

Novità nella diagnostica di laboratorio della celiachia

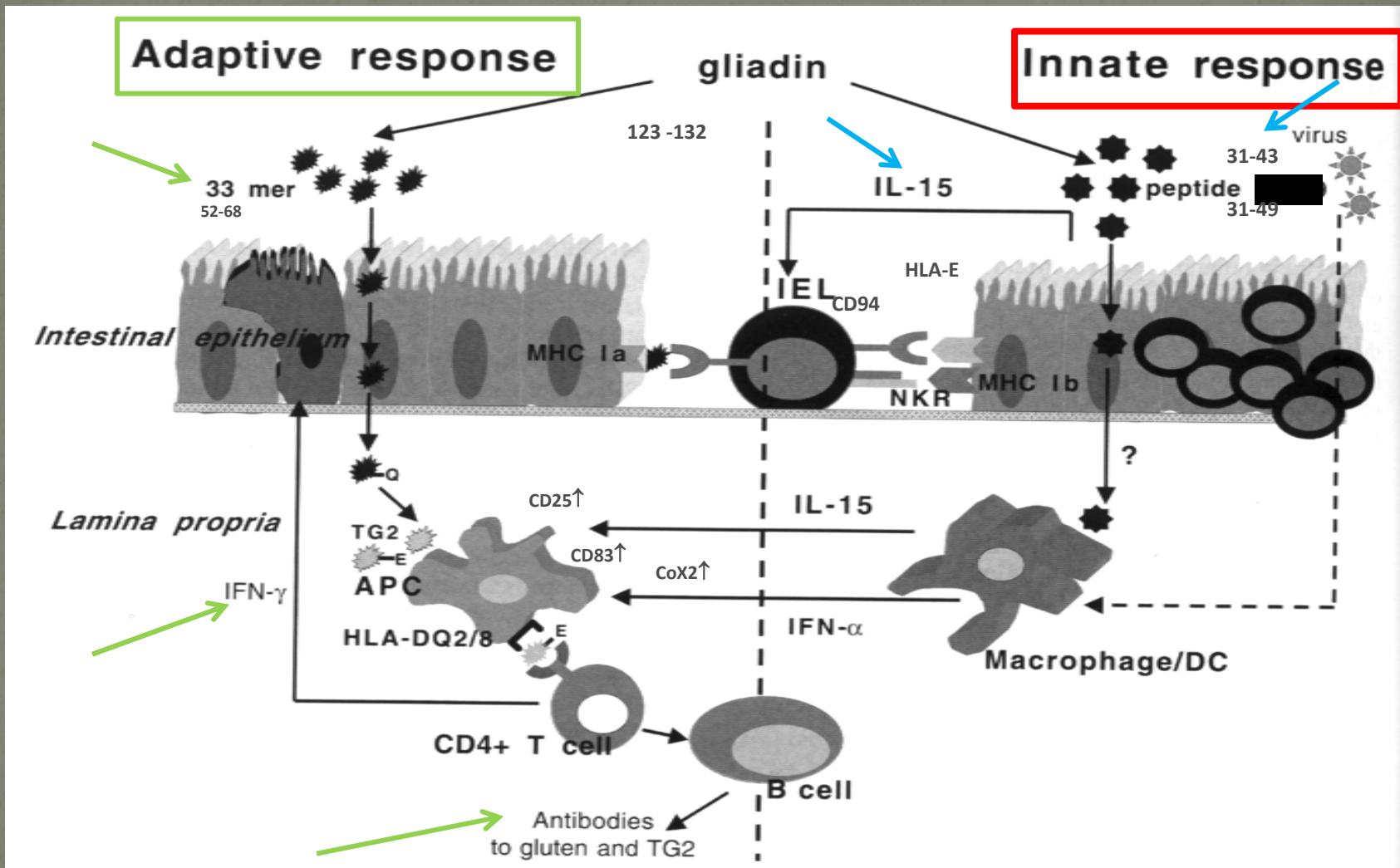
Dott. R. Auricchio
Dipartimento di Pediatria
Università “Federico II” Napoli

Agadir, 18-25 luglio 2008

Malattia celiaca

- Aberrante risposta immune mucosale, secondaria all'ingestione di gliadina di grano e prolamine derivanti dall'orzo e segale
- Alta prevalenza (circa 1:100)
- Largo spettro clinico
- Enteropatia caratterizzata da atrofia dei villi e iperplasia delle cripte
- Forte associazione genetica con HLA (DQ2 e DQ8)

Meccanismi patogenetici nella celiachia



From Cerf-Bensussan, modified

Approccio Razionale alla Diagnosi

Percorso Diagnostico

- Anamnesi
- Esami biumorali
- Marker anticorpali
- Biopsia duodenale
- Genetica



Dove cercare la malattia celiaca?



Presentazione extraintestinale	Malattie associate
Dermatite erpetiforme	Diabete mellito insulino-dipendente
Anemia sideropenica	Endocrinopatie autoimmuni
Bassa statura	S. di Sjogren
Ritardo puberale	S. di Down
Infertilità	S. di Turner
Alopecia	S. di Williams
Stomatite aftosa	Deficit di Ig A
Ipoplasia dello smalto dentario	
Ipertransaminasemia di ndd	Parenti di primo grado celiaci
Disturbi neurologici (convulsioni resistenti a terapia, atassia, polineuropatie)	
Osteoporosi	
Miocardiopatia dilatativa	
Artriti di ndd	

Diagnosi di Malattia Celiaca

Criteri ESPGHAN

Obbligatori:

- ❖ Danno della mucosa digiunale a dieta contenente glutine
- ❖ Remissione clinica completa a dieta senza glutine

Accessori:

- ❖ Storia e sintomatologia clinica compatibile
- ❖ Positività della sierologia
- ❖ Compatibilità della genetica (tipizzazione HLA)



Cosa è cambiato negli ultimi anni...

- ❖ Istologia ha perso di specificità
(quadri di lieve danno mucosale associati a celiachia)
- ❖ Sierologia è migliorata
- ❖ Maggiori informazioni sulla genetica



Attualmente quali
strumenti
diagnostici sono
utilizzati?

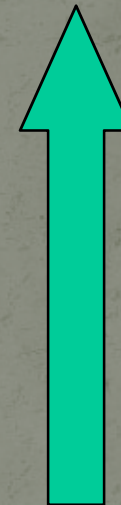


Il Laboratorio come possibile spia di celiachia



Emoglobina
Sideremia
Ferritina
Folatemia, Vit. B₁₂
Elettroliti
(Ca⁺⁺, K⁺, Mg⁺)
Colesterolemia
Trigliceridi
Att. Protrombinica

Transaminasi
Fosfatasi alc.
Piastrine



Test sierologici per la malattia celiaca

TEST	Sensibilita'	Specificita'
<i>AGA Ig G</i>	<i>57-100</i>	<i>42-98</i>
<i>AGA Ig A</i>	<i>52-100</i>	<i>92-97</i>
<i>EMA Ig A</i>	<i>88-100</i>	<i>91-100</i>
<i>tTG cavia</i>	<i>75-100</i>	<i>91-100</i>
<i>tTg ricombinante umana</i>	<i>92-100</i>	<i>97-100</i>



Anticorpi antigliadina (AGA)

Scarsamente specifico (>10% di falsi positivi in IBD, IBS, parassitosi, gastroenteriti)

Sensibilità media (80%) nettamente inferiore a quella degli EMA e tTGA

Unica eccezione la prima infanzia (età <2 anni)



Anticorpi anti gliadina deamidata (d-AGA)

ELISA vs peptidi deamidati della gliadina

Alla diagnosi:

IgA Sensibilità 94.6%, specificità 99.1%

IgG “ 92.4%, “ 100%

Rispetto AGA tradizionali:

Maggiore sensibilità, specificità, VPP, VPN, accuratezza

Rispetto tTG:

= sensibilità, ma maggiore specificità, VPP e VPN.

Antibody responses to deamidated gliadin peptide show high specificity and parallel antiTG in developing CD

	Sensibilità	Specificità
Peptide IFMA IgA	92%	90%
Peptide IFMA IgG	75%	98%
AGA IgA ELISA	87%	72%
AGA IgG ELISA	78%	64%
AntiTGasi ELISA IgA	90%	90%
AntiTGasi ELISA IgG	16%	86%

Anticorpi antiendomisio (EmA)

Elevata accuratezza diagnostica nei laboratori di riferimento (sensibilità >95%)

Specificità quasi assoluta

Scarsa riproducibilità' (elevata percentuale di errori di lettura legati all'interpretazione del pattern in IFL)



Anticorpi anti tranguitaminsasi tissutale umana (tTGA)

Elevata sensibilità (>95%) (>EMA)

Specificità lievemente inferiore

(circa il 5% di falsi positivi in Pazienti con IDDM, IBD, giardiasi, patologia epatica autoimmune)

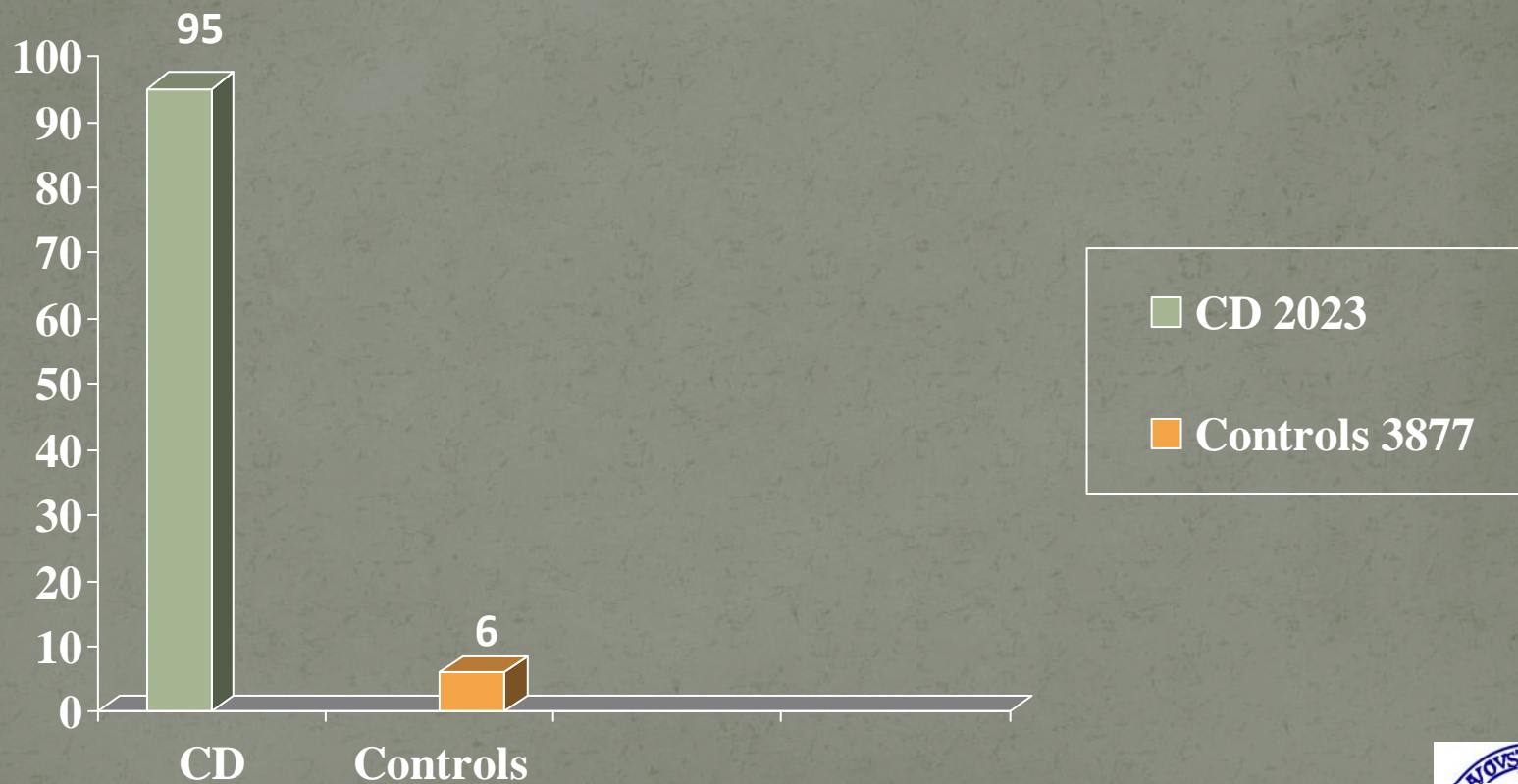
L'antigene utilizzato deve essere quello ricombinante umano

(guinea-pig, oltre il 30% di falsi positivi)

Ottima riproducibilità del test in tutti i laboratori (ELISA)



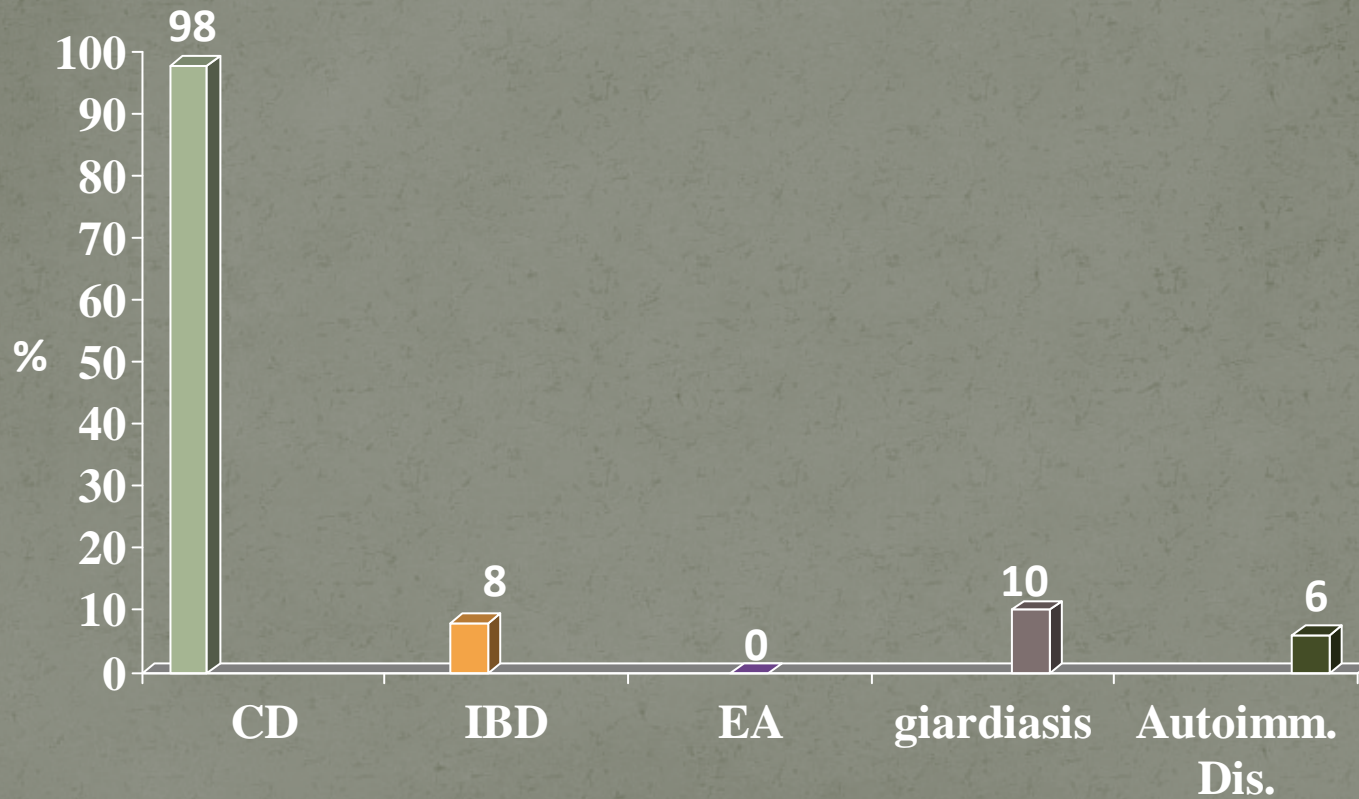
Prevalenza (%) degli anti-tTGA in malattia celiaca



Hill ID, Gastroenterology 2005



Prevalenza degli anti- tTGA in altre patologie intestinali ed autoimmuni



Volta U, Ligand Assay 2003



Take home message

Quali marker devono essere utilizzati per la diagnosi?

- IgA tTGA in tutte le età
- IgA EmA come test di conferma in caso di positività per tTGA
- IgA AGA soltanto nei bambini <2 anni
- IgG tTGA in pazienti con deficit di IgA



Take home message

Quali marker devono essere utilizzati per il follow-up?

- IgA tTGA (IgG tTGA nei deficit di IgA)
- IgA AGA soltanto nei bambini <2 anni



Classificazione di Marsh modificata secondo Oberhuber

	Tipo 0	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3A	Tipo 3B	Tipo 3C
°IEL	<40	>40	>40	>40	>40	>40
Cripte	Normali	Normali	Iper-trofiche	Iper-trofiche	Iper-trofiche	Iper-trofiche
Villi	Normali	Normali	Normali	Atrofia lieve	Atrofia subtotale	Atrofia totale

°Aumento IEL>25/100 ce

I valori sono dati come linfociti intraepiteliali/cernto cellule epiteliali



Genetica (aplotipi HLA)

- 90-95% = DQ2 + (DQA1*05/DQB1*02) in linkage con DR3/5/7
- ~ 5% = DQ8 + (DQA1*0301/DQB1*0302) in linkage con DR4
- 1% = DQ2/DQ8 - (DQB1*02 in linkage con DR7)



Importanza della genetica

La tipizzazione HLA ha un valore predittivo negativo pressochè assoluto, ma un basso valore predittivo positivo:

- se sono assenti: nessuna possibilità di sviluppare la malattia
- se sono presenti: malattia possibile (ma il 30-35% della popolazione generale e il 60-70% dei familiari di 1° grado hanno questi aplotipi senza avere la malattia)



HLA spiega non più del 30% del rischio genetico

Quando fare l'HLA per la diagnosi di celiachia

1. Pattern sierologici ambigui (deficit di IgA, sindrome di Down, etc)
2. Pattern istologico ambiguo
3. Biopsia digiunale non disponibile
4. Strategia di screening di individui asintomatici ma in "gruppi ad alto rischio" (es. familiari di 1° grado di celiaci)



L'analisi HLA può contribuire a definire una popolazione che non ha più bisogno di eseguire test sierologici nel tempo



Determinazione del Rischio Genetico

			HLA DQ	Rischio%
Popolazione generale			Ignoto	1%
Popolazione generale			DQ2 o 8+	2%
Popolazione generale			DQ2 o 8-	0%
Parenti di primo grado			Ignoto	9%
Parenti di primo grado			DQ2 o 8-	0%
Parenti di primo grado			DQ2 o 8+	>15%

N.B. Circa il 40% della popolazione porta geni HLA DQ2 o DQ8

HLA NEI FAMILIARI

- valutare il rischio per un fratello di un celiaco di sviluppare la malattia;
- dare una stima precisa del rischio di ricorrenza ai genitori che hanno già un figlio celiaco



in alcuni casi sarà possibile predire questo rischio prima della nascita mentre in altre situazioni immediatamente dopo

Quindi.....

- Un fratello di un celiaco probando ha un rischio di ricorrenza medio del 10% di sviluppare la celiachia;
- *Secondo l'HLA DQ del probando*, la stima del rischio per il fratello varia dal 2 al 14%;
- *Secondo l'HLA dei genitori*, la stima del rischio può essere rifinita dall' 1 al 29%;
- Nel 40% dei casi, l' HLA dei genitori sarà sufficiente a dare una stima accurata del rischio per il loro bambino. In altri casi sarà necessario **conoscere il genotipo del bambino, subito dopo la nascita, al fine di dare maggiore precisione alla stima del rischio.**

In altre parole

- 40% dei fratelli di un celiaco probando avrà un rischio trascurabile (< 1%);



in tal modo 40% delle famiglie di un celiaco potranno ricevere un messaggio davvero rassicurante

- 30% avrà un rischio alto o molto alto (> 25%)



in tal modo sarà possibile proporre speciali attenzioni durante il follow-up di questi bambini ad alto rischio

Geni non-HLA

- ✓ Regione HLA estesa sul **Cromosoma 6** (include geni del riconoscimento immune e dell'infiammazione, tipo DP, TNF, MICA alleli e D6S2223) (CELIAC 1)
- ✓ Cromosoma **5q 31-33** (CELIAC 2)
- ✓ Regione del **CTLA4-ICOS-CD28** codificano per la Costimolazione Linfocitaria sul Crom 2 (CELIAC 3)
- ✓ Cromosoma **19 cen** , codifica per la Miosina 9b (CELIAC 4)

Conclusioni

- ❖ Istologia ha perso di specificità
(quadri di lieve danno mucosale associati a celiachia)
- ❖ Sierologia è migliorata
- ❖ Maggiori informazioni sulla genetica

