

Patologia clinica

a cura di F. Menestrina, G. Monga

G.I.P.A.D.

Gruppo Italiano Patologi dell'Apparato Digerente

Celiachia

Requisiti diagnostici minimi per la diagnosi istopatologica

S. CHIARELLI*, V. VILLANACCI**

* Istituto di Anatomia Patologica, Università degli Studi di Padova

** Istituto di Anatomia Patologica, Spedali Civili, Brescia

Introduzione

La *malattia celiaca* (C.D.) è definibile come una condizione infiammatoria della mucosa del piccolo intestino, più marcata a livello prossimale, dipendente dalla presenza del glutine nella dieta.

Sinonimi sono: *Enteropatia Sensibile al Glutine* (G.S.E.), *Sprue non tropicale*.

La *patogenesi* più accreditata della malattia celiaca è quella immunologica. A livello dell'intestino, il sistema immune ha il compito di prevenire reazioni, potenzialmente dannose, nei confronti del gran numero di proteine estranee che la dieta pone in contatto con la mucosa: questo fenomeno è noto come tolleranza orale. È alla rottura di questa tolleranza nei confronti della gliadina che è probabilmente da ricondursi il primo passo della sequenza di eventi che porta al danno intestinale.

Le evidenze in favore di questa ipotesi sono ormai molte, tra queste il riscontro nella mucosa intestinale, di linfociti T attivati, tra i quali quelli che riconoscono la gliadina come bersaglio. È probabile che all'azione di queste cellule e delle citochine che esse producono, possa attribuirsi almeno in parte il danno della mucosa. *Clinicamente* la malattia può manifestarsi oltre che nei primi anni di vita anche nelle età successive: bambino, adolescente ed adulto, con sintomi estremamente variabili, da un quadro classico di malassorbimento a forme oligosintomatiche spesso ad espressività extraintestinale. Esiste inoltre la possibilità di casi francamente asintomatici, enucleati in base a screening anticorpale. Sulla base di queste premesse, negli ultimi anni si tende a considerare la Celiachia come uno spettro di quadri

clinico-laboristici ed istologici connessi ad una sensibilità al glutine in soggetti geneticamente predisposti, estremamente variabili in relazione alla sensibilità stessa e all'entità e alla durata di esposizione al glutine assunto con la dieta. Sulla base di studi clinici e di pattern anticorpali sono stati proposti i termini di Celiachia "potenziale", "latente", "silente" peraltro usati con sfumature diverse dai diversi Autori Clinici. L'esempio più consono a cui ci si richiama è quello di un "ice-berg", di cui la celiachia in senso "tradizionale" e clinicamente conclamata costituirebbe solo la parte visibile. Di conseguenza anche le lesioni istologiche possono essere estremamente variabili in relazione all'esposizione temporale e quantitativa all'antigene, al soggetto e al timing della biopsia.

Esplicativo a questo proposito è il seguente schema:

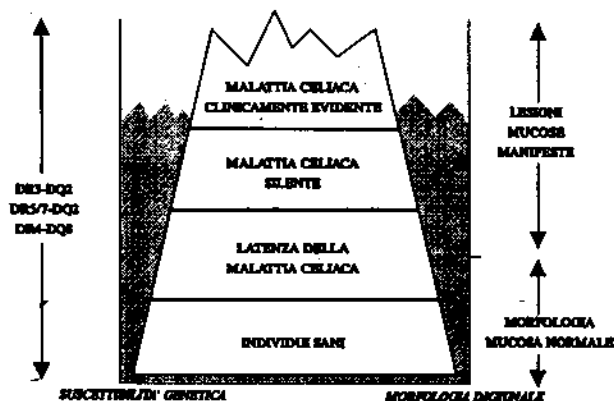


Fig. 1.
(modificato da The Lancet 1997;349:1755).

Studi epidemiologici e di pedigree hanno dimostrato che il 2-10% dei parenti di primo grado dei pazienti celiaci è affetto da celiachia e che nel 70% dei casi di gemelli monozigoti in cui uno dei due gemelli è celiaco, l'altro prima o poi risulta ugualmente affetto. La malattia è dunque familiare ed è inoltre associata a prodotti del sistema maggiore di istocompatibilità HLA: in particolare le specificità sierologiche DR3 e DR7, ma soprattutto DQW2 (90-98%) risultano associate alla celiachia.

Gli esami di laboratorio utili sia nello screening che nella diagnosi di malattia sono:

- la *xilosemia* dopo carico: test attendibile solo in età pediatrica (bambini di peso inferiore di 35 Kg) e oggi meno utilizzato, in quanto sostituito da test di permeabilità intestinale. Il test è patologico quando ad un'ora dal carico il valore della xilosemia è inferiore a 25 mg/dl.

- la titolazione degli anticorpi anti gliadina (AGA) classi IgA e IgG che risultano a titolo elevato nel celiaco in fase attiva e decrescono fino a valori di norma nel celiaco a dieta priva di glutine.

- la ricerca degli anticorpi anti endomisio (EMA) che rispetto agli AGA hanno una maggiore sensibilità e specificità.

Tali anticorpi sono assenti nei celiaci che al tempo stesso presentano un deficit di IgA.

Nota pratica: negli ultimi anni assistiamo ad un incremento di richieste diagnostiche istologiche in soggetti di età superiore ai 2 anni, adolescenti ed adulti, clinicamente pauci-sintomatici o con sintomi extra-intestinali, o asintomatici "a rischio" enucleati sulla base di tests anticorpali (AGA ed EMA).

(È da ricordare inoltre come recentemente sia stato proposto un nuovo test basato sulla identificazione della transglutaminasi tissutale come marker della celiachia. W. Dieterich, et al. *Nature Medicine*, 1997;3 (7):797-801).

Notizie cliniche indispensabili

È indispensabile che il patologo abbia sempre le seguenti notizie.

A) *motivo della biopsia:* malassorbimento con sospetto di celiachia e/o sintomi extraintestinali, dermatite erpetiforme, soggetto asintomatico positivo agli screening anticorpali, familiarità, diabete tipo 1, ecc.

Se biopsia successiva o di controllo: specificare dati clinici e istologici precedenti e attuali (nota: sia la biopsia di controllo dopo dieta priva di glutine, che eventualmente dopo carico di glutine, richiedono intervalli discretamente lunghi).

B) *dieta attuale:* libera con glutine, povera di glutine, o strettamente priva di glutine; se la dieta è variata speci-

ficare da quanto tempo e, se dieta o carico, la durata degli stessi.

C) *tests di laboratorio:* valori anticorpali AGA (IgA, IgG), positività o negatività per gli anticorpi anti-endomisio (EMA); eventuali deficit o alterazioni immunologiche; eventualmente xilosemia dopo carico o test di permeabilità intestinale agli zuccheri.

D) *Tipizzazione HLA:* opzionale, in genere successiva, non routinaria.

N.B.: le notizie cliniche suddette sono necessarie per una adeguata valutazione e segnalazione dei quadri con alterazioni istologiche "minori" e per una correlazione anatomo-clinica di commento alla diagnosi. In particolare è fondamentale che le notizie relative alla dieta siano precise rispetto al momento della biopsia.

Campionamento

Tecnica della biopsia

La biopsia viene eseguita mediante l'impiego della capsula di Crosby o di Watson per via perorale o mediante biopsia in corso di esofago-gastro-duodenoscopia.

Sede della biopsia

La biopsia idonea alla diagnosi di celiachia va sempre eseguita nella seconda e terza porzione duodenale, in quanto il bulbo e il duodeno prossimale possono essere fonte di erronee valutazioni. Nella possibilità di quadri "patchy" di danno, e di biopsie piccole non omogenee e non orientabili, nel caso di prelievi endoscopici è consigliabile disporre di più frammenti ed in particolare per una prima diagnosi di almeno 4 frammenti biotipici.

Orientamento dei prelievi

È fondamentale per una corretta valutazione istologica dell'architettura e del rapporto villo/crypta. Consigliabile il posizionamento della/e biopsie su carta, o filtri millipore. Tale tappa è comunque demandata alla tecnica in uso nei singoli Laboratori ed in analogia ad altre biopsie.

Utile la valutazione immediata allo stereomicroscopio.

Fissazione

La usuale fissazione in formalina tamponata è sufficiente per la pratica routinaria. Prelievi non fissati, da congelare o da utilizzare per lo studio in microscopia elettronica, sono facoltativi, utili soprattutto in casi selezionati e a scopo di ricerca.

Sezioni e colorazioni

Accanto a un numero standard di sezioni all'Ematossilina ed Eosina 4-6 è indispensabile, sia per la valutazio-

ne del brush border sia per tutta la diagnostica differenziale delle enteropatie, associare sempre un vetrino con colorazione al PAS.

Ulteriori colorazioni istochimiche, ed immunoistochimiche vanno effettuate a seconda delle necessità in casi specifici. Utile in particolare la reazione immunoistochimica per il CD3 per una conta linfocitaria.

Lesioni istologiche elementari

<i>Microscopio a dissezione</i>	
Grading	Microscopio a dissezione
normale	villi di aspetto digitato
grado 1 di anormalità	villi convoluti con occasionali ponti intervillosi
grado 2 di anormalità	villi di aspetto cerebroide
grado 3 di anormalità	villi assenti, aspetto a "nido d'ape"

Microscopio ottico

Mucosa intestinale normale

Villi: aspetto digitiforme con rapporto tra l'altezza dei villi e quella delle cripte sempre a favore del villo (Villo/crypta = 3/1 o più).

N.B.: con un normale oculare micrometrico si può valutare lo spessore totale della mucosa, l'altezza dei villi, la profondità delle cripte, l'altezza degli enterociti. Il dato minimo da segnalare è il rapporto villo/crypta.

Enterociti di superficie: altezza normale 29-34 microns con nucleo disposto alla base. Brush border ben demarcato e netto al PAS.

Infiltrato linfocitario intraepiteliale: Usualmente si riscontra 1 linfocita ogni 5 cellule epiteliali. (Nota: i valori sono variabili, si considera normale il range 10-35 linfociti per 100 epiteli, anche se alcuni Autori tendono ad abbassare il limite superiore a 20 o 30 linfociti per 100 epiteli.)

Cripte ghiandolari: sono deputate ad una funzione rigenerativa per cui è possibile riscontrarvi delle mitosi; in genere il range normale è di 1 mitosi per 1-2 cripte. Le altre componenti cellulari (cellule endocrine, Goblet e di Paneth) non hanno rilievo diagnostico per quanto attiene la malattia celiaca.

Lamina propria: normalmente si riscontrano plasmacellule, sparsi eosinofili macrofagi mast cells e linfociti. (I granulociti neutrofili sono generalmente assenti anche in corso di celiachia e indice invece di duodenite attiva.)

Le plasmacellule sono la componente cellulare più nu-

merosa; i linfociti sono talora presenti sotto forma di aggregati linfoidi "in particolare nell'infanzia".

Mucosa intestinale nel paziente celiaco a dieta contenente glutine

- 1) **Atrofia totale dei villi – mucosa "piatta" – asso**
- 2) **Enterociti di superficie di altezza ridotta, con brush-border irregolare e vacuoli citoplasmatici;**
- 3) **Incremento del numero dei linfociti intraepiteliali.**

L'insieme dei tre fattori sopra descritti è coerente con celiachia o enteropatia glutine sensibile in senso stretto o attiva.

Nella lamina propria in genere si osserva un incremento aspecifico della componente infiammatoria.

Va però considerato che in alcune condizioni (es. ridotto carico di glutine nella dieta o in soggetti con minor responsività al glutine stesso) l'enteropatia da glutine può assumere quadri meno severi:

A - lesione solo infiltrativa: Villi architeturalmente nei limiti morfologici della norma, in cui è presente solo un incremento del numero dei linfociti intraepiteliali

B - lesione infiltrativa iperplastica: Villi con lievi segni di atrofia (rapporto villo/crypta ridotto = o inferiore a 2:1), iperplasia degli elementi ghiandolari, incremento del numero dei linfociti intraepiteliali.

I reperti istologici suddetti, pur caratteristici, non sono esclusivamente legati al glutine e pertanto la diagnosi conclusiva – specie nei quadri non tipici o minori – richiede una correlazione con i dati clinici ed anticorpali a dieta libera, in risposta alla dieta priva di glutine ed infine, eventualmente, dopo challenge.

Il report diagnostico

Nei casi con alterazioni patologiche o con sospetto clinico si raccomanda l'uso di una terminologia molto chiara ed oggettiva, che possa quindi essere letta ed interpretata anche a distanza di molti anni. In particolare bisogna considerare sempre i seguenti punti:

Architettura: va precisato se mucosa piatta per assenza di villi o se invece presenta villi; in quest'ultimo caso si misura l'altezza dei villi e la profondità delle cripte da cui si evince il rapporto villo/crypta (lo spessore totale della mucosa va specificato se l'atrofia dei villi si associa ad ipotrofia delle cripte). (Cfr. Appendice).

Epitelio: *Enterociti di superficie* (specificare se epitelio cubico, cilindrico, caratteristiche del brush border).

Epitelio delle cripte: normale, alterato per (specificare il tipo di alterazione), indice mitotico normale o aumentato.

Linfociti intraepiteliali: numero normale o aumentato.

La conta percentuale riferita a 5 o a 100 epiteli va specificata nei casi in cui sia l'unica o la principale alterazione presente, cui segue una eventuale caratterizzazione immunistochemical in casi selezionati (CD3, CD4, CD8, gamma-delta).

Lamina propria: incremento solo globale o alterazioni quali-quantitative di singole componenti. (in particolare segnalare e caratterizzare ogni incremento dei linfociti).

In base al materiale biptico ed ai dati clinici e anticorpali di cui si dispone sarà variamente possibile un commento diagnostico correlato alla clinica stessa. Nelle biopsie di controllo dopo dieta o challenge possono esserci tempi ed entità diversi sia di normalizzazione che di alterazione della mucosa stessa in relazione alla dieta. A titolo esemplificativo alleghiamo uno schema di guida al report diagnostico.

Schema di diagnosi standard

I° BIOPSIA

CONTROLLO

Tecnica biptica utilizzata:

Capsula di Crosby

Capsula di Watson

Endoscopia

Nr. biopsie: _____

Orientamento

corretto

non corretto

Architettura: _____

(va precisato se la mucosa è **piatta** per assenza di villi o se invece presenta villi)

Villi: Normali Atrofia lieve moderata severa

Rapporto villo/cripta _____
(valutazione semiquantitativa valutazione morfometrica)

Enterociti: normali

diminuiti in altezza

vacuolizzazione

(specificare le caratteristiche del brush-border normale o alterato)

Linfociti intraepiteliali: normali aumentati
(in particolare nei quadri minori specificare N° per 5 o 100 epiteli) _____

Cripte: normali iperplastiche

Lamina propria: _____

Edema, linfatici, incremento solo globale, o alterazione quali o quantitativa di singole componenti. (In particolare segnalare e caratterizzare ogni incremento di linfociti, ma anche di plasmacellule ed eosinofili). Segnalare eventuale presenza di parassiti.

Eventuali ulteriori osservazioni: _____

Diagnosi istologica: _____

Eventuale commento in relazione ai dati clinici: _____

Appendice

QUADRI CORRELATI ALLA MALATTIA
CELIACA (COMPLICANZE)

Esistono numerose evidenze che la malattia celiaca dell'adulto, a differenza di quanto avviene nel bambino, soprattutto se diagnosticata tardi e ancora di più se non trattata da una tempestiva e rigorosa dieta aglutinata, è gravata da una mortalità superiore a quella della popolazione generale.

L'allontanamento del glutine dalla dieta quindi determina non solo un miglioramento del quadro biotico e clinico, ma tende a prevenire anche quelle complicanze che devono essere sempre sospettate se il paziente adulto continua a stare male nonostante la dieta e così riassumibili:

sprue collagenosica: deposizione di banda ialina di collagene a livello subepiteliale superficiale, in mucosa con alterazioni architetturali; non responsiva alla dieta; **atrofia dei villi con ipoplasia delle cripte:** lesione importante, non responsiva alla dieta, considerata irreversibile (possibile pre linfoma o associata a linfoma);

linfoma: è la complicanza più grave e istologicamente va sempre sospettata di fronte ad una prevalenza di elementi linfocitari monomorfi atipici. In questi casi è fondamentale la tipizzazione immunofenotipica della popolazione linfoide che è quasi sempre di tipo T (impiego di anticorpi su materiale fissato CD45RO/UCHL1; CD45/MT1; CD3; e su materiale congelato CD4, CD8). Caratteristico in particolare il cosiddetto E.A.L.T. linfoma associato ad enteropatia;

digiunoileite ulcerativa: usualmente reperto operatorio, raro, caratterizzato da estese ulcerazioni della mucosa intestinale.

Ricordiamo infine i possibili reperti di cavitazione dei linfonodi mesenterici e l'iposplesismo.

Si ringraziano per la collaborazione i seguenti colleghi cui è stato presentato il testo:

- Prof. G. Corazza, Clinica Medica - Università dell'Aquila
- Dr. E. Di Betta, I Clinica Chirurgica - Università Brescia.
- Dr. F. Donzelli, Pediatria - Ospedale "Umberto I" Mestre (VE)
- Dr. A. Lanzini, I Clinica Medica - Spedali Civili Brescia
- Dr.ssa N. Pillan, Clinica Pediatrica - Spedali Civili Brescia
- Dr. R. Troncone, Clinica Pediatrica - Università di Napoli

Bibliografia

Trattati:

- Lee FD, Toner PG.
Biopsy pathology of the small intestine.
Biopsy Pathology Series. Chapman and Hall Editor, London 1980.
- Whitehead R.
Mucosal biopsy of the gastrointestinal tract.
Major Problems in Pathology vol. 3, 5th edition, WB Saunders Company, Philadelphia 1997.
- Ming SC, Goldman H.
Pathology of the gastrointestinal tract.
2th Edition. Williams and Wilkins ed, Baltimore 1998.

Articoli:

- ¹ Alsaigh N, Odze R, Goldman H, et al.
Gastric and esophageal intraepithelial lymphocytes in pediatric celiac disease.
Am J Surg Pathol 1996;20:865-870.
- ² Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, et al.
High prevalence of undiagnosed coeliac disease in 5280 Italian students screened by anti gliadin antibodies.
Acta Paediatr. 1995;84:672-676.
- ³ Corazza GR, Frisoni M, Treggiari EA, et al.
Subclinical celiac sprue. Increasing occurrence and clues to its diagnosis.
J Clin gastroenterol 1993;16:16-21.
- ⁴ Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al.
Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease.
Nature Medicine 1997;3:797-801.
- ⁵ Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S.
Clinical and pathological spectrum of coeliac disease-active, silent, latent, potential.
Gut 1993;34:150-151.
- ⁶ Maki M, Collin P.
Coeliac disease.
Lancet 1997;349:1755-1759.
- ⁷ Marsh MN.
Gluten, major histocompatibility complex and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("Celiac Sprue").
Gastroenterology 1992;102:330-354.
- ⁸ Shidrawi RG, Przemioslo R, Davies DR, Tighe MR, Ciclitira PJ.
Pitfalls in diagnosing coeliac disease.
Clin. Pathol. 1994;47:693-694.
- ⁹ Shmerling DH, Franckx J.
Childhood celiac disease: a long term analysis of relapsed in 91 patients.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 1986;5:565-569.
- ¹⁰ Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Vissakorpi JK.
Revised criteria for diagnosis of coeliac disease.
Arch Dis Child 1990;65:909-911.