegata.

Queste complicanze talvolta non possono essere identificate precocemente e prontamente grazie alla storia clinica o all'esame obiettivo. Per esempio, i disturbi di crescita dei bambini con diabete tipo 1 spesso sono imputati allo scarso controllo glicemico e alle patologie surrenaliche e tiroidee associate.

Il trattamento sembra prevenire o invertire lo sviluppo di problemi riproduttivi e osteoporosi (28).

La BMD, ad esempio, è ripristinata più rapidamente in pazienti con la forma subclinica rispetto a quelli con la forma classica, per cui è sufficiente un anno di restrizione di glutine per normalizzarla.

Per identificare sottogruppi con una più alta specificità per presenza di celiachia, sono stati studiati e identificati alcuni parametri clinici, come età di insorgenza, sesso e autoimmunità per la tiroide.

Pazienti diabetici con malattia celiaca sono risultati essere significativamente più giovani dei controlli non affetti da celiachia ( $p=0,041$ ). Inoltre, è stato dimostrato che il rischio di avere entrambe le malattie è 3 volte più alto nei bambini diabetici tipo 1 con età inferiore ai 4 anni rispetto a quelli con età maggiore di 9 anni (31), mentre il rischio (aumentato) di diabete tipo 1 in bambini celiaci con meno di 2 anni di età non sembra differire rispetto a quello di soggetti con età compresa tra 2 e 20 anni (32). Analogamente, il rischio combinato di malattia risulta essere più alto nelle donne rispet-

to agli uomini e nei soggetti con diagnosi di problemi tiroidei (31).

Dato che uno screening deve essere economicamente accettabile e/o diminuire le spese sostenute a lungo termine per la gestione della patologia, è stata eseguita l'analisi dei costi da cui è risultato che i test per gli anticorpi IgA anti-transglutaminasi possono essere eseguiti a un prezzo approssimativo di 10 dollari per campione (28).

Nonostante le controversie in atto (28), i criteri ISPAD 2000 (*International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes*) (33) consigliano l'esecuzione dello screening per la celiachia subito dopo la diagnosi di diabete tipo 1 e la sua ripetizione nel caso in cui la clinica suggerisca la presenza di malattia celiaca. Inoltre, le linee guida ADA (*American Diabetes Association*) del 2006 (34) ritengono che lo screening debba essere consigliato nei bambini con diabete tipo 1 che presentino una forma sintomatica, anche se lieve, consistente in perdita di peso, ritardo di crescita, dolore addominale e affaticamento cronico.

## Prevenzione e terapia

I lavori effettuati su topi NOD sottoposti a una dieta priva di glutine hanno evidenziato la possibilità di esplicitare modalità preventive con successo ma l'applicazione di tale metodologia preventiva di studio su bambini geneticamente predisposti, come i figli di diabetici tipo 1, ha incontrato notevoli problemi d'applicazione dovuti alla mancata conoscenza di predittori precoci di sviluppo di malattia, nonché alle difficoltà di instaurazione di un trattamento dietetico in bambini sani di cui non più del 6,5% svilupperà successivamente iperglicemia.

Uno studio su 7 soggetti IA2 positivi, parenti di diabetici tipo 1, ha mostrato come l'eliminazione del glutine non abbia alterato i livelli degli anticorpi, suggerendo che il glutine possa non essere l'antigene diabetogenico o almeno non avere un'importanza precipua nel percorso patogenetico (28).

Una letteratura più ampia è identificabile sul versante della terapia dove, in pazienti affetti da entrambe le malattie, si è studiato l'effetto di una dieta priva di glutine su alcuni parametri associati sia al diabete, come il controllo metabolico e le ipoglicemie, sia alla celiachia, come i sintomi e i segni biochimici legati al malassorbimento. I primi studi prendevano in considerazione la

forma classica di celiachia rilevando un miglioramento del controllo metabolico nei soggetti diabetici sottoposti a dieta priva di glutine rispetto ai soggetti che seguivano un'alimentazione libera; viceversa, i successivi lavori basati sulla forma subclinica non hanno portato a dati unanimi. Tale variabilità riguarda anche ulteriori parametri clinici associati alla celiachia, come i disturbi di crescita e l'anemia (28). In uno studio riguardante 11 su 166 bambini con diabete, che sono risultati positivi per celiachia e di cui 8 su 9 erano positivi alla biopsia e 3 su 8 erano asintomatici, non c'era cambiamento statisticamente significativo nella crescita o in altri parametri dopo il trattamento iniziale. In un altro studio, su 20 bambini con entrambe le patologie, solo il 30% ha aderito alla dieta priva di glutine e non si sono riscontrate differenze nei parametri di crescita, nel controllo metabolico tra il gruppo sottoposto a terapia e quello di controllo, confermando le ipotesi relative allo stress psichico da restrizioni dietetiche riscontrato in soggetti adolescenti con malattia celiaca. Singoli casi di miglioramento del diabete instabile sono stati ottenuti in pazienti tipo 1 con malattia celiaca in seguito all'introduzione di una dieta stretta priva di glutine nei celiaci subclinici. Uno studio a breve termine ha mostrato un trend piatto per incremento del *body mass index* (BMI) ma nessun cambiamento dei folati e dei livelli di emoglobina o della richiesta insulinica. In 11 bambini con malattia celiaca che alla diagnosi avevano un BMI e una emoglobina glicata (HbA<sub>1c</sub>) più bassi della norma rispetto ai soggetti di controllo, dopo l'instaurazione del trattamento si è assistito a un aumento del peso e a un'ulteriore diminuzione dei livelli di HbA<sub>1c</sub>. Incrementi nell'emoglobina ( $p=0,002$ ) e nella ferritina sierica ( $p=0,02$ ) sono stati riscontrati dopo 2 anni di follow-up in uno studio effettuato su bambini con meno di 14 anni di età (35), mentre sono state fornite evidenze di una minore frequenza di soggetti positivi agli anticorpi anti beta-celula e anti-tiroide su 90 pazienti esaminati in maniera prospettica. Come gli anticorpi antiendomio, questi anticorpi organospecifici sembrano essere dipendenti dal glutine e scompaiono durante una dieta che ne sia priva (28).

In definitiva, è possibile affermare la necessità che i futuri studi siano caratterizzati da un maggior numero di pazienti se si vuole determinare in maniera estensiva l'efficacia di una terapia dietetica priva di glutine sui parametri di malattia connessi al diabete e alla celiachia.

## Bibliografia

1. Van Heel D, West J. Recent advances in coeliac disease. *Gut* 55: 1037–1046, 2006.
2. Meeuwisse GW. Diagnostic criteria in coeliac disease. Round table of European Society for Paediatric Gastroenterology. *Acta Paediatr Scand* 59: 461–464, 1970.
3. Cacciari E, Salardi S, Volta U, et al. Can antigliadin antibody detect symptomless coeliac disease in children with short stature? *Lancet* i: 1469–1471, 1985.
4. Stern M. Working Group on Serologic Screening for Celiac Disease. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: A European initiative toward standardization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 31: 513–519, 2000.
5. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: Time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11: 1185–1194, 1999.
6. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease—active, silent, latent, potential. *Gut* 34: 150–151, 1993.
7. <http://www.gastronet.it/scientifico/approfondimento/celiachia/cap1/default.html>
8. Louka AS, Moodie SJ, Karel K, et al. A collaborative European search for non-DQA1\*05-DQB1\*02 celiac disease loci on HLA-DR3 haplotypes: Analysis of transmission from homozygous parents. *Hum Immunol* 64: 350–358, 2003.
9. Greco L, Romino R, Coto I, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 50: 624–628, 2002.
10. Schuppan D, Hahn EG. Celiac disease and its link to type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 14 (Suppl. 1): 597–605, 2001.
11. Schwarzenberg SJ, Brunzell C. Type 1 Diabetes and Celiac Disease: Overview and Medical Nutrition Therapy. *Diabetes Spectrum* 15: 197–201, 2002.
12. Holmes GKT. Coeliac disease and type 1 diabetes mellitus: The case for screening. *Diabet Med* 18: 169–177, 2001.
13. Bruno G, Pinach S, Martini S, et al. Prevalence of Type 1 Diabetes-Related Autoantibodies in Adults With Celiac Disease. *Diabetes Care* 26: 1644–1645, 2003.
14. Ludvigsson JF, Ludvigsson J, Ekbom A, et al. Celiac disease and risk of subsequent type 1 diabetes: A general population cohort study of children and adolescents. *Diabetes Care* 29: 2483–2488, 2006.
15. Pocecco M, Ventura A. Coeliac disease and insulin-dependent diabetes mellitus: A causal association? *Acta Paediatr* 84: 1432–1433, 1995.
16. Hummel S, Hummel M, Banholzer J, et al. Development of autoimmunity to transglutaminase C in children of patients with type 1 diabetes: Relationship to islet autoantibodies and infant feeding. *Diabetologia* 50: 390–394, 2007 (Epub 2006 Dec 14).
17. Sadauskaite-Kuehne V, Ludvigsson J, Padaiga Z, et al. Longer breastfeeding is an independent protective factor against development of type 1 diabetes mellitus in childhood. *Diabetes Metab Res Rev* 20: 150–157, 2004.
18. Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, et al. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr* 75: 914–921, 2002.
19. Kimpimaki T, Erkkola M, Korhonen S, et al. Short-term exclusive breastfeeding predisposes young children with increased genetic risk of Type I diabetes to progressive beta-cell autoimmunity. *Diabetologia* 44: 63–69, 2001.
20. Funda DP, Kaas A, Bock T, et al. Gluten-free diet prevents diabetes in NOD mice. *Diabetes Metab Res Rev* 15: 323–327, 1999.
21. Norris JM, Barriga K, Klingensmith G, et al. Timing of initial cereal exposure in infancy and risk of islet autoimmunity. *JAMA* 290: 1713–1720, 2003.
22. Ziegler AG, Schmid S, Huber D, et al. Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. *JAMA* 290: 1721–1728, 2003.
23. Rioux JD, Karinen H, Kocher K, et al. Genomewide search and association studies in a Finnish celiac disease population: Identification of a novel locus and replication of the HLA and CTLA4 loci. *Am J Med Genet* 130A: 345–350, 2004.
24. Secondulfo M, Iafusco D, Carratu R, et al. Ultrastructural mucosal alterations and increased intestinal permeability in non-celiac, type I diabetic patients. *Dig Liver Dis* 36: 35–45, 2004.
25. Bosi E, Molteni L, Radaelli MG, et al. Increased intestinal permeability precedes clinical onset of type 1 diabetes. *Diabetologia* 49: 2824–2827, 2006 (Epub 2006 Oct 7).
26. Fasano A. Intestinal zonulin: Open sesame! *Gut* 49: 159–162, 2001.
27. Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, et al. Zonulin Upregulation Is Associated With Increased Gut Permeability in Subjects With Type 1 Diabetes and Their Relatives. *Diabetes* 55: 1443–1449, 2006.
28. Freemark M, Levitsky L. Screening for Celiac Disease in Children With Type 1 Diabetes. Two views of the controversy. *Diabetes Care* 26: 1932–1939, 2003.
29. Collin P, Kaukinen K, Valimaki M, et al. Endocrinological disorders and celiac disease. *Endocr Rev* 23: 464–483, 2002.
30. Mohn A, Cerruto M, Iafusco D, et al. Celiac disease in children and adolescents with type I diabetes: Importance of hypoglycemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 32: 37–40, 2001.
31. Cerutti F, Bruno G, Chiarelli F, et al; Diabetes Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetology. Younger age at onset and sex predict celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes: An Italian multicenter study. *Diabetes Care* 27: 1294–1298, 2004.
32. Ludvigsson JF, Ludvigsson J, Ekbom A, et al. Celiac disease and risk of subsequent type 1 diabetes: A general population cohort study of children and adolescents. *Diabetes Care* 29: 2483–2488, 2006.
33. <http://www.diabetesguidelines.com/health/dwk/pro/guidelines/ispad/ispad.asp>
34. Resnick HE, Foster GL, Bardsley J, et al. Achievement of American Diabetes Association clinical practice recommendations among U.S. adults with diabetes, 1999–2002: The National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care* 29: 531–537, 2006.
35. Hansen D, Brock-Jacobsen B, Lund E, et al. Clinical benefit of a gluten-free diet in type 1 diabetic children with screening-detected celiac disease: A population-based screening study with 2 years' follow-up. *Diabetes Care* 29: 2452–2456, 2006.