

SENSIBILITÀ AL GLUTINE NON CELIACA: LA NUOVA FRONTIERA DEI DISTURBI GLUTINE-CORRELATI

International Expert Meeting on Gluten Sensitivity
Monaco, 1.–2. Dicembre 2012

AUTORI

Carlo Catassi, Julio C. Bai, Bruno Bonaz, Gerd Bouma, Antonio Calabrò, Antonio Carroccio, Gemma Castillejo, Carolina Ciacci, Fernanda Cristofori, Jernej Dolinsek, Ruggiero Francavilla, Luca Elli, Peter Green, Wolfgang Holtmeier, Peter Koehler, Sibylle Koletzko, Christof Meinhold, David Sanders, Michael Schumann, Detlef Schuppan, Reiner Ullrich, Andreas Vécsei, Umberto Volta, Victor Zevallos, Anna Sapone e Alessio Fasano

ABSTRACT

La sensibilità al glutine non celiaca (Non Celiac Gluten Sensitivity - NCGS) è un disturbo descritto di recente, caratterizzato da sintomi intestinali ed extra-intestinali connessi all'ingestione di alimenti contenenti glutine in soggetti non affetti da celiachia (CD) o allergia al frumento (WA). Sebbene la frequenza della NCGS sia tuttora poco chiara, sono stati generati dati epidemiologici per contribuire a stabilire la portata del problema. Studi clinici hanno definito ulteriormente l'identità della NCGS e le sue implicazioni sui disturbi causati all'uomo. È stata individuata una sovrapposizione tra la sindrome dell'intestino irritabile (IBS) e la NCGS, il che ha imposto la necessità di criteri diagnostici ancora più restrittivi. Diversi studi hanno suggerito una correlazione tra NCGS e disturbi neuro-psichiatrici, in particolare autismo e schizofrenia. È stato descritto il primo caso di NCGS in un paziente pediatrico. L'assenza di biomarcatori rappresenta tuttora un notevole limite per gli studi clinici, in quanto rende ardua la distinzione della NCGS dagli altri disturbi glutine-correlati. Studi recenti hanno sollevato l'ipotesi che, oltre agli inibitori dell'amilasi/tripsina, i carboidrati a catena corta, scarsamente fermentabili e a basso assorbimento possano contribuire ai sintomi (almeno quelli legati all'IBS) riscontrati nei pazienti colpiti da NCGS. In questa pubblicazione vengono descritti i principali progressi e le attuali tendenze in tema di NCGS.

1. INTRODUZIONE

La sensibilità al glutine (GS) è una sindrome descritta di recente, caratterizzata da sintomi intestinali ed extra-intestinali connessi all'ingestione di alimenti contenenti glutine in soggetti non affetti da celiachia (CD) o allergia al frumento (WA). Sulla scia del lavoro di riferimento di Sapone e dei suoi collaboratori del 2010¹, in cui venivano descritte le caratteristiche cliniche e diagnostiche della GS,

numerosi gruppi indipendenti hanno pubblicato un numero in rapida crescita di paper, a conferma del fatto che la GS debba essere definitivamente annoverata tra i disturbi glutine-correlati. Ciononostante, molti aspetti dell'epidemiologia, della patofisiologia, dello spettro clinico e del trattamento della GS devono tuttora essere chiariti in misura esauriente. Considerato il recente aumento del mercato dei prodotti privi di glutine negli Stati Uniti, in parte promosso da persone che sostengono l'esigenza medica di intraprendere una dieta priva di glutine (GFD), si rende necessario „separare il grano dal loglio“². Tale obiettivo sarà raggiunto attraverso (a) un'adeguata informazione scientifica, (b) definizioni condivise e (c) studi prospettici e multicentrici che affrontino le numerose problematiche non risolte della GS. Al fine di creare un consenso sulla nuova nomenclatura e sulla classificazione dei disturbi glutine-correlati, un gruppo di esperti si è riunito per la prima volta a Londra a febbraio del 2011. Gli esperti hanno formulato una serie di definizioni e ha sviluppato un algoritmo diagnostico pubblicato di recente³.

Dopo il meeting di Londra 2011 sono stati pubblicati numerosi nuovi studi sul tema della GS. Sebbene la frequenza nella popolazione generale sia tuttora poco chiara, sono stati generati dati epidemiologici per tentare di stabilire la portata del problema. Studi clinici hanno definito ulteriormente l'identità della GS e le possibili implicazioni sui disturbi causati all'uomo. È stata ipotizzata una sovrapposizione tra la sindrome dell'intestino irritabile (IBS) e la GS, il che ha imposto la necessità di criteri diagnostici ancora più restrittivi. È stato descritto il primo caso di GS in un paziente pediatrico. L'assenza di biomarcatori costituisce tuttora un limite notevole per gli studi clinici, rendendo ardua la diagnosi differenziale con altri disturbi glutine-correlati, nonché con condizioni indipendenti dall'esposizione al glutine.

La valutazione e la discussione di queste nuove informazioni sono state al centro del secondo meeting di esperti sulla GS, tenutosi a Monaco di Baviera dal 30 novembre al 2 dicembre 2012. In questo paper riportiamo i principali progressi e le attuali tendenze sul tema della GS, così come sono stati esposti e dibattuti durante il meeting di Monaco.

2. NOMENCLATURA

Almeno tre paper hanno recentemente affrontato la problematica della definizione dei disturbi glutine-correlati³⁻⁵. È interessante notare che uno di questi 3 risulta tra i paper più scaricati nella rivista di pubblicazione (*BMC Medicine*), in modo particolare da medici, internisti o pediatri generici e direttori di laboratori diagnostici. Vi è

un accordo generale sul fatto che il termine „disturbi glutine-correlati“ rappresenti l'iperonimo da utilizzare per descrivere tutte le condizioni connesse con l'ingestione di cibi contenenti glutine. La CD è un'enteropatia cronica immuno-mediata dell'intestino tenue, provocata dall'assunzione di glutine e delle prolamine associate in soggetti geneticamente predisposti, caratterizzata da autoanticorpi specifici anti-transglutaminasi tissutale di tipo 2 (anti-TG2) e anti-endomisio (EMA). La WA è una reazione immunologica avversa alle proteine del frumento. Nella patogenesi della WA, gli anticorpi IgE specifici rivestono un ruolo centrale; esiste tuttavia una forma di WA non mediata da IgE, che rischia quindi di essere difficile da distinguere dalla GS.

La GS, su cui si concentrerà principalmente questo articolo, è una condizione i cui sintomi sono scatenati dall'ingestione di glutine, in assenza di anticorpi specifici per la celiachia e della classica atrofia dei villi, con HLA variabile e presenza variabile di anticorpi anti-gliadina (AGA) di prima generazione. La denominazione di questo disturbo è stata oggetto di dibattito tra gli esperti. Onde evitare confusione con la CD, talvolta definita enteropatia glutine-sensibile, si è ritenuto che „sensibilità al glutine non celiaca“, (Non Celiac Gluten Sensitivity - NCGS) costituisca una definizione più efficace. Si tratta indubbiamente di una terminologia ancora troppo vaga, che riflette semplicemente la scarsa conoscenza della patofisiologia di questa condizione. Dal momento che le proteine scatenanti contenute nei cereali potrebbero includere frazioni diverse dal glutine (*si veda* sotto), alcuni membri del gruppo di esperti si sono espressi a favore di „sensibilità alla proteina del frumento in assenza di celiachia“. Tale terminologia entrerebbe tuttavia in conflitto con la possibilità che altri cereali contenenti glutine (segale, orzo) possano risultare dannosi per il paziente „sensibile al glutine“. Tenuto conto di tali limiti, gli esperti hanno concordato sull'utilizzo provvisorio della definizione NCGS, con la riserva di un ulteriore affinamento in futuro.

3. EPIDEMIOLOGIA

La prevalenza complessiva della NCGS nella popolazione generale è tuttora sconosciuta, principalmente in ragione del fatto che gran parte dei pazienti si è autodiagnosticata il disturbo e intraprende una dieta priva di glutine senza consulenza o parere medico. Tuttavia, nuovi dati confermano che non si tratta affatto di un disturbo insolito. In una regione della Nuova Zelanda, è stata riferita l'esclusione (non connessa a celiachia) di cibi contenenti glutine dalla dieta del 5% dei bambini⁶. L'esclusione del glutine è stata associata all'attenuazione di disturbi non specifici di natura comportamentale e gastrointestinale⁷. Resta da chiarire quanti tra i bambini che seguivano un'alimentazione priva di glutine fossero effettivamente

te affetti da NCGS, dal momento che la grande maggioranza dei pazienti pediatrici coinvolti nello studio non è stata sottoposta a esame per la celiachia o a biopsia intestinale. Nell'ambito di uno studio statunitense eseguito su 7.762 soggetti non selezionati di almeno 6 anni, che hanno partecipato al sondaggio di analisi della salute e della nutrizione nazionale (NHANES) nel 2009/2010, Digiacomo et al hanno riscontrato una prevalenza dello 0,55% di persone che asserivano di osservare un regime alimentare privo di glutine. La prevalenza si è dimostrata superiore nei partecipanti meno giovani e di sesso femminile⁸. Molti dei soggetti NHANES che seguono una dieta priva di glutine potrebbero effettivamente essere affetti da NCGS; tuttavia è probabile che questa sia una stima in difetto, dal momento che (a) la possibile correlazione tra sintomi gastrointestinali e assunzione di glutine non è stata esplorata in maniera sistematica in questo campione di popolazione e (b) il sondaggio NHANES è stato condotto prima che la NCGS fosse descritta nella letteratura medica.

L'analisi dell'epidemiologia dell'IBS costituisce una stima indiretta della frequenza della NCGS a livello intestinale. Secondo recenti sondaggi sulla popolazione condotti nei paesi del Nord Europa, la prevalenza dell'IBS nella popolazione generale adulta sarebbe compresa tra il 16 e il 25%⁹⁻¹⁰. In un gruppo selezionato (e, di conseguenza, probabilmente influenzato) di adulti affetti da IBS, la frequenza della NCGS documentata tramite esperimento in doppio cieco controllato con placebo è risultata pari al 28%¹¹. Secondo l'ampio studio realizzato da Carroccio et al, 276 soggetti su 920 (30%) con sintomi analoghi a quelli dell'IBS, sulla base del criterio di Roma II, erano affetti da sensibilità al frumento o ipersensibilità alimentare multipla, tra cui sensibilità al frumento¹². Se una proporzione consistente dei pazienti affetti da IBS fosse affetta da NCGS, la prevalenza della NCGS nella popolazione generale potrebbe essere nettamente superiore a quella della CD (1%).

Sebbene non siano stati ancora identificati i fattori di rischio per la NCGS, il disturbo sembra essere più comune nei soggetti di sesso femminile e negli adulti giovani/di mezza età. La prevalenza della NCGS nei bambini è tuttora sconosciuta.

4. QUADRO CLINICO E STORIA NATURALE

La NCGS è caratterizzata da sintomi che comunemente compaiono a breve distanza dall'ingestione di glutine, scompaiono con l'astinenza da glutine e ricompaiono in seguito a challenge con glutine, a distanza di poche ore o qualche giorno. Classicamente, la NCGS si presenta con una combinazione di sintomi simili a quelli della IBS, inclusi dolori e gonfiore addominali, alterazione del consueto transito intestinale (diarrea o costipazione), nonché

manifestazioni sistemiche quali „mente annebbiata“, emicrania, affaticamento, dolori articolari e muscolari, intorpidimento degli arti inferiori o superiori, dermatiti (eczemi o rash cutanei), depressione e anemia^{1,13}. In sede di visita presso cliniche specialistiche, numerosi pazienti affetti da NCGS segnalano autonomamente la relazione causale tra ingestione di alimenti contenenti glutine e aggravamento dei sintomi. Nei pazienti pediatrici, la NCGS si manifesta con i sintomi tipici della gastroenterite, quali dolori addominali e diarrea cronica; le manifestazioni extra-intestinali, tra cui la più comune è la stanchezza, sembrano invece essere meno frequenti¹⁴.

Nel corso dell'ultimo decennio, diversi studi hanno suggerito una relazione tra NCGS e disturbi neuro-psichiatrici (*si vedano* i paragrafi seguenti).

Sebbene in alcuni casi l'effetto positivo dell'astinenza da glutine sia indiscutibilmente spiegabile con un effetto placebo, questa ipotesi non si applica ai casi autentici di NCGS. Tramite studi in doppio cieco randomizzato controllati con placebo, Biesiekierski et al. hanno riscontrato che i sintomi della NCGS assimilabili a quelli della IBS erano più frequenti nel gruppo trattato con glutine (68%) rispetto ai soggetti sotto placebo (40%)¹¹. Inoltre, un recente studio non ha rilevato differenze significative tra pazienti affetti da CD e NCGS in termini di tratti della personalità, livello di somatizzazione, qualità della vita, ansia e sintomi di depressione. Il livello di somatizzazione era basso in entrambi i gruppi. Inoltre, non si ritiene che l'acuirsi dei sintomi dopo il challenge con glutine sia connesso alla personalità nei pazienti affetti da NCGS¹⁵.

Non sono state finora descritte gravi complicazioni derivanti dal mancato trattamento della NCGS; in particolare, ad oggi non sono stati riferiti casi di comorbidità autoimmune, come osservato nella CD. Ciononostante, i dati sulla storia naturale della NCGS sono tuttora carenti. Risulta pertanto difficile trarre conclusioni precise sugli esiti di questa condizione.

5. NCGS E IBS: UNA RELAZIONE COMPLESSA

Di recente è stata analizzata la complessa relazione tra IBS e proteine alimentari¹⁶. I pazienti affetti da celiachia spesso riferiscono sintomi compatibili con l'IBS che persistono dopo il trattamento con dieta priva di glutine. In una recente meta-analisi, la prevalenza combinata dei sintomi simili a quelli della IBS in pazienti con celiachia post-trattamento era pari al 38,0% (95% CI, 27,0%-50,0%). Il tasso di occorrenza combinata per i sintomi simili a quelli della IBS è risultato superiore nei pazienti affetti da CD rispetto ai soggetti di controllo (5,60; 95% CI, 3,23-9,70). Nei pazienti che

non hanno seguito una dieta priva di glutine, il tasso di occorrenza combinata per i sintomi simili a quelli della IBS, rispetto a quelli che l'hanno osservata rigorosamente, è stato pari al 2,69 (95% CI, 0,75-9,56)¹⁷.

La possibilità che l'ingestione di glutine provochi sintomi gastrointestinali in pazienti non affetti da celiachia è stata recentemente dimostrata in soggetti affetti da IBS-D (diarrea predominante) da Vazquez-Roque e dai suoi collaboratori. Nei soggetti che seguono una dieta contenente glutine (GCD) è stata osservata una quantità giornaliera superiore di movimenti intestinali, in particolare quelli con genotipi HLA-DQ2 e/o DQ8. La GCD è stata associata a un'elevata permeabilità dell'intestino tenue. I pazienti che seguono un regime alimentare contenente glutine hanno evidenziato un lieve calo nell'espressione della zonula occludens 1 nella mucosa dell'intestino tenue e notevoli diminuzioni nell'espressione della zonula occludens 1, della claudina-1 e dell'occludina nella mucosa retto-sigmoidea; anche in questo caso, gli effetti della GCD sull'espressione si sono rivelati notevolmente superiori nei pazienti HLA-DQ2/8 positivi. D'altro canto, rispetto alla GFD la GCD non ha evidenziato effetti significativi sul transito gastrointestinale o sull'istologia. È stato concluso che il glutine altera le funzioni della barriera intestinale nei pazienti con IBS-D, in particolare quelli HLA-DQ2/8 positivi. Questi dati hanno permesso di formulare spiegazioni meccanicistiche all'osservazione secondo cui l'astinenza dal glutine potrebbe attenuare i sintomi dei pazienti affetti da IBS¹⁸.

Resta ancora da chiarire la specificità dell'effetto dell'esclusione del glutine dalla dieta dei pazienti colpiti da IBS. Oltre al glutine, il frumento e i suoi derivati contengono altri componenti in grado di contribuire alla comparsa di sintomi nei pazienti affetti da IBS, ad esempio gli inibitori dell'amilasi/tripsina (ATI, *si veda sotto*) e i fruttani. In un secondo studio, Biesiekierski et al. hanno preso in considerazione 37 pazienti affetti da IBS/NCGS autodiagnosticata, che sono stati sottoposti a esperimento cross-over in doppio cieco. Ai pazienti è stato prescritto in modo casuale un periodo di dieta a contenuto ridotto di carboidrati a catena corta scarsamente fermentabili e a basso assorbimento (oligosaccaridi, disaccaridi, monosaccaridi e polioli fermentabili = FODMAP), dopodiché sono stati esposti a proteine del glutine o del siero del latte. In tutti i partecipanti, i disturbi gastrointestinali sono migliorati notevolmente durante la dieta a basso contenuto di FODMAP, ma si sono aggravati considerevolmente e in misura simile quando la dieta comprendeva proteine del glutine o del siero del latte¹⁹. L'elenco di FODMAP include fruttani, galattani, fruttosio e polioli contenuti in svariati alimenti, tra cui frumento, verdure e derivati del latte. I risultati esposti sollevano la possibilità che l'effetto positivo della GFD nei pazienti affetti da IBS sia una conseguenza non specifica

derivante dalla riduzione nell'apporto di FODMAP, dal momento che il frumento è una delle possibili fonti di FODMAP. Occorre tuttavia sottolineare che i FODMAP non possono essere ritenuti interamente ed esclusivamente responsabili dei sintomi riscontrati nei soggetti affetti da NCGS, in quanto si osserva la scomparsa dei sintomi con dieta priva di glutine, sebbene i pazienti continuino a ingerire FODMAP provenienti da altre fonti, ad esempio legumi (una fonte di FODMAP ben più ricca del frumento).

6. L'AUTISMO RIENTRA NELLO SPETTRO CLINICO DELLA NCGS?

Il termine disturbi dello spettro autistico (DSA) identifica un disturbo cronico che compare prima dei tre anni di età. Si tratta di una delle cause di disabilità dello sviluppo in più rapida crescita negli Stati Uniti. Si manifesta con un'ampia gamma di comportamenti ripetitivi e stereotipati, nonché con problemi di interazione sociale e del linguaggio. Le funzionalità e i risultati sono compromessi non solo da importanti deficit, bensì anche dai comportamenti associati, quali iperattività, aggressività, ansia e depressione. Numerosi studi hanno dimostrato che una combinazione di terapia comportamentale e farmaceutica potrebbe contribuire almeno in parte al trattamento di pazienti pediatrici colpiti da ASD. La ricerca sugli effetti della dieta e dell'alimentazione in casi di autismo si è intensificata negli ultimi due decenni, con particolare riferimento ai sintomi legati all'iperattività e all'attenzione. Una delle misure più diffuse per attenuare i sintomi dell'ASD è la dieta priva di glutine e di caseina (GFCF).

Il possibile effetto della GFCF nei bambini affetti da autismo non è dovuto alla presenza di celiachia sottostante, dal momento che l'associazione tra le due condizioni non è mai stata confermata chiaramente tramite screening sierologico²⁰. È stato ipotizzato che alcuni sintomi potrebbero essere provocati da peptidi oppioidi derivanti dall'incompleta scomposizione di cibi contenenti glutine e caseina. Gli studiosi hanno sospettato che la maggiore permeabilità intestinale, definita anche sindrome dell'intestino permeabile, nell'ASD rientrasse nella catena di eventi che permettono a questi peptidi di attraversare la membrana intestinale, entrare nel flusso circolatorio e superare la barriera emato-encefalica, compromettendo il sistema oppioide endogeno e la neurotrasmissione nel sistema nervoso. Si è ipotizzato che il conseguente eccesso di oppioidi potesse condurre ai comportamenti osservati nell'ASD e che l'esclusione di tali sostanze dal regime alimentare potesse determinare un cambiamento nei comportamenti autistici²¹. Il collegamento tra sindrome dell'intestino permeabile e autismo ha alimentato un acceso dibattito all'interno della comunità scientifica, tuttora lontano da un consenso unanime. Uno studio recente ha evidenziato un'elevata

percentuale di test anomali sulla permeabilità intestinale (utilizzando come riferimento il rapporto lattulosio/mannitolo) tra i pazienti affetti da autismo (36,7%) e i loro familiari (21,2%) rispetto a quelli di soggetti normali (4,8%). I pazienti affetti da autismo che seguivano una dieta priva di glutine e di caseina hanno evidenziato valori di permeabilità intestinale notevolmente inferiori rispetto a quelli che seguivano un regime alimentare non controllato e ai soggetti di controllo²². Tuttavia, resta ancora da stabilire il livello di correlazione tra la permeabilità intestinale anomala agli zuccheri (lattulosio e mannitolo) e alle proteine/peptidi. La presenza di anticorpi di classe IgG diretti contro antigeni alimentari è considerata dimostrazione indiretta di una permeabilità intestinale superiore alla norma. I bambini affetti da autismo presentano un livello notevolmente superiore di anticorpi IgG (ma non IgA) anti-gliadina rispetto ai pazienti sani, in particolare nei soggetti con sintomi gastrointestinali²³. Recenti studi hanno confermato queste scoperte e hanno anche riferito un aumento degli anticorpi diretti contro diversi altri allergeni alimentari, tra cui la caseina e il latte intero²⁴.

Secondo un articolo di Cochrane del 2008, solo due studi randomizzati controllati (RCT) di portata limitata avrebbero indagato sull'effetto della dieta GFCF nei pazienti affetti da ASD (n = 35). Sono stati osservati solo tre effetti di trattamento significativi a favore dell'efficacia della dieta: tratti autistici complessivi, differenza media (MD) = -5,60; isolamento sociale, MD = -3,20 e capacità complessiva di comunicazione e interazione, MD = 1,70. Inoltre, tre risultati non hanno evidenziato differenze tra il gruppo sottoposto a trattamento e il gruppo di controllo, mentre non è stato possibile analizzare le differenze relative a dieci risultati, in quanto i dati erano distorti. Nell'articolo si conclude che gli elementi a supporto dell'efficacia di queste diete sono scarsi e che sono necessari studi clinici randomizzati controllati su larga scala e di alta qualità²⁵.

Nell'ambito di uno studio controllato e randomizzato a due fasi della dieta GFCF su bambini affetti da ASD, Whiteley e i suoi collaboratori hanno recentemente osservato notevoli miglioramenti a livello di gruppo nei comportamenti autistici caratteristici e associati dopo 8 e 12 mesi di applicazione della dieta. I risultati hanno mostrato un cambiamento meno spiccato tra i bambini che hanno seguito la dieta per 8 mesi e quelli che l'hanno seguita per 24 mesi, ammettendo la possibilità che ciò rifletta un effetto plateau²⁶.

I dati di cui sopra suggeriscono che l'esclusione del glutine dalla dieta potrebbe influire positivamente sull'esito clinico in alcuni pazienti pediatrici affetti da ASD, indicando che l'autismo potrebbe rientrare nello spettro della NCGS, almeno in alcuni casi. È tut-

tavia opportuna una certa cautela, evidenziando il fatto che solo un sottogruppo limitato e selezionato di bambini affetti da ASD potrebbe trarre beneficio da una dieta „eliminativa“. Sono necessarie ulteriori indagini al fine di identificare i fenotipi sulla base delle migliori risposte e dell'assenza di risposta alla modifica del regime alimentare, nonché valutare qualsivoglia correlazione biologica, inclusa l'antropometria, prima di considerare un intervento sulla dieta.

7. DISTURBI GLUTINE-CORRELATI E SCHIZOFRENIA

Già negli anni Cinquanta del secolo scorso era stata osservata un'associazione tra schizofrenia e CD. Nel 1986, uno studio controllato in doppio cieco con dieta priva di glutine/carico di glutine su 24 pazienti condotto da Vlissides et al. ha evidenziato cambiamenti nel profilo sintomatico dei soggetti schizofrenici in risposta all'esclusione del glutine dalla dieta²⁷. D'altro canto, un piccolo studio in cieco realizzato da Potkin et al. non ha evidenziato alcuna differenza nello stato clinico di otto pazienti schizofrenici con challenge con glutine per 5 settimane con ospedalizzazione, secondo la misurazione della Brief Psychiatric Rating Scale²⁸. In uno studio successivo di Storms et al. è stato realizzato un test su 26 pazienti schizofrenici in reparto chiuso, sottoponendoli a dieta priva di glutine o dieta ad alto contenuto di glutine. In una batteria di test psicologici, non sono state osservate differenze di prestazioni tra i due gruppi²⁹. Un recente studio su campioni ematici provenienti dal progetto CATIE (Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness) ha riscontrato che il 5,5% dei soggetti affetti da schizofrenia presentava un livello elevato di anticorpi anti-tTG (rispetto all'1,1% del campione di controllo sano), mentre il 23,1% evidenziava positività degli anticorpi AGA IgG, rispetto al 3,1% nei soggetti di controllo³⁰. È interessante notare che un'ampia porzione dei soggetti positivi al tTG risultava negativa all'EMA, mettendo in dubbio la possibilità che la positività al tTG fosse connessa alla CD. Ulteriori studi hanno rivelato che la maggior parte dei soggetti positivi al tTG erano positivi al tTG-6; ciò suggerisce che tali anticorpi costituiscano un biomarcatore della neuroinfiammazione e non della CD³¹. Lo studio ha indicato l'esistenza di una risposta immune specifica al glutine in alcuni dei pazienti. Altri studi hanno confermato l'elevata prevalenza di anticorpi anti-tTG e anti-AGA tra i soggetti affetti da schizofrenia³²; tuttavia, l'esatto meccanismo che soggiace al miglioramento dei sintomi osservato in alcuni pazienti con GFD è tuttora vago. È stato suggerito il coinvolgimento di meccanismi immunologici, inclusa l'ipotesi secondo cui un sottogruppo di schizofrenici affetto da intolleranze alimentari trarrebbe beneficio dall'adozione di un regime alimentare privo di glutine. L'effetto benefico della GFD potrebbe essere ottenuto anche dall'immissione in circolo di peptidi derivanti da alimenti (esorfine), che esercitano un'influenza sui

processi fisiologici nel cervello (alcuni meccanismi, come descritto nel paragrafo sull'autismo). Se fosse vero che un sottogruppo di pazienti schizofrenici manifesta sintomi dovuti alla sensibilità al glutine, il trattamento per questi soggetti risulterebbe più semplice ed efficace rispetto ai pazienti neurolettici, senza considerare l'aumento della qualità di vita.

Per riassumere, il ruolo della NCGS nelle condizioni che interessano il sistema nervoso resta oggetto di ampio dibattito e controversie. Occorre pertanto condurre studi ulteriori e ben progettati per stabilire il ruolo effettivo del glutine quale fattore scatenante in questi disturbi.

8. VALUTAZIONE DI LABORATORIO

Finora non sono stati identificati biomarcatori specifici della NCGS. Di recente, Volta e i suoi colleghi hanno riferito le loro conclusioni sul pattern sierologico della celiachia osservato in 78 pazienti non trattati affetti da NCGS. In molti pazienti è stata riscontrata una prevalenza elevata di AGA IgG di prima generazione ad alto titolo, diretti contro la gliadina nativa (56,4%). La prevalenza di AGA IgG rilevata nella NCGS, seppur inferiore rispetto a quella osservata nella CD (81,2%), era nettamente superiore rispetto ad altre condizioni patologiche, quali i disturbi del tessuto connettivo (9%) e le epatiti autoimmuni (21,5%), così come tra la popolazione generale e i donatori di sangue sani (2% - 8%). Dall'altro lato, la prevalenza degli anticorpi AGA IgA nei pazienti affetti da NCGS era estremamente bassa (7,7%) . È importante notare che i „migliori“ marcatori della CD, ovvero gli anticorpi anti-gliadina deamidata (DGP) IgG, tTGA IgA ed EMA IgA risultavano sempre negativi nei pazienti affetti da NCGS, tranne in un caso isolato di positività a titolo estremamente basso per DGP IgG. L'uniforme negatività per gli anticorpi DGP IgG, la cui sintesi in vivo è espressione dell'interazione tra tessuto transglutaminase e peptidi della gliadina, sembra escludere il coinvolgimento dell'immunità adattativa nella patogenesi della NCGS. È interessante osservare la scarsità delle attività ELISA degli anticorpi tTGA IgA nei pazienti affetti da NCGS, con <1AU su 30% dei soggetti (nessuno presentava deficit di IgA)¹³.

I genotipi HLA-DQ2 e DQ8 che predispongono alla CD sono stati riscontrati nel 50% dei pazienti colpiti da NCGS; tale prevalenza è inferiore rispetto alla celiachia (95%) e solo leggermente superiore rispetto alla popolazione generale (30%).

Nel lavoro di Sapone e dei suoi collaboratori, tutti i soggetti (11 pazienti con NCGS, 13 con CD e 7 soggetti di controllo), sono stati sottoposti a endoscopia duodenale superiore per l'esecuzione di una piccola biopsia intestinale. I pazienti affetti da NCGS presentavano

una mucosa normale o mediamente infiammata (Marsh da 0 a 1), mentre tutti i pazienti colpiti da CD evidenziavano atrofia parziale o subtotale dei villi con iperplasia delle cripte. Come previsto, i pazienti affetti da CD presentavano valori superiori di IEL CD3+ (>50/100 enterociti) rispetto ai soggetti di controllo, mentre i pazienti colpiti da NCGS evidenziavano un numero di IEL CD3+ intermedio tra i pazienti celiaci e i soggetti di controllo, in presenza di un'architettura dei villi relativamente conservata. Il numero di IEL TCR- $\gamma\delta$ risultava elevato unicamente nei soggetti affetti da CD (>3,4/100 enterociti), mentre nei pazienti colpiti da NCGS il numero di IEL $\gamma\delta$ era simile a quello dei soggetti di controllo¹.

9. DIAGNOSI

La diagnosi della NCGS è talvolta sospettata dai pazienti stessi sulla base dell'esclusione e dell'assunzione di determinati alimenti. Il medico può successivamente concordare qualora siano state escluse altre forme di disturbi indotti dal glutine (CD e WA) tramite adeguati esami sierologici e/o biotici. L'effettiva scomparsa dei sintomi in seguito all'esclusione del glutine rafforza la diagnosi della NCGS, che è definitivamente provata tramite challenge orale con glutine in doppio cieco (o in aperto) eseguito dopo almeno 3 settimane di dieta priva di glutine.

Sulla base di una combinazione di dati clinici, biologici, genetici e istologici, è possibile distinguere le tre condizioni glutine-correlate (WA, CD e NCGS), utilizzando gli algoritmi di recente pubblicazione³. Tenuto conto di un certo grado di sovrapposizione tra la NCGS e altre forme di condizioni che rispondono all'esclusione del frumento (ad es. IBS con risposta a una dieta a basso contenuto di FODMAP, WA non mediata da IgE), si raccomanda vivamente una rivalutazione periodica del paziente (ogni 6-12 mesi), comprensiva di un'accurata indagine sulle abitudini alimentari.

10. PATOGENESI

La patofisiologia della NCGS è attualmente in esame. Nello studio realizzato da Sapone *et al.*, i soggetti affetti da NCGS hanno evidenziato una normale permeabilità intestinale, nonché una normale espressione della claudina-1 e della ZO-1 rispetto ai pazienti celiaci, oltre a un'espressione notevolmente superiore della claudina-4. Negli stessi pazienti colpiti da NCGS, la sovra-regolazione della claudina-4 è stata associata a una maggiore espressione del recettore-2 di tipo Toll e a una riduzione significativa del marcatore di cellule T regolatrici FoxP3 rispetto ai soggetti di controllo e ai pazienti affetti da CD. Inoltre, nella NCGS è stato osservato un aumento di IEL di classe α e β , ma non un aumento nell'espressione genetica della mucosa intestinale correlata all'immuni-

tà adattativa, tra cui interleuchina (IL)-6, IL-21 e interferone $-\gamma$ (IFN- γ). Questi cambiamenti hanno suggerito l'importante ruolo del sistema immunitario innato dell'intestino nei pazienti affetti da NCGS, senza alcun coinvolgimento della risposta immunitaria adattativa¹. In uno studio volto a esplorare e confrontare gli eventi immunologici precoci della mucosa nella CD e della NCGS, Brottveit *et al.* hanno confermato che i pazienti affetti da CD hanno dimostrato in concomitanza una risposta immune innata e adattativa al challenge con glutine. I pazienti affetti da NCGS hanno mostrato unicamente livelli superiori di IFN- γ dopo il challenge con glutine e maggiore densità delle cellule T intra-epiteliali CD3(+) alla linea di base³³. Queste scoperte ammettono dunque la possibilità che esista anche una componente adattativa nella patogenesi della NCGS.

I fattori scatenanti di eventi della mucosa che possono condurre alla NCGS non corrispondono necessariamente con lo stesso ventaglio di peptidi del glutine responsabili dello sviluppo della CD. A differenza della mucosa duodenale nei pazienti affetti da CD, durante l'incubazione con gliadina, la mucosa dei pazienti colpiti da NCGS non esprime marcatori di infiammazione e i rispettivi basofili non sono attivati dalla gliadina³⁴. Secondo alcuni studi *in vitro*, gli ATI del frumento potrebbero avere un ruolo importante nell'innescare la risposta immune innata a livello dei monociti, dei macrofagi e delle cellule dendritiche intestinali, conducendo all'insorgere della NCGS. Gli ATI del frumento sono una famiglia di cinque o più proteine omologhe a basso peso molecolare, altamente resistenti alla proteolisi intestinale. Essi sono ritenuti i principali allergeni responsabili dell'asma del panificatore. Gli ATI attivano il complesso TLR4-MD2-CD14 e conducono alla sovra-regolazione dei marcatori di maturazione, oltre a provocare il rilascio di citochine pro-infiammatorie nelle cellule provenienti da pazienti celiaci e non e nelle biopsie di pazienti celiaci³⁵.

11. TENDENZE ATTUALI E FUTURE

L'ampia maggioranza degli esperti in tema di celiachia ha inizialmente reagito con un notevole scetticismo all'idea dell'esistenza della NCGS e al fatto che si trattasse di un concetto separato dalla CD. Questo è stato un *déjà vu* per coloro che hanno assistito alla lotta iniziale per convincere i professionisti del settore sanitario che la CD non era confinata entro il territorio europeo. In modo analogo, il dibattito sulla NCGS si trova probabilmente allo stesso punto della CD quarant'anni fa. Negli anni '80 sapevamo che la CD esisteva, ma avevamo poche informazioni sui meccanismi che conducono all'enteropatia, sulla componente genetica, sul tipo di risposta immune coinvolta nella patogenesi del disturbo, sulla multiforme presentazione clinica e sulle complicanze. Risentiva-

mo della mancanza di strumenti di screening robusti per condurre studi epidemiologici adeguatamente progettati e avevamo una comprensione limitata su come gestire il disturbo e le complicanze associate. La confusione sulla NCGS deriva dalla scarsità di fatti e dall'abbondanza di congetture sull'argomento. La migliore testimonianza è il confronto della letteratura pubblicata sulle due condizioni negli ultimi 63 anni. Le pubblicazioni sulla CD sono raddoppiate ogni 20 anni, passando da circa 2.500 nel periodo 1950-1970 a ~9.500 nel ventennio 1991-2010, con più di 2.000 paper già pubblicati tra il 2011 e il 2013. Al contrario, non esisteva praticamente alcuna pubblicazione scientifica sulla NCGS prima del 1970. Da allora, solo pochi paper sono stati pubblicati, di cui la maggior parte dopo il 2005. L'accresciuto interesse verso la NCGS è testimoniato dalla diminuzione del rapporto tra pubblicazioni sulla NCGS e sulla CD, passato da 1:438 nel periodo 1950-1970 a 1:10 nel periodo 2010-13 (Tabella 1).

Tenuto conto della letteratura limitata sull'argomento, non deve sorprendere il fatto che numerose domande sulla NCGS siano tuttora aperte. Qual è la frequenza della NCGS? Il range riportato nella letteratura è compreso tra lo 0,5% e il 6%, ma è basato su studi limitati e su definizioni della malattia ampiamente variabili da un rapporto all'altro. Solo recenti studi, condotti a regola d'arte, in doppio cieco e controllo con placebo, stanno fornendo dati supportati da prove sulla prevalenza della NCGS in condizioni cliniche specifiche, in particolare IBS¹¹. Vi è una forte necessità di sforzi maggiormente coordinati per eseguire studi multicentrici di ampia portata sulle condizioni, inclusi autismo e schizofrenia, in cui la NCGS è stata indicata come possibile causa in un sottogruppo di pazienti. L'assenza di biomarcatori confermati per una diagnosi che non sia basata su criteri di esclusione è ritenuta un aspetto di importanza fondamentale da molti esperti del setto-

Tabella 1. Tendenze relative alle pubblicazioni sulla celiachia (CD) e sulla sensibilità al glutine non celiaca (NCGS) durante gli scorsi decenni.

Periodo	CD	NCGS	RAPPORTO NCGS:CD
1950-1970	2.632	6	1 : 438
1971-1990	4.915	118	1 : 43
1991-2010	9.498	733	1 : 13
2011-2013	2.014	188	1 : 10

re. Proprio a tale scopo è attualmente in corso un ampio studio multicentrico controllato con placebo, con l'auspicio che possa fornire gli strumenti per una diagnosi più corretta, nonché per l'esecuzione di studi più rigorosi onde stabilire la prevalenza della NCGS in condizioni specifiche e nella popolazione generale. Recenti studi hanno sollevato l'ipotesi che, oltre al glutine¹¹ e agli inibitori dell'amilasi/tripsina del frumento³⁵, i carboidrati a catena corta, scarsamente fermentabili e a basso assorbimento¹⁹ possano contribuire ai sintomi (almeno quelli legati all'IBS) riscontrati nei pazienti colpiti da NCGS. Queste nuove scoperte necessitano di conferme tramite ulteriori studi condotti su un numero più ampio di soggetti. L'eventuale conferma di queste nuove scoperte spingerebbe probabilmente verso un cambiamento della nomenclatura, da NCGS a „sensibilità al frumento“, riflettendo il fatto che, oltre al glutine, altri componenti del frumento possono essere responsabili dei sintomi segnalati dai pazienti colpiti da NCGS.

RINGRAZIAMENTI

Desideriamo esprimere la nostra gratitudine a Jacqueline Pante (Schär, Merano, Italia) e ad Andrea Comaschi per il supporto logistico nell'organizzazione del meeting di Monaco.

CONFLITTO DI INTERESSI

Carlo Catassi ha percepito compensi per consulenza da Schär e Menarini Diagnostics. Luca Elli e Anna Sapone hanno percepito compensi per consulenza da Schär. Peter Green è membro del comitato scientifico consultivo di Alvine Pharmaceuticals e Alba Therapeutics. Il dott. Fasano ha percepito compensi per consulenza da Schär e detiene quote di Alba Therapeutics. Gli altri autori non hanno dichiarato alcun conflitto di interesse.

AVVISO

Il seguente report è stato pubblicato anche su *Nutrients* 2013,5, 3839-3853, disponibile online su www.mdpi.com/2072-6643/5/10/3839/pdf.

AUTORI

Carlo Catassi

Department of Pediatrics, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy

Julio C. Bai

Departamento de Medicina, Hospital de Gastroenterología "Dr. Carlos Bonorino Udaondo", Buenos Aires, Argentina

Bruno Bonaz

Department of Gastroenterology and Liver Diseases, CHU Grenoble, France

Gerd Bouma

Department of Gastroenterology and Hepatology, Vrije Universiteit Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

Antonio Calabrò

Gastroenterology Unit, Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences, University of Florence, Italy

Antonio Carroccio

Department of Internal Medicine, "Giovanni Paolo II" Hospital, Sciacca (AG) and University of Palermo, Italy

Gemma Castillejo

Pediatric Gastroenterology Unit, Hospital Universitari de Sant Joan de Reus, Universitat Rovira i Virgili, Spain

Carolina Ciacci

Department of Medicine and Surgery, University of Salerno, Baronissi Campus, Salerno, Italy

Fernanda Cristofori

Interdisciplinary Department of Medicine, University of Bari, Bari, Italy

Jernej Dolinsek

Gastroenterology Unit, Department of Pediatrics, University Medical Centre Maribor, Slovenia

Ruggiero Francavilla

Interdisciplinary Department of Medicine, University of Bari, Bari, Italy

Luca Elli

Centro Prevenzione e Diagnosi Malattia Celiaca Fondazione IRCCS Ca Granda, Milan, Italy

Peter Green

Department of Medicine, Celiac Disease Center, Columbia University Medical Center, New York, USA

Wolfgang Holtmeier

Division of Gastroenterology and Internal Medicine, Hospital Porz am Rhein, Köln, Germany

Peter Koehler

German Research Center for Food Chemistry, Leibniz Institute, Freising, Germany

Sibylle Koletzko

Division of Pediatric Gastroenterology and Hepatology, Dr. von Hauner Children's Hospital, University of Munich Medical Center, Munich, Germany

Christof Meinhold

Practice of Nutrition Therapy Meinhold & Team, Köln, Germany

David Sanders

Department of Gastroenterology and Hepatology, Royal Hallamshire Hospital and University of Sheffield Medical School, Sheffield, UK

Michael Schumann

Department of Gastroenterology, Rheumatology and Infectiology, Charité University Medicine, Berlin, Germany

Detlef Schuppan

Department of Medicine I, University Medical Center, Johannes Gutenberg University Mainz, Mainz, Germany and Division of Gastroenterology and Celiac Center, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Reiner Ullrich

Department of Gastroenterology, Rheumatology and Infectiology, Charité University Medicine, Berlin, Germany

Andreas Vécsei

St. Anna Children's Hospital, Vienna, Austria

Umberto Volta

Department of Medical and Surgical Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy

Victor Zevallos

Department of Medicine I, University Medical Center, Johannes Gutenberg University Mainz, Mainz, Germany and Division of Gastroenterology and Celiac Center, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Anna Sapone

Department of Gastroenterology, Second University of Naples, Naples, Italy

Alessio Fasano

Pediatric Gastroenterology and Nutrition, MassGeneral Hospital for Children, Boston, USA

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Sapone, A.; Lammers, K.M.; Mazarella G, Mikhailenko, I.; Carteni, M.; Casolaro, V.; Fasano, A. Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2010, 152, 75-80.
2. Sanders, D.S.; Aziz, I. Non celiac wheat sensitivity: separating the wheat from the chaff. *Am. J. Gastroenterol.* 2012, 107, 1908-1912.
3. Sapone, A.; Bai, J.C.; Ciacci, C.; Dolinsek, J.; Green, P.H.; Hadji-vassiliou, M.; Kaukinen, K.; Rostami, K.; Sanders, D.S.; Schumann, M.; Ullrich, R.; Villalta, D.; Volta, U.; Catassi, C.; Fasano, A. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Medicine* 2012, 10, 13.
4. Ludvigsson, J.F.; Leffler, D.A.; Bai, J.C.; Biagi, F.; Fasano, A.; Green, P.H.; Hadji-vassiliou, M.; Kaukinen, K.; Kelly, C.P.; Leonard, J.N.; Lundin, K.E.; Murray, J.A.; Sanders, D.S.; Walker, M.M.; Zingone, F.; Ciacci C. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013, 62, 43-52.
5. Mäki M. Lack of consensus regarding definitions of coeliac disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012, 9, 305-306.
6. Tanpowpong, P.; Ingham, T.R.; Lampshire, P.K.; Kirchberg, F.F.; Epton, M.J.; Crane, J.; Camargo, C.A. Jr. New Zealand Asthma and Allergy Cohort Study Group. New Zealand Asthma and Allergy Cohort Study Group. Coeliac disease and gluten avoidance in New Zealand children. *Arch. Dis. Child.* 2012, 97, 12-16.
7. Tanpowpong, P.; Broder-Fingert, S.; Katz, A.J.; Camargo, C.A. Jr. Predictors of gluten avoidance and implementation of a gluten-free diet in children and adolescents without confirmed celiac disease. *J. Pediatr.* 2012, 161, 471-475.
8. Digiacomo, D.V.; Tennyson, C.A.; Green, P.H.; Demmer, R.T. Prevalence of gluten-free diet adherence among individuals without celiac disease in the USA: results from the Continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2010. *Scand. J. Gastroenterol.* 2013, 48, 921-925.
9. Krosgaard, L.R.; Engsbro, A.L.; Bytzer, P. The epidemiology of irritable bowel syndrome in Denmark. A population-based survey in adults < 50 years of age. *Scand. J. Gastroenterol.* 2013, 48, 523-299.
10. Breckan, R.K.; Asfeldt, A.M.; Straume, B.; Florholmen, J.; Paulsen, E.J. Prevalence, comorbidity, and risk factors for functional bowel symptoms: a population-based survey in Northern Norway. *Scand. J. Gastroenterol.* 2012, 47, 1274-1282.
11. Biesiekierski, J.R.; Newnham, E.D.; Irving, P.M.; Barrett, J.S.; Haines, M.; Doecke, J.D.; Shepherd, S.J.; Muir, J.G.; Gibson, P.R. Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Am. J. Gastroenterol.* 2011, 106, 508-514.
12. Carroccio, A.; Mansueto, P.; Iacono, G.; Soresi, M.; D'Alcamo, A.; Cavataio, F.; Brusca, I.; Florena, A.M.; Ambrosiano, G.; Seidita, A.; Pirrone, G.; Rini, G.B. Non-Celiac Wheat Sensitivity Diagnosed by Double-Blind Placebo-Controlled Challenge: Exploring a New Clinical Entity. *Am. J. Gastroenterol.* 2012, 107, 1898-1906.
13. Volta, U.; Tovoli, F.; Cicola, R.; Parisi, C.; Fabbri, A.; Piscaglia, M.; Fiorini, E.; Caio, G. Serological tests in gluten sensitivity (non celiac gluten intolerance). *J. Clin. Gastroenterol.* 2012, 46, 680-685.
14. Mastrototaro, L.; Castellana, S.; Gentile, A.; Fontana, C.; Tandoi, E.; Dellatte, S.; Romagnoli, V.; Catassi, C.; Francavilla R. Gluten sensitivity in children: clinical, serological, genetic and histological description of the first paediatric series. *Dig. Liver Dis.* 2012, 44, S254-S255.
15. Brottveit, M.; Vandvik, P.O.; Wojnusz, S.; Løvik, A.; Lundin, K.E.; Boye, B. Absence of somatization in non-coeliac gluten sensitivity. *Scand. J. Gastroenterol.* 2012, 47, 770-777.
16. Boettcher, E.; Crowe, S.E. Dietary proteins and functional gastrointestinal disorders. *Am. J. Gastroenterol.* 2013, 108, 728-736.
17. Sainsbury, A.; Sanders, D.S.; Ford A.C. Prevalence of irritable bowel syndrome-type symptoms in patients with celiac disease: a meta-analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2013, 11, 359-365.
18. Vazquez-Roque, M.I.; Camilleri, M.; Smirk, T.; Murray, J.A.; Marietta, E.; O'Neill, J.; Carlson, P.; Lamsam, J. A Controlled Trial of Gluten-Free Diet in Patients With Irritable Bowel Syndrome-Diarrhea: Effects on Bowel Frequency and Intestinal Function. *Gastroenterology* 2013, 144, 903-911.
19. Biesiekierski, J.R.; Peters, S.L.; Newnham, E.D.; Rosella, O.; Muir, J.G.; Gibson, P.R. No effects of gluten in patients with self-reported non-celiac gluten sensitivity following dietary reduction of low-fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates. *Gastroenterology* 2013, 145, 320-328.
20. Batista, I.C.; Gandolfi, L.; Nobrega, Y.K.; Almeida, R.C.; Almeida, L.M.; Campos Junior, D.; Pratesi, R. Autism spectrum disorder and celiac disease: no evidence for a link. *Arq. Neuropsiquiatr.* 2012, 70, 28-33.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

21. Marcason W. What Is the Current Status of Research Concerning Use of a Gluten-Free, Casein-Free Diet for Children Diagnosed with Autism? *J. Am. Diet. Assoc.* 2009, 109, 572.
22. de Magistris, L.; Familiari, V.; Paschetto, A.; Sapone, A.; Frolli, A.; Iardino, P.; Carteni, M.; De Rosa, M.; Francavilla, R.; Riegler, G.; Militerni, R.; Bravaccio, C. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010, 51, 418-424.
23. Lau, N.M.; Green, P.H.; Taylor, A.K.; Hellberg, D.; Ajamian, M.; Tan, C.Z.; Kosofsky, B.E.; Higgins, J.J.; Rajadhyaksha, A.M.; Alaedini, A. Markers of celiac disease and gluten sensitivity in children with autism. *PLoS One* 2013, 8, e66155.
24. de Magistris, L.; Picardi, A.; Siniscalco, D.; Riccio, M.P.; Sapone, A.; Cariello, R. Antibodies Against Food Antigens in Patients with Autistic Spectrum Disorders. *BioMed. Research International* 2013; Article ID 729349, 1155/2013/729349.
25. Millward, C.; Ferriter, M.; Calver, S.; Connell-Jones, G. Gluten- and casein-free diets for autistic spectrum disorder. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2008, 2, CD003498.
26. Whiteley, P.; Haracopos, D.; Knivsberg, A.M.; Reichelt, K.L.; Parlar, S.; Jacobsen, J.; Seim, A.; Pedersen, L.; Schondel, M.; Shattock, P. The Scan-Brit randomised, controlled, single-blind study of a gluten- and casein-free dietary intervention for children with autism spectrum disorders. *Nutr. Neurosci.* 2010, 13, 87-100.
27. Vliissides, D.M.; Venulet, A.; Jenner, F.A. A double-blind glutenfree/ gluten-load controlled trial in a secure ward population. *Br. J. Psychiatry* 1986, 148, 447-452.
28. Potkin, S.G.; Weinberger, D.; Kleinman, J.; Potkin, S.G.; Weinberger, D.; Kleinman, J.; Nasrallah, H.; Luchins, D.; Bigelow, L.; Linnola, M.; Fischer, S.H.; Bjornsson, T.D.; Carman, J.; Gillin, J.C.; Wyatt, R.J. et al. Wheat gluten challenge in schizophrenic patients. *Am. J. Psychiatry* 1981, 138, 1208-1211.
29. Storms, L.H.; Clopton, J.M.; Wright, C. Effects of gluten in schizophrenics. *Arch. Gen. Psychiatry* 1982, 39, 323-327.
30. Cascella, N.G.; Kryszak, D.; Bhatti, B.; Gregory, P.; Kelly, D.L.; Mc Evoy, J.P.; Fasano, A.; Eaton, W.W. Prevalence of celiac disease and gluten sensitivity in the United States clinical antipsychotic trials of intervention effectiveness study population. *Schizophr. Bull.* 2011, 37, 94-100.
31. Cascella, N.G.; Santora, D.; Gregory, P.; Kelly, D.L.; Fasano, A.; Eaton, W.W. Increased prevalence of transglutaminase 6 antibodies in sera from schizophrenia patients. *Schizophr. Bull.* 2013, 39: 867-871.
32. Dickerson, F.; Stallings, C.; Origoni, A.; Vaughan, C.; Khushalani, S.; Leister, F.; Yang, S.; Krivogorsky, B.; Alaedini, A.; Yolken, R. Markers of gluten sensitivity and celiac disease in recent-onset psychosis and multi-episode schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 2010, 68, 100-104.
33. Brottveit, M.; Beitnes, A.C.; Tollefsen, S.; Bratlie, J.E.; Jahnsen, F.L.; Johansen, F.E.; Sollid, L.M.; Lundin, K.E. Mucosal cytokine response after short-term gluten challenge in celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. *Am. J. Gastroenterol.* 2013, 108, 842-850.
34. Bucci, C.; Zingone, F.; Russo, I.; Morra, I.; Tortora, R.; Pogna, N.; Scalia, G.; Iovino, P.; Ciacci, C. Gliadin does not induce mucosal inflammation or basophil activation in patients with non-celiac gluten sensitivity. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2013, [Epub ahead of print].
35. Junker, Y.; Zeissig, S.; Kim, S.J.; Barisani, D.; Wieser, H.; Leffler, D.A.; Zevallos, V.; Libermann, T.A.; Dillon, S.; Freitag, T.L.; Kelly, C.P.; Schuppan, D. Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* 2012, 209: 2395-2408.

Dr. Schär AG, Professionals, Winkelau 9, 39014 Postal (BZ)
professional@drschaer.com, www.drschaer-institute.com