

**ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITA' DI BOLOGNA**

**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICO-  
CHIRURGICHE GASTROENTEROLOGICHE E DEI TRAPIANTI**

**CICLO XXV**

**Settore concorsuale 06/D4 - Settore scientifico-disciplinare MED/12**

**TITOLO TESI**

**Le Coliti Microscopiche nei soggetti con diarrea  
non ematica: uno studio prospettico.**

*Coordinatore Dottorato: Chiarissimo Prof. Andrea Stella*

*Relatore: Chiarissimo Prof. Massimo Campieri*

*Correlatore: Chiarissimo Prof. Maurizio Vecchi*

*Tesi di Dottorato di Ricerca elaborata da:*

*Dott. Gian Eugenio Tontini*

*Esame finale anno 2013*

## ***Indice***

<b><i>INTRODUZIONE</i></b>	pagina	3
- Epidemiologia	“	5
- Eziologia e fattori di rischio	“	7
- Patogenesi	“	13
- Aspetti anatomo-patologici	“	15
- Manifestazioni cliniche	“	20
- Diagnosi	“	24
- Terapia	“	29
<b><i>SCOPO DELLO STUDIO</i></b>	“	39
<b><i>PAZIENTI E METODI</i></b>	“	40
<b><i>RISULTATI</i></b>	“	49
<b><i>DISCUSSIONE</i></b>	“	62
<b><i>CONCLUSIONI</i></b>	“	68
<b><i>BIBLIOGRAFIA</i></b>	“	70

## **INTRODUZIONE**

Con il termine di Coliti Microscopiche (CM) si definiscono due differenti entità istopatologiche, la Colite Linfocitica (CL) e la Colite Collagena (CC) [1, 2]. Le CM sono malattie infiammatorie croniche e idiopatiche caratterizzate dalla presenza di specifiche alterazioni microscopiche a carico della mucosa del colon [1, 2]. Tipicamente si manifestano con diarrea acquosa ad andamento cronico-ricorrente associata, in una quota minore di soggetti, ad altri disturbi intestinali riconducibili alla flogosi ed al malfunzionamento della mucosa colica [1, 2]. Il carattere non erosivo dello stato infiammatorio e la sua elettiva localizzazione a livello mucoso spiegano l'assenza di grossolane lesioni macroscopiche, la sostanziale negatività delle tradizionali indagini endoscopiche, nonché l'origine del nome.

La storia delle coliti microscopiche risale al 1976, anno in cui Lindström descrisse la colite su base collagenosa [3]. Negli anni successivi il termine "Colite Microscopica" venne usato per definire casi di profusa diarrea cronica con flogosi microscopica del colon [4], sino a quando, nel 1989, Lazenby *et al.* descrissero gli aspetti distintivi delle due entità coniando il termine di "Colite Linfocitica" [5].

Rispetto ad altre condizioni croniche e idiopatiche del tratto digestivo, quali le Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali (MICI), la nostra conoscenza delle CM è ancora assai limitata. Negli ultimi anni diversi studi hanno permesso di fare maggiore chiarezza e svelato una prevalenza più alta di quella ipotizzata in precedenza [1, 2]. Pur distinte sotto il profilo istopatologico, non è ancora chiaro se la CC e la CL debbano essere considerate come due differenti entità piuttosto che parte dello stesso disordine [1, 2,

6, 7]; viste le notevoli somiglianze sotto il profilo eziopatogenetico, istologico, clinico, terapeutico e prognostico sono tradizionalmente oggetto di studi congiunti e di una medesima gestione nella pratica clinica.

Il presente capitolo ha lo scopo di presentare le CM sulla base delle più recenti e solide evidenze scientifiche.

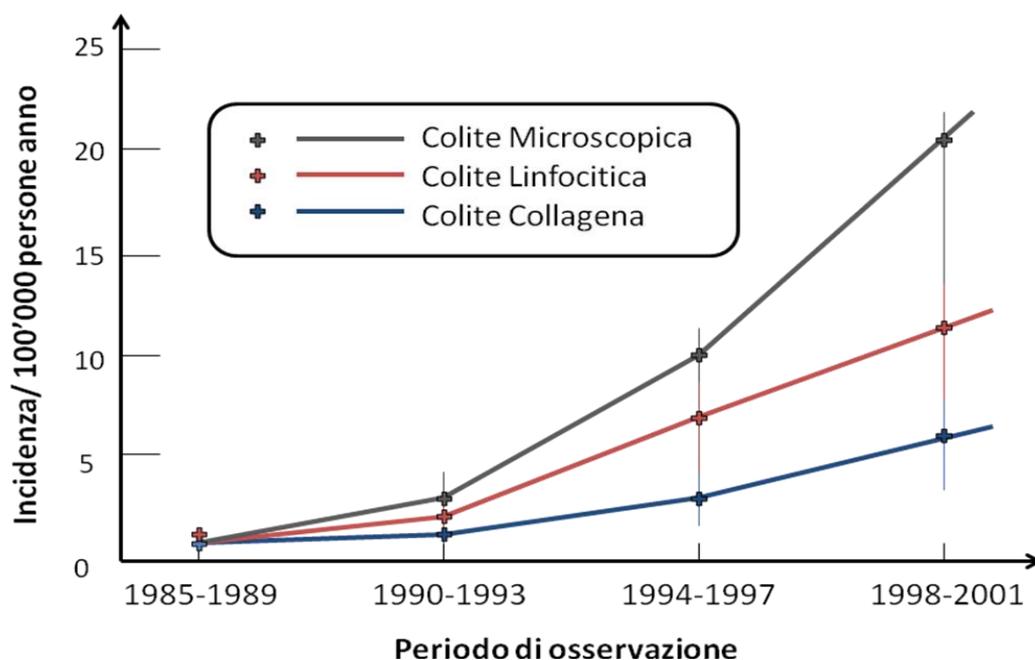
## EPIDEMIOLOGIA

L'incidenza delle CM nella popolazione generale è pari a 1-12 casi ogni 100.000 abitanti/anno [8-13]. In Europa e Nord America la CC mostra un'incidenza di 1.1-5.2 casi ogni 100.000 abitanti/anno, mentre la CL di 3,1-5,5 ogni 100.000 abitanti/anno [8-14]. Negli studi di popolazione, il numero di nuovi casi di CC solitamente coincide con quello di CL [8-14]. Negli ultimi venti anni le nuove diagnosi di CM sono risultate in continuo aumento [1, 2, 12, 15]. Secondo uno studio statunitense [12] dal 1985 al 2001 l'incidenza di CM è passata da 1,1 a 19,6 casi ogni 100.000 abitanti/anno (Grafico 1); al termine dello studio la prevalenza di CM era pari a 103 ogni 100.000 abitanti (39.3 CC, 63.7 CL) [12]. In Svezia, durante gli anni '90, è stato osservato un aumento del medesimo tasso da 6,5 a 11,8 casi ogni 100.000 abitanti/anno [9]. Tale incremento non ha ancora una comprovata spiegazione [1]. L'incidenza e la prevalenza delle CM potrebbero essere state a lungo sottostimate poichè spesso le CM vengono erroneamente diagnosticate come Sindrome dell'intestino irritabile o diarrea cronica funzionale [1, 16-23]. La crescente consapevolezza e la diffusione di percorsi diagnostici più accurati hanno notevolmente aumentato il riconoscimento di queste patologie [7, 23]. La teoria dell'iceberg, coniata da Logan nel 1991 per descrivere la prevalenza della malattia celiaca prima della diffusione dei test sierologici [24], sembra descrivere, in scala più ridotta, l'attuale andamento epidemiologico delle CM. D'altro canto, visto lo stretto legame tra CM e uso di farmaci, è plausibile che dietro tale incremento si celi anche l'espressione di differenti fattori di rischio nelle popolazioni a confronto, quali ad esempio, un maggiore utilizzo di terapie antiaggreganti e di inibitori della pompa protonica.

La diagnosi di CM può abbracciare qualunque fascia di età ma è assai più comune dopo la quinta decade di vita, con un picco d'incidenza posto tra i 53 ed i 69 anni [1, 2, 8-11, 25, 26]. Un *trial* Canadese ha stimato un rischio cinque volte maggiore nei soggetti oltre 65 anni rispetto ai più giovani [13]. Sebbene in letteratura vi siano numerosi riferimenti a diagnosi conclamate persino in età pediatrica [27-29], nelle casistiche sopra citate i soggetti affetti da CM sotto i 45 anni sono meno del 25% [8-11, 25, 26].

Il sesso femminile sembra essere più esposto al rischio di sviluppare una CM (F:M=3-9:1), soprattutto nel caso della CC [8, 10, 13, 30]. Tale differenza tra i sessi, nonché il miglioramento clinico talora osservato in gravidanza, sembrano suggerire l'esistenza di un effetto endocrinologico sulla risposta immunitaria simile a quello osservato nelle MICI [26].

**Grafico 1** Incidenza delle CM nella Olmsted County tra il 1985 ed il 2001, da Pardi et al.: "The epidemiology of microscopic colitis: a population based study in Olmsted County, Minnesota. *Gut* 2007; 56:504-8" [12].



## EZIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

L'eziologia delle CM è tuttora ignota nonostante sia stata oggetto di numerosi studi [1, 2]. I fattori di rischio associati sia all'insorgenza che all'andamento clinico dei sintomi sono molteplici. Come spesso accade in altri disordini immuno-mediati, anche nelle CM non è stato individuato alcun agente causale sufficiente e necessario e il processo patogenetico sembra piuttosto sostenuto dall'interazione tra molteplici cause endogene ed esogene [1, 2].

### AUTOIMMUNITA'

Sebbene siano prevalentemente di tipo indiretto, le prove a favore dell'esistenza di una genesi immuno-mediata sembrano piuttosto solide. La presenza di un disequilibrio nella risposta immunitaria si evince soprattutto dalla frequente associazione con altri disordini immunologici [1, 2, 31] e dalla risposta a trattamenti immunomodulanti [32-35]. Inoltre, la predilizione per il sesso femminile e lo spontaneo miglioramento talora osservato in gravidanza sono condizioni tipiche della maggior parte dei disordini autoimmuni.

Alcuni studi hanno evidenziato un'associazione non casuale con l'aplotipo HLA-DR3-DQ2 e con l'allele TNF2, già noti per la loro correlazione con la malattia celiaca [36-39]. Tali corredi genetici, così come l'allele HLA-1 [40, 41], sono accomunati da un marcato *linkage disequilibrium* [42].

A dispetto della Malattia di Crohn, nelle CM non è stato riscontrato il polimorfismo del gene NOD2/CARD15 [43].

Nel 2001 Jarnerot ha descritto alcuni nuclei familiari caratterizzati da un'elevata prevalenza di CC e CL, soprattutto tra sorelle, suggerendo l'ipotesi di una spiccata predisposizione immunitaria su base genetica [44].

In un sottoinsieme di soggetti con CM, Weidenhiller *et al.* hanno riscontrato una possibile genesi secondaria ad allergie alimentari [45]. In questo articolo pubblicato su *Gut* nel 2005, sono descritti sei casi conclamati di CM che presentavano manifestazioni di tipo allergico (pansinusite allergica, RAST e/o PRICK positività) o iper-eosinofilia. Gli accertamenti mirati a individuare potenziali allergopatie alimentari erano positivi nella maggior parte dei casi (5/6). Dieta ipoallergenica e terapia antistaminica hanno reso possibile la completa normalizzazione (4/6) o un significativo miglioramento dell'alvo (1/6); nell'unico paziente sottoposto a controllo endoscopico ed istologico è stata segnalata una netta riduzione dell'infiltrato eosinofilo [45].

Un ampio studio di popolazione nell'ambito dei trapianti di organi solidi ha riportato una prevalenza di CM pari a 8.8 casi ogni 1000 soggetti trapiantati [46]. Non è stata provata la natura di questa associazione che potrebbe dipendere tanto da fattori disimmuni quanto dalle politerapie, antirigetto e non, cui è sottoposta questa categoria di pazienti.

Nei pazienti con CC è stata riscontrata una maggiore prevalenza di autoanticorpi (anti-nucleo, anti-gliadina, anti-Saccharomyces cerevisiae) [47] e di immunoglobuline IgM [48]. Due differenti studi hanno inoltre riportato la presenza di p-ANCA in una minoranza di soggetti affetti da CM [48, 49]. Tuttavia, vista la loro scarsa sensibilità e specificità, nessuno dei suddetti test sierologici [47-49] o genetici [36-41] è utilizzabile per scopi clinici.

## MALASSORBIMENTO DI ACIDI BILIARI

Il sospetto che gli acidi biliari possano contribuire alla genesi delle CM come fattori endogeni endoluminali è supportato da alcuni indizi di origine clinica. Il malassorbimento degli acidi biliari è una riconosciuta causa di diarrea cronica secretiva tipica della resezione dell'ileo terminale. La budesonide, un cortisonico efficace nel trattamento delle CM, incrementa il trasporto ileale di acidi biliari [50, 51]. Il trattamento con resine chelanti, quali la colestiramina, sembra determinare un miglioramento dell'alvo in una quota di soggetti con CM [1]. Simili risposte sono state osservate anche in altre forme di disturbi alvini, nonché in soggetti con esito negativo ai test di malassorbimento di acidi biliari, suggerendo che il legame con gli acidi biliari non sia l'unico meccanismo antidiarroico delle resine [1; 52]. In aggiunta, gli studi che hanno valutato la presenza di malassorbimento di acidi biliari nelle CM presentano piccole dimensioni e risultati contrastanti [53-55].

Sembra invece più assodata l'assenza di una correlazione tra CM e colecistectomia e appendicectomia [56].

## FARMACI

Numerosi farmaci sono stati associati allo sviluppo e al decorso delle CM sin dagli anni '90 [57-61]. Quelli più frequentemente citati appartengono alla categoria degli anti-infiammatori non steroidei (FANS), degli inibitori della pompa protonica e delle statine [36]. Altri principi attivi oggetto di numerose segnalazioni sono la ticlopidina, la ranitidina, l'acarbosio e la sertralina [62]. L'elenco delle segnalazioni è molto esteso ed esula dagli obbiettivi del presente studio; la tabella 1 riassume le principali correlazioni segnalate tra CM e uso di farmaci [2].

**Tabella 1** Stima del grado di probabilità che uno specifico medicinale determini una CM, da Bougerie e Pardi; “Review article: drug-induced microscopic colitis - proposal for a scoring system and review of the literature. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22:277-84” [63]; modificata nel 2012 da Münch et al., *European Microscopic Colitis Group* [2].

Alta probabilità	Media probabilità	Bassa probabilità
Acarbosio	Carbamazepina	Cimetidina
Aspirina e FANS	Colecoxib	Sali d'Oro
Clozapina	Duloxetina	Piascledine
Entocapone	Fluvastatina	
Flavonoidi	Simvastatina	
Lanzoprazolo	Flutamide	
Omeprazolo	Oxerotone	
Esomeprazolo	Madopar	
Ranitidina	Paroxetina	
Sertralina	Stalevo	
Ticlopidina		

Bougerie e Pardi, in una *review* del 2005 [63], hanno proposto di classificare l’associazione tra farmaci e CM in base a criteri cronologici [64], clinici [65] e causali [66-69] assegnando un punteggio da 0 (“not related”) a 4 (“almost definite”) (Tabella 2). Secondo questi Autori esiste un sottogruppo di CM, del tutto indistinguibili dalle altre, secondarie a una genesi farmaco-indotta e, pertanto, meritevoli di un diverso approccio terapeutico (con riferimento al Paragrafo: “Terapia” – “Approccio alle coliti farmaco-indotte”) [70]. Il periodo di latenza medio tra l’introduzione del trattamento tossico e l’esordio della CM è di 5 anni [1; 58]. Dopo l’esordio, il decorso dei sintomi è generalmente legato all’assunzione del farmaco: spesso sono sufficienti 1-2 settimane di sospensione per osservare un significativo miglioramento e pochi giorni di reintroduzione per la recidiva [1; 70].

Il meccanismo attraverso il quale questi farmaci potrebbero determinare e sostenere i disordini immunologici alla radice delle CM non è per nulla noto. E’ stato ipotizzato un

meccanismo sia diretto che indiretto [63]. Nel primo caso la reazione immune sarebbe un evento secondario agli effetti tossici legati alla dinamica farmacologica; nel secondo, principi attivi e/o eccipienti fungerebbero da *trigger* nei portatori di una condizione disimmune. Ad oggi, non vi sono chiare prove eziopatogenetiche che supportino tali tesi. In aggiunta, gli studi di popolazione che associano le CM all'uso di farmaci non sono basati su solide analisi multivariate. Alcuni Autori hanno quindi sollevato dubbi circa l'esistenza di CM farmaco-indotte e ipotizzato che le evidenti correlazioni epidemiologiche possano riflettere la presenza di *bias* nella popolazione dei soggetti in terapia farmacologica, quali la maggiore esposizione a indagini invasive come la colonscopica o la maggiore prevalenza di disturbi dell'alvo secondaria ai noti effetti collaterali dei farmaci stessi [71].

## TABAGISMO

Secondo uno studio osservazionale svedese basato su 116 soggetti con CM, il fumo di sigaretta è un fattore di rischio per CC e i fumatori sviluppano la malattia dieci anni più precocemente dei non fumatori [72]. Il rischio correlato al fumo sembra particolarmente accentuato tra i più giovani: il 75% dei pazienti con CC di età compresa tra 16 e 45 anni è un fumatore ( $p < 0.001$ ) [72]. In una recente revisione bibliografica, Rasmussen e Munk riscontrano un elevato tasso di tabagismo sia tra soggetti con CC (CC: 41%, 95%-IC: 51–58%) che con CL (LC 56%, 95%-CI: 36–46%) [7].

## AGENTI INFETTIVI

Alcuni indizi suggeriscono un ruolo di agenti microbici nello sviluppo delle CM attraverso un'azione citotossica diretta, la produzione di tossine o fungendo da *trigger*

per l'induzione di reazioni autoimmuni in analogia a quanto ipotizzato per le CM farmaco-indotte. I miglioramenti osservabili in taluni pazienti con resine chelanti le tossine batteriche, quali la colestiramina [52; 73], con salicilati dotati di effetti antibatterici, come il subsalicilato di bismuto [74], o con antibiotici [26, 75-77], sembrano fornire una prova indiretta del coinvolgimento di microrganismi nell'eziopatogenesi di questi disordini.

All'inizio dello scorso decennio, diversi Autori hanno ipotizzato un legame con infezioni sostenute da patogeni intestinali, quali *Yersinia species* [78] e *Clostridium difficile* [79-82] ma, ad oggi, non vi sono prove solide di una relazione causa-effetto.

Infine, la CL presenta un quadro anatomo-patologico indistinguibile dalla "brainerd diarrhea", una profusa diarrea acuta a evoluzione auto-limitante sospettata di avere un'origine infettiva [83].

## PATOGENESI

Alcuni mediatori dell'infiammazione sono aumentati nella mucosa interessata da CM. Tra questi figurano le metalloproteasi, i fattori di crescita (TGF- $\beta$ , VEGF), le citochine T<sub>H</sub>1, l'ossido nitrico (NO), NF $\kappa$ B e le prostaglandine [1, 36]. In particolare, la produzione di ossido nitrico è sostenuta dall'iperattività della forma inducibile dell'enzima NO Sintetasi (iNOS) a livello delle cellule epiteliali coliche [84, 85]. E' stato dimostrato un ruolo chiave di NF $\kappa$ B nella trascrizione di iNOS [86]. La budesonide, gluco-corticoide usato nel trattamento delle CM, riduce i livelli di iNOS mRNA controllando la sintesi di NO [87].

Secondo uno studio del 1999, l'accumulo di linfociti T CD4+ nella lamina propria e di linfociti intra-epiteliali CD8 si associa al danno epiteliale e all'espressione di complessi di isto-compatibilità di tipo II (MHC-II) [88], suggerendo una patogenesi MHC-II mediata. Una successiva ricerca ha documentato in entrambe le forme di CM un profilo citochinico di tipo T helper 1 (T<sub>H</sub>1), caratterizzato dalla sovraregolazione di interferone gamma (IFN $\gamma$ ), del fattore di necrosi tissutale alfa (TNF $\alpha$ ) e da una normale espressione di citochine IL2 e IL4 (T<sub>H</sub>2) rispetto ai soggetti di controllo [89]. Nel medesimo studio, la sovraregolazione di IFN $\gamma$  e TNF $\alpha$  correlava con l'induzione di iNOS a livello delle cellule epiteliali e dei macrofagi nella lamina propria.

Tali stimoli pro-infiammatori potrebbero essere alla base delle alterazioni morfologiche e funzionali osservate a carico dei fibroblasti nella matrice sub-epiteliale nella CC. Durante la loro migrazione dal fondo verso la sommità delle cripte di Lieberkuhn, i fibroblasti maturano gradualmente una spiccata produttività di collagene in condizioni normali. Nelle CC, i fibroblasti si comportano come miofibroblasti e

presentano precocemente attività secretive abnormi [90-93]. La matrice extracellulare è sovvertita sia sotto un profilo qualitativo che quantitativo ed il suo fisiologico processo di rinnovamento mostra difetti nei processi di fibrolisi che favoriscono l'ulteriore accumulo di collagene subepiteliale [94, 95].

Esperimenti in vitro su campioni di mucosa colica coinvolta dall'una o dall'altra delle forme di CM rilevano significative alterazioni a carico della funzione di barriera che regrediscono solo parzialmente nelle fasi di remissione spontanea o indotta dal trattamento con budesonide [96]. Non è chiaro se tale disfunzione della barriera epiteliale sia un evento primitivo piuttosto che secondario nella genesi delle CM.

Risulta ormai assodata la mancanza di correlazione tra lo spessore del collagene subepiteliale o il numero di linfociti intra-epiteliali e l'andamento dei sintomi [97]. L'intensità della flogosi a livello della lamina propria sembra essere invece proporzionata con la severità dei sintomi, in particolare con la diarrea [97-100].

Bürgel *et al.*, analizzando la patogenesi della diarrea nella CC, hanno dimostrato un ridotto assorbimento di ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  accompagnato da una componente secretiva mediata dal trasporto attivo di ioni  $\text{Cl}^-$  [101]. L'analisi elettrolitica dei campioni fecali risulta compatibile con una genesi preminentemente secretiva [102]; d'altro canto, il test del digiuno determina una rilevante remissione dei sintomi suggerendo l'aggiuntiva presenza di una genesi osmotica [103].

## ASPETTI ANATOMO-PATOLOGICI

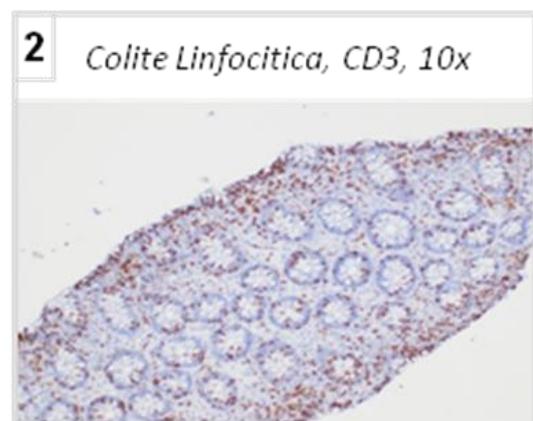
Dal punto di vista microscopico, con il termine di Coliti Microscopice (CM) si definiscono due specifiche entità: la Colite Linfocitica (CL) e la Colite Collagena (CC) [1,2, 104]. Le frequenti sovrapposizioni cliniche, epidemiologiche e patologiche [2, 5, 62, 98, 105, 106] sono tali da mettere spesso in discussione il significato di tale distinzione inseguendo l'idea di un'unica patologia che attraversa fasi differenti o che esprime diversi fenotipi in funzione delle condizioni endogene ed esogene incontrate [1, 2, 6, 7, 107]. Ciononostante, la conversione da una forma all'altra è un evento raro [108] e, in mancanza di maggiori evidenze, prevale l'originale orientamento nosologico basato sugli aspetti istologici [1, 2, 108].

Gli attributi microscopici delle CM presentano tipicamente una distribuzione irregolare lungo il colon, spesso segmentaria e di intensità variabile [2]. Diversi studi riportano una marcata evanescenza delle lesioni microscopiche nei controlli endoscopici seriati [97, 105, 109] rendendo arduo il tentativo di correlazione con i dati clinici.

Elemento comune ed imprescindibile per diagnosi di CM è la flogosi cronica a carico della lamina propria [1, 2, 36, 62, 104]. Questa è caratterizzata da un infiltrato composto da linfociti e plasmacellule con la perdita del fisiologico gradiente cellulare, secondo cui, queste ultime popolano prevalentemente le basi delle cripte ghiandolari [104]. Anche i granulociti eosinofili e neutrofili possono invadere la lamina propria e, più raramente, lo strato epiteliale [110]. Talvolta si possono osservare focolai di criptite associati ad un ricco infiltrato di neutrofili intra-epiteliali [2, 36, 104].

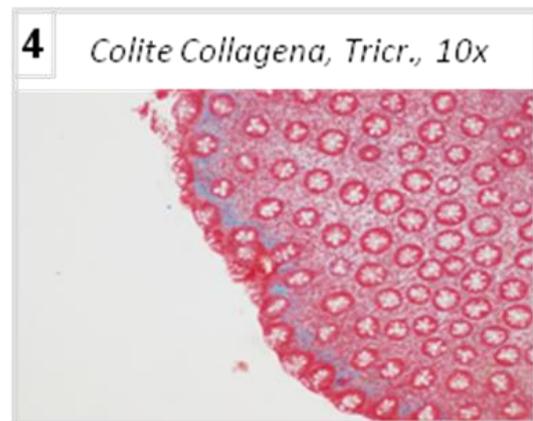
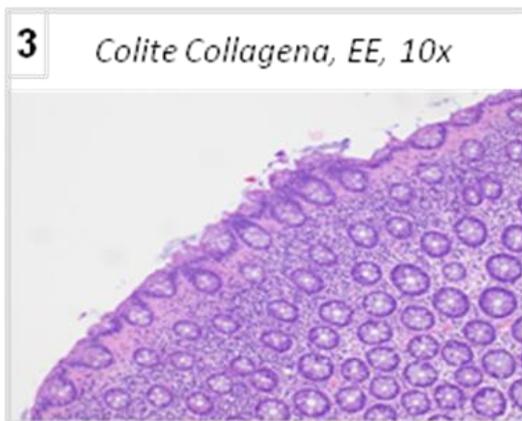
## COLITE LINFOCITICA

La peculiarità della CL è rappresentata dal ricco infiltrato linfocitario a livello intra-epiteliale, definito dalla presenza di più di 20 linfociti ogni 100 cellule epiteliali [36, 111-113]. Comunemente tale infiltrato presenta un gradiente decrescente dal colon ascendente al retto [2]. I linfociti intra-epiteliali della CL sono per lo più cellule T con una netta prevalenza delle popolazioni CD-8 positive [2]. L'epitelio coinvolto può mostrare segni di sofferenza quali appiattimento delle cellule colonnari, muco-deplezione e segni di degenerazione citoplasmatica (vacuoli citoplasmatici e nuclei picnotici) [2]. Le cellule giganti multinucleate, gli aggregati di macrofagi e la metaplasia a cellule di Paneth nel colon sinistro sono riscontri più rari [2, 114]. Per definizione, non devono osservarsi depositi di collagene sub-epiteliale nella CL, altrimenti va considerata la diagnosi di CC [111] o piuttosto di CM non altrimenti specificata [115]. Di fronte a quadri evidenti, la colorazione con ematossilina eosina è spesso sufficiente per formulare l'ipotesi diagnostica (Immagine n.1); altrimenti, l'immunohistochimica per cellule CD3 consente una più accurata conta dei linfociti intra-epiteliali (Immagine n.2)



## COLITE COLLAGENA

Il requisito diagnostico della CC è rappresentato dalla presenza di una banda fibrosa collagenosica dello spessore superiore a 10 µm posta immediatamente al di sotto dello strato epiteliale [1, 2, 36]. Tale banda di collagene tende ad assottigliarsi attorno alle cripte ghiandolari [2], può essere invasa dall'infiltrato infiammatorio [111] e mostrare un artefatto quasi patognomonico: il focale scollamento dell'epitelio [116]. L'infiammazione ed i segni di sofferenza epiteliale citati a proposito della CL sono presenti anche nella CC, solitamente con una minore conta di linfociti intra-epiteliali ed una più frequente e cospicua presenza di eosinofili e ascessi criptici [2, 36, 116]. Qualora il quadro microscopico appaia incerto in ematossilina eosina (Immagine n.3), la colorazione tricromica può offrire una più chiara evidenza della banda collagenosica (Immagine n.4).



*Le figure 1-4 corrispondono a fotografie di preparati istologici utilizzati per il presente studio, gentilmente fornite dal Servizio di Anatomia Patologica e Citodiagnostica dell'Istituto I.R.C.C.S. Policlinico San Donato.*

## COLITE MICROSCOPICA NON ALTRIMENTI SPECIFICATA (“CMnas”)

Il termine di Colite Microscopica non altrimenti specificata è stato coniato da Fraser (“MCnos”) per descrivere un gruppo di pazienti con diarrea, pan-colonscopia sostanzialmente negativa e infiltrato cellulare a livello della lamina propria colica associato ad un anomalo strato di collagene subepiteliale e/o all’incremento dei linfociti intra-epiteliali con caratteristiche non sufficienti per porre diagnosi di CC e CL [115].

In questi casi, la revisione endoscopica e microscopica può orientare la diagnosi differenziale tra varie forme di CM o di Malattia Infiammatoria Cronica Intestinale [36]. Nelle CM, soprattutto nella CL, l’architettura ghiandolare è ben conservata [36]. In presenza di criptite acuta, numerosi ascessi criptici, plasmacitosi basale profonda o distorsione ghiandolare la diagnosi va più probabilmente ricercata tra le Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali [36].

## COLITE LINFOCITICA PAUCICELLULARE

Goldstein e Bhanot hanno definito “Paucicellulari” una serie di casi sospetti per CL caratterizzati da focolai di moderato infiltrato in lamina propria e moderata infiltrazione linfocitaria intra-epiteliale alternati ad aree di mucosa normale [117]. Un recente studio ha dimostrato che l’infiltrato cellulare in lamina propria di queste CM si differenzia nettamente da quello della CC e CL per essere CD25 e FOXP3 negativo [100]. L’esistenza di differenti meccanismi pato-fisiologici suggerisce di riconsiderare la Colite Linfocitica Paucicellulare non come una forma incompleta di CL ma come una nuova entità [100].

### COLITE MICROSCOPICA A CELLULE GIGANTI

La Colite Microscopica a Cellule Giganti è un'inusuale variante di CM che, oltre a soddisfare i criteri diagnostici di una tra CC o CL, presenta cellule giganti a livello subepiteliale [118]. Secondo le poche segnalazioni in letteratura, tale variante sembra rispondere alle terapie steroidee come una classica CM [118].

### COLITE MICROSCOPICA GRANULOMATOSA

Ad oggi, sono stati descritti pochissimi casi di questa variante di CM definita dalla presenza di granulomi ed ascessi criptici al fianco dell'infiltrato flogistico cronico in lamina propria [119, 120]. Il quadro endoscopico negativo, la diarrea acquosa e l'assenza di lesioni extra-coliche la differenziano da altri disordini granulomatosi quali la Malattia di Crohn, mentre l'assenza di un significativo infiltrato linfocitario intra-epiteliale e di depositi collagenosici subepiteliali dalle classiche CM [119].

## MANIFESTAZIONI CLINICHE

Il sintomo principale delle CM è rappresentato dalla diarrea acquosa cronica talora accompagnata da diarrea notturna, urgenza, incontinenza, meteorismo e lieve calo ponderale [26, 109, 121]. I dolori addominali compaiono in una minoranza di soggetti e sono solitamente di grado lieve-moderato [2]. Eccezionalmente sono stati riportati anche disidratazione, mucorrea o proctorragia [2].

Tradizionalmente si definisce “diarrea” la presenza di più di tre scariche alvine al dì con feci di ridotta consistenza e massa aumentata (>200gr) [122]. Tale disturbo dell'alvo può essere definito “cronico” se dura da più di quattro settimane [122]. La diarrea “acquosa” si caratterizza per la consistenza liquida, l'assenza di muco e sangue ed una genesi di tipo secretivo.

Dal punto di vista clinico, CC e CL sono indistinguibili. Tuttavia, secondo alcuni studi le CC tendono a presentarsi con sintomi più severi e persistenti [25, 98, 123].

Isolati *case reports* segnalano la possibilità di perforazioni spontanee [124-126] ma ad oggi le complicanze severe delle CM sembrano piuttosto aneddotiche. Il rischio di carcinoma colo-rettale [127-129], di neoplasie maligne [128] e la mortalità sono simili a quelli attesi nella popolazione generale [128, 129]. Un recente studio pilota riporta lievi ma significative alterazioni a carico della densità e del metabolismo osseo in 14 CM (10 CL, 4 CC) rispetto a una popolazione controllo paragonabile per età, sesso e stato post-menopausale [130]; tra i criteri di esclusione figuravano trattamenti steroidei della durata superiore a otto settimane o eseguiti negli ultimi 6 mesi.

## STORIA NATURALE

La storia naturale delle CM è tipicamente benigna [25, 123, 131-135] e in molti casi caratterizzata da un andamento cronico-ricorrente [1, 136-139]. L'esordio dei sintomi è spesso insidioso ma nel 40% dei casi si manifesta improvvisamente [26].

L'andamento negli anni è piuttosto imprevedibile ed ampiamente variabile tra i diversi studi. La remissione spontanea a distanza di alcuni anni dall'esordio è osservabile nel 60-93% delle CL [123, 139, 140] e nel 2-92% delle CC [26, 139, 141-145]. Secondo i dati pubblicati da Baert *et al.* nel 1999 [98], il tasso di remissione spontanea a distanza di 6 mesi è pari al 59% per la CL ed al 34% per la CC; in più, una considerevole quota di coloro che non raggiungono la piena remissione (rispettivamente pari al 25 e 40%) presenta comunque un "significativo miglioramento clinico" [98]. Anche nel breve termine (6-8 settimane) la CL sembra mostrare un più alto tasso di remissione spontanea o indotta da placebo (48%) [143] rispetto la CC (12-20%) [140-142]. In una coorte storica svedese [25], il 63% delle CL mostra una prolungata fase di remissione clinica dopo l'esordio.

La scarsa propensione della CC alla remissione clinica nel breve-medio termine è stata confermata anche da studi clinici randomizzati sull'efficacia della budesonide che riportano tassi di recidiva pari al 60-80% al termine di un periodo di induzione di 6-8 settimane [146-148].

## DISORDINI IMMUNOLOGICI ASSOCIATI

I soggetti con CM hanno un'elevata probabilità di sviluppare altri disturbi immunologici con un *odds ratio* pari a 11.0 per la CC (5.1–23.8,  $p < 0.001$ ) e a 16.6 per la CL (6.4–43.1,  $p < 0.001$ ) [31]. I disturbi più frequenti sono le spondilo-artropatie, la

malattia celiaca, le tiroiditi e il diabete mellito tipo I [1]. In particolare l'associazione con la malattia celiaca presenta notevole importanza sul profilo clinico e molti punti di interesse scientifico. Alcuni studi documentano alterazioni microscopiche tipiche della celiachia in un terzo di soggetti affetti da CM [149, 150]. In un'ampia coorte di celiaci è stata riscontrata una prevalenza di CM pari al 4.3% che configura un rischio 72 volte maggiore rispetto a soggetti non celiaci [151]. Inoltre, la prevalenza di alterazioni tipiche per la malattia celiaca in soggetti con diagnosi di CM varia tra il 2% e il 9% [9, 26, 30, 77]. Ciononostante, la sierologia tipica delle enteropatie sensibili al glutine è riscontrabile in una quota molto più esigua di CM: gli anticorpi anti-endomisio variano da 0 a 4% [37, 48, 152] con un titolo anticorpale significativamente ridotto [48]; nelle medesime casistiche gli anticorpi anti-transglutaminasi risultano del tutto assenti [37, 48, 152]. Nel loro insieme questi dati ridimensionano il significato clinico delle citate associazioni microscopiche e sottolineano l'importanza di un'accurata diagnosi di esclusione di fronte a casi di celiachia refrattaria o colite microscopica non responsiva ai trattamenti di prima e seconda linea [1].

Alcuni Autori hanno anche segnalato un'associazione tra CC e Malattia di Crohn [26, 153-155]. Tuttavia, vista la ridotta incidenza di tali casi e le possibili sovrapposizioni dei due disordini sotto il profilo isto-patologico come la metaplasia delle cellule di Paneth, la distorsione dell'architettura ghiandolare e l'infiltrato linfomonocitario [156], è plausibile che siano solamente frutto del caso oppure conseguenza di una erronea diagnosi differenziale.

## QUALITA' DELLA VITA ASSOCIATA ALLA SALUTE (HRQoL) E REMISSIONE CLINICA

La qualità della vita intesa come *health related quality of life* (HRQoL) [157, 158] sembra ridotta nei soggetti con CM, specialmente nei casi di CC [134, 135, 159, 160] ed in presenza di sintomi “*IBS-like*” a suggerirne uno stato di attività clinica [161].

La mancanza di un *biomarker* validato che definisca lo stato di attività della CM condiziona notevolmente l'interpretazione dei risultati dei *trial* clinici. In mancanza di più sostanziali evidenze capaci di definire le fasi di attività e di remissione clinica, il Gruppo Europeo per lo studio delle Coliti Microscopiche (European Microscopic Colitis Group) propone l'uso di un *cut-off* mutuato proprio da una ricerca sulla HRQoL [2; 160]. Secondo tale ricerca basata su 116 soggetti affetti da CC e pubblicata su *Inflammatory Bowel Disease* nel 2009, la presenza di < 3 evacuazioni die ed una media settimanale < 1 evacuazione giornaliera di feci acquose correlano con una HRQoL normale o solo lievemente alterata e, pertanto, con uno stato di remissione clinica [160].

## DIAGNOSI

La diagnosi di CM si basa su criteri clinici, endoscopici ed istologici, nonché su un'accurata analisi delle possibili diagnosi differenziali [1, 2, 62]. Quando sussistono criteri di sospetto clinico in assenza di riscontri clinico-anamnestici che suggeriscano un diverso orientamento diagnostico, l'indagine pan-colonscopica e l'analisi istologica dei campioni biotici della mucosa colica hanno lo scopo di escludere altre condizioni morbose del tratto digestivo inferiore e ricercare le caratteristiche distintive delle CM [1, 2, 62].

Attualmente, non esistono accurati test diagnostici alternativi allo strumento endoscopico ed istologico. Come discusso in un precedente paragrafo, i test sierologici [47-49] e le analisi genetiche [36-41] sono dotati di bassi livelli di sensibilità e specificità, pertanto sono privi di alcun valore nella pratica clinica.

I marcatori fecali dei processi flogistici che interessano il tratto digestivo inferiore recentemente adottati nella pratica clinica per la diagnosi e il monitoraggio delle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali, quali calprotectina [162, 163] e lattoferrina [164], non sono stati ancora adeguatamente valutati nell'ambito delle CM. In particolare non è noto quale sia il loro valore predittivo negativo o quale sia il *cut-off* di riferimento per considerare il test negativo o a basso rischio. Inoltre, un risultato positivo favorirebbe l'indicazione alla stessa indagine endoscopica [165]. Gli unici dati disponibili provengono da uno studio di ridotte dimensioni che ha confrontato i livelli di calprotectina e lattoferrina fecale in soggetti sani e con CC [166]. In 21 pazienti con CC attiva la calprotectina ha mostrato un moderato ma significativo incremento (mediana: 80 ug/g; range: 6.25–1899 ug/g) rispetto ai dati accoppiati registrati durante

la successiva fase di remissione clinica (12 pazienti, mediana: 26 ug/g range: 6.25–340 ug/g) ed al gruppo di controllo (13 soggetti, mediana: 6.25 ug/g; range: 6.25–99 ug/g); al contrario, i livelli di lattoferrina sono risultati alterati solamente in un soggetto con CC in fase attiva [166].

#### CRITERI CLINICI

La CM è presente nel 10% dei casi di diarrea cronica non ematica e nel 20% di questi pazienti con un'età superiore ai 70 anni [2, 25, 136]. L'uso di farmaci, soprattutto quelli riportati in tabella 1, può orientare il giudizio clinico verso la diagnosi di CM ma presuppone anche di considerare la presenza di semplici effetti collaterali [1, 2, 36, 57-70]. Alcune condizioni morbose, quali le patologie autoimmuni [1, 31, 151] ed il trapianto di organi solidi [46], configurano un elevato rischio di CM. Pertanto, la diagnosi di CM deve essere attentamente considerata in casi di diarrea non ematica associati ad una malattia celiaca a stretto regime dietetico [167] o in spondiloartropatie in terapia con FANS [132, 168-170]. Inoltre, alcuni recenti studi riportano un'elevata prevalenza di CM in soggetti in precedenza etichettati con la diagnosi di sindrome del colon irritabile [1, 16-23].

#### CRITERI ENDOSCOPICI

Lo strumento diagnostico essenziale per la diagnosi di CM è la pan-colonscopia con biopsie multiple [2]. Tale indagine consente innanzitutto di individuare lesioni a carico dell'ileo distale e del colon-retto suggestive di altre condizioni morbose del tratto digestivo inferiore, quali neoplasie, enterocoliti da FANS o Malattie Infiammatorie

Croniche Intestinali. Secondariamente, l'esame endoscopico consente il campionamento bioptico multiplo necessario per le indagini istologiche.

L'indagine endoscopica è caratteristicamente priva di riscontri significativi nelle CM. Tuttavia, quello che sembrava un paradigma, è stato recentemente ridimensionato per due differenti ragioni. In primis, secondo alcune casistiche, sfumati ed aspecifici segni di flogosi mucosa colica sono presenti nel 20-34% dei casi di CM [25, 26, 156, 171]; i più citati sono l'edema, la scomparsa o la tortuosità del reticolo vascolare mucoso, la granulosità del profilo, le chiazze eritematose, i "red spots" e le nodularità mucose. Lesioni più grossolane sono piuttosto sporadiche. In letteratura sono riportati oltre 40 casi di CM, soprattutto CC, con ulcere aftoidi, fissurazioni lineari, lesioni "a graffio di gatto" ("cat scratches") talora dotate di stillo ematico ("mucosal tears") o alternate a sottili esiti cicatriziali lineari [172, 173]. Tali riscontri possono essere isolati o presentare una distribuzione segmentaria e sono spesso rilevabili mediante un esame endoscopico standard [173]. Nella CC sono state descritte anche pseudo-membrane mucose con test microbiologici negativi per *Clostridium difficile* [174]. L'effettiva attribuzione di tali casi al sottostante processo disimmune collagenosico piuttosto che ad una concomitante componente infettiva richiede ulteriori riscontri [173].

Secondariamente, il rapido progresso tecnologico dell'*imaging* endoscopico di quest'ultimo decennio consente oggi l'utilizzo di strumenti ad altissima definizione, di magnificazione endoscopica, di cromoendoscopia ottica (NBI, CBI) o virtuale (i-scan, FICE). Gli endoscopi di ultima generazione sono capaci di rivelare, mai come nel passato, fini irregolarità della superficie mucosa e del reticolo vascolare epiteliale e mucoso [175, 176]. In un articolo pubblicato su *Endoscopy* nel 2011 [177], Suzuki e

collaboratori descrivono le alterazioni a carico del *pattern* della superficie mucosa tipiche delle CM attraverso l'impiego di sistemi endoscopici ad elevata definizione (i1080) unitamente alla cromoendoscopia con indigo carminio. In tredici soggetti su altrettanti indagati, dieci CC e tre CL, sono state così rilevate sfumate alterazioni a carico del pattern mucoso che spaziano dalla scomparsa delle normali scanalature lineari e parallele della superficie mucosa ("innominate groves") sino ad assumere un aspetto più irregolare a mosaico o nodulare [177].

La maggiore complessità nell'interpretazione delle immagini e la scarsa diffusione di queste tecnologie, condizionano ad oggi un loro utilizzo prevalentemente finalizzato a scopi scientifici nei soli centri di riferimento. Va precisato che, attualmente, l'esito di avanzate tecniche di *imaging* endoscopico non deve condizionare l'indicazione all'esecuzione delle biopsie necessarie per definire la diagnosi secondo gli attuali criteri standard.

#### CRITERI ISTOLOGICI

Le alterazioni istologiche tipiche delle CM hanno spesso un andamento discontinuo lungo il colon con ampie aree risparmiate, coinvolte da processi infiammatori più lievi o dotate di lesioni poco rappresentative [2, 173]. Ne consegue la necessità di acquisire campionamenti biotici multipli provenienti da più segmenti colici [2].

Alcuni studi indicano la necessità di raccogliere biopsie dal colon destro e trasverso per ottimizzare la resa diagnostica [105, 178], mentre altri dimostrano che è sufficiente il campionamento di sigma e colon discendente [5, 109, 179, 180]. Le sole biopsie della mucosa rettale non sono comunque sufficienti per la diagnosi di CM [105, 181].

Da un punto di vista meramente microscopico la diagnosi differenziale tra CM e altri disordini non è sempre agevole. Non esistono aspetti patognomonic e quadri simili possono riscontrarsi in altre condizioni, quali la Malattia di Crohn, le coliti da farmaci, le coliti eosinofile, le coliti ischemiche croniche o post-attiniche, quelle infettive o la "brainerd diarrhea" [36, 182, 183]. Pertanto, anche in presenza di lesioni microscopiche fortemente suggestive, la diagnosi di CM deve sempre considerare attentamente la presenza dei criteri clinici ed endoscopici [184].

Tra le emergenti tecniche di imaging in endoscopia digestiva, l'Endomicroscopia Confocale a l'Endocitoscopia consentono dettagliate analisi microscopiche in vivo e sembrano in grado di predire il risultato dell'analisi istologica in diverse condizioni morbose [175]. Nel 2005, Kiesslich descrisse il primo caso di CC diagnosticata in vivo mediante Endomicroscopia Confocale [185]; tre anni dopo, un gruppo italiano ha descritto una serie di CC in cui tale tecnica è stata in grado di predire la diagnosi correlando i riscontri endoscopici con quelli istologici [186]. In un recentissimo studio pilota basato su 40 soggetti affetti da Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali [187], l'Endocitoscopia è risultata capace di identificare le singole cellule infiammatorie con soddisfacenti livelli di accuratezza, candidandosi a rivestire un futuro ruolo nella diagnostica microscopica in vivo dei disordini gastro-intestinali. Attualmente, queste tecniche di *imaging* microscopico in vivo vengono utilizzate solamente in ambito di ricerca.

## TERAPIA

Il trattamento delle CM deve essere ponderato alla severità dei sintomi, al loro impatto sulla qualità di vita ed ai risultati degli studi clinici randomizzati [2]. Scopo primario della terapia è raggiungere la remissione clinica e migliorare la qualità della vita [2].

Non è ancora noto quanto la remissione istologica possa essere clinicamente rilevante. In un ambito molto affine, come quello delle Malattie Infiammatorie Croniche intestinali, è ormai riconosciuta una stretta correlazione tra “mucosal healing” e “outcome” quali la risposta alla concomitante terapia e la prognosi a breve-medio termine [188].

### BUDESONIDE

La budesonide orale a rilascio ileo-colico controllato rappresenta attualmente l'unica terapia per le CM la cui efficacia sia chiaramente supportata da studi clinici randomizzati contro placebo [140-142, 147]. La budesonide è uno steroide a bassa biodisponibilità sistemica, 9-27% secondo diversi studi [189, 190], per effetto del metabolismo di primo passaggio esplicato sia a livello intestinale, dall'enzima citocromo P450-3A4 (CYP3A4) e dalla pompa trans-membrana P-glycoprotein (P-gp), che a livello epatico dalla stessa CYP3A4 [190]. Tale caratteristica farmaco-cinetica contraddistingue teoricamente la budesonide dagli steroidi classici per l'elettiva azione a livello intestinale e il minor tasso di effetti meta-steroidi sistemici [191], salvo in presenza di severa insufficienza epatica [192] e di interazioni con potenti inibitori della CYP3A4 quali antimicotici imidazolici [190] o succo di pompelmo [192, 193]. Secondo studi eseguiti in soggetti sani o affetti da Malattia di Crohn, le capsule a rilascio

controllato trasportano e liberano il 60-80% del principio attivo a livello dell'ileo distale e del colon [189].

Tre studi clinici randomizzati e controllati contro placebo hanno dimostrato l'efficacia di 9 mg die di budesonide per 6-8 settimane nell'induzione della remissione della CC [140-142]. Una meta-analisi Cochrane del 2008 ha rilevato in questi studi elevati tassi di risposta clinica (81% contro il 17% del placebo) ed istologica (61-100% contro il 4-33% del placebo), un impatto positivo sulla qualità della vita ed una buona efficacia anche nella re-induzione di soggetti con recidiva dopo il termine del ciclo di induzione [194]. La maggior parte delle CC presenta una risposta clinica rapida alla budesonide ma recidiva alla sospensione (60-80% dei casi) [141, 146, 147], come se tale terapia non sortisse effetti profondi sulla storia naturale della malattia nel breve-medio termine, lasciandola libera di replicare tassi di recidiva simili a quelli osservati in soggetti non sottoposti a trattamenti specifici (con riferimento al Paragrafo: "Manifestazioni cliniche" – "Storia naturale").

Due recenti *trial* clinici randomizzati e controllati contro placebo mostrano che la remissione clinica ed istologica può essere mantenuta per 6 mesi con un dosaggio di budesonide orale pari a 6 mg die nella maggior parte dei soggetti responsivi alla terapia di induzione [147, 195]; secondo una *review* Cochrane del 2009, il tasso di risposta clinica nella terapia di mantenimento con 6 mg die di budesonide è pari a 83% ed il "number needed to treat" a 2 pazienti [196].

La budesonide ha mostrato ottimi risultati anche nella terapia d'induzione della CL [197, 198]. In due studi clinici randomizzati contro placebo, 9 mg die somministrati per 6-8 settimane hanno determinato una risposta clinica nel 91-100% dei casi di CL

(risposta al placebo 25-48%,  $p < 0.005$ ) con un sostanziale miglioramento del quadro microscopico [143, 199].

#### TERAPIE ALTERNATIVE A BASE DI GLUCOCORTICOIDI

Attualmente non esiste alcun tipo di trattamento alternativo alla budesonide dotato di provata efficacia in studi clinici randomizzati contro placebo [2].

Le informazioni concernenti l'utilizzo di glucocorticoidi classici ad azione sistemica provengono prevalentemente da studi retrospettivi [25, 26, 77, 200] con posologie ampiamente variabili di prednisone o prednisolone per via orale che non consentono un'accurata analisi critica. Secondo uno studio non randomizzato, prednisone orale e budesonide avrebbero analoga efficacia nel trattamento di induzione [201]. In un recentissimo articolo, Gentile *et al.* [200], descrivono una coorte storica di soggetti nord americani sottoposti a terapia con budesonide (57 pazienti, posologia iniziale 6-9 mg die) o prednisolone (17 pazienti, posologia iniziale 7-40 mg die). Dall'analisi retrospettiva emergono un crescente uso di cortico-steroidi per CM negli anni ed un miglior profilo di efficacia della budesonide (efficacia nell'induzione, rischio di recidiva, periodo libero da recidiva) rispetto al prednisone orale seppur usato a dosaggi estremamente variabili [200]. In un piccolo studio randomizzato (3:1) e controllato contro placebo, 50 mg di prednisolone per due settimane hanno indotto la remissione clinica in 2 pazienti su 9 trattati e un significativo miglioramento in altri 5, mentre nessuno dei tre controlli ha mostrato miglioramenti significativi [202].

Nelle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali sono attualmente disponibili cortisonici a bassa biodisponibilità sistemica con un selettivo rilascio a livello colico, il beclometasone dipropionato e la budesonide MMX. In particolare, il beclometasone

dipropionato è un farmaco steroideo impiegato da diversi anni nella terapia d'induzione di forme lievi o moderate di Retto-Colite Ulcerosa a localizzazione colica sinistra o estesa [191, 203, 204]. Nella formulazione orale a rilascio colico controllato il beclometasone dipropionato ha un'elettiva azione a livello colico, bassa biodisponibilità sistemica ed un ottimale profilo di sicurezza [204]. Attualmente non esistono studi clinici controllati indirizzati all'uso nelle CM di cortisonici di nuova generazione diversi dalla budesonide classica, quali il beclometasone dipropionato e la budesonide MMX. Ciononostante, come riporta un recente studio retrospettivo italiano [205], il beclometasone dipropionato al dosaggio di 10 mg è un'opzione terapeutica piuttosto utilizzata nella pratica clinica.

#### TERAPIE ALTERNATIVE NON STEROIDEE

Antidiarroici quali loperamide o difenoxilato-atropina sono frequentemente utilizzati nella CM senza mai essere stati formalmente testati contro placebo. Numerose esperienze cliniche riportano un sostanziale beneficio sui sintomi in una quota di soggetti ma la remissione clinica sostenuta sembra un risultato raro e l'impatto sull'attività di malattia improbabile [25, 26, 77].

Analogamente, alcuni studi retrospettivi riportano benefici sintomatici con l'uso di colestiramina [14, 75, 206] i cui potenziali meccanismi d'azione sono già stati brevemente discussi nei paragrafi precedenti.

Il subsalicilato di bismuto è stato valutato nelle CM per le sue proprietà antinfiammatorie ed antibatteriche [74, 207, 208]. Un piccolo studio randomizzato e controllato contro placebo pubblicato solamente come *abstract* aveva già mostrato risultati molto promettenti nel 1999 [209]. Complici probabilmente gli effetti collaterali

nel trattamento a lungo termine, questa molecola non è stata oggetto di ulteriori studi con il medesimo disegno.

La mesalazina orale, nelle formulazioni a rilascio colico controllato, è un farmaco con un ottimo profilo terapeutico nelle MICI a localizzazione colica [210, 211]. L'efficacia nelle CM è stata valutata in alcuni studi retrospettivi [25, 26] e in un *trial* prospettico che ha randomizzato 64 soggetti con CM attiva (41 CL e 23 CC) a ricevere 2.4 g di mesalazina in monoterapia (800X3 die) o in associazione a 4 gr die di colestiramina (mono-somministrazione dopo cena) per sei mesi [206]. Entrambi i trattamenti hanno mostrato in ambedue le forme di CM elevati livelli di efficacia sia in termini di risposta clinica dopo due settimane (34/41 CL, 83%; 20/23 CC, 87%), che di risposta clinica (35/41 CL, 85%; 21/23 CC, 91%) e remissione istologica (35/41 CL, 85%; 18/23 CC, 78%) al termine dei sei mesi. La terapia combinata con colestiramina rispetto alla sola mesalazina ha comportato una più rapida remissione clinica in entrambe le forme di CM (7 contro 12 giorni nella CL,  $p<0.01$ ; 5 contro 11 giorni nella CC,  $p<0.01$ ) e un tasso di risposta clinica a due settimane lievemente superiore nel gruppo delle CC (combinata: 12/12, 100%; mesalazina: 9/11, 82%;  $p<0.01$ ) [206]. Tali evidenze, seppur limitate dalla mancanza di un gruppo di controllo in placebo e da una numerosità sub-ottimale per pesare due differenti approcci terapeutici, rivelano ottime potenzialità legate all'uso della mesalazina. Sorprendentemente, a distanza di 6 anni dalla pubblicazione di questi dati non è ancora disponibile un confronto con studi prospettici basati sull'uso di mesalazina e/o colestiramina.

Infine, l'uso di diversi tipi di probiotici in alcuni studi di piccole dimensioni non ha mostrato risultati promettenti [212-214].

## APPROCCIO ALLE COLITI FARMACO-INDOTTE

La ricerca di una genesi farmacologica e l'iniziale approccio terapeutico basato sulla sospensione del farmaco imputato o sulla ricerca di alternative appartenenti a diverse classi molecolari, è una pratica piuttosto diffusa [1, 62]. Simili strategie terapeutiche non sono state oggetto di alcuno studio clinico randomizzato ma trovano comunque spazio nell'algoritmo terapeutico proposto dal Gruppo Europeo per lo studio delle Coliti Microscopiche (Figura 1, pagina 38). Il parere degli esperti riconosce tanto l'esistenza di CM farmaco-indotte quanto la necessità di mirare i primi provvedimenti terapeutici alla sospensione di tale *noxa* patogena. Nella già citata *review* del 2005 [63], Pardi e Beaugerie segnalano un intervallo di tempo di 2-30 giorni (mediana 5 giorni) tra la sospensione del farmaco patogeno ed il miglioramento clinico. In una lettera pubblicata su *Gastroenterology* nel 2009, gli stessi Autori sconsigliano l'arruolamento di CM dalla verosimile genesi farmaco-indotta in *trial* terapeutici se non dopo aver documentato il fallimento di un test di sospensione della durata di 1-2 settimane [215].

Nella nostra esperienza (dati non riportati), tale approccio correla in modo soddisfacente con il miglioramento clinico in un sottogruppo di soggetti affetti da CM verosimilmente farmaco-indotta e offre una valida alternativa ai trattamenti immunomodulanti. Tuttavia, la sospensione della potenziale *noxa* farmacologica richiede un'attenta analisi rischio-beneficio e può preludere a gravose attese in soggetti con plurimi medicinali potenzialmente correlati. Conseguentemente, tale strategia non è sempre praticabile e necessita di terapie ponte in presenza di sintomi intensi.

## POTENZIALI TRATTAMENTI PER CM REFRAATTARIE O INTOLLERANTI

Seppure siano solo una piccola minoranza, i soggetti con forme refrattarie di CM rappresentano un rilevante problema clinico per la severità dei sintomi e l'impatto sulla qualità della vita. A questi si aggiungono pazienti che non possono sottoporsi a trattamenti con budesonide e cortisonici sistemici per intolleranza o concomitanti patologie metasteroidee.

Sulla base di alcuni *case reports* [32] e dell'esperienza mutuata nell'ambito delle MICI [216], agenti immuno-soppressivi tiopurinici, quali l'azatioprina e la 6-mercaptopurina, sono stati utilizzati come terapia di mantenimento in severe forme refrattarie o intolleranti. Il periodo di latenza tra l'inizio della terapia e l'evidenza di un effetto immuno-soppressivo che caratterizza queste molecole [216] limita le prospettive di efficacia nel breve-medio termine e suggerisce la necessità di terapie ponte più rapide.

Un recentissimo studio multicentrico ha riportato i risultati dell'uso di tiopurine in una coorte storica di 46 CM (42 CC e 14 CL) [217]. L'indicazione al trattamento immunosoppressivo era rappresentata da recidive frequenti dopo cicli di 9 mg di budesonide (26 casi), steroide-dipendenza (budesonide  $\geq$  6 mg die) (15 casi), intolleranza (5 casi). Il 28% dei pazienti ha ottenuto una prolungata remissione clinica con azatioprina (1.5–2 mg/kg); il 67% ha interrotto il trattamento per intolleranza ed il 4% per assenza di risposta. Tredici pazienti intolleranti ad azatioprina sono stati trattati con 6-mercaptopurina e sei di loro hanno raggiunto la remissione clinica. La risposta alle tiopurine è stata quindi osservata nel 41% dei casi [217].

L'efficacia terapeutica di altri agenti immunosoppressivi quali il metotrexate è ancora oggetto d'indagine persino nell'ambito delle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali (MICI). Il suo effetto immuno-soppressivo sembrerebbe lievemente meno

tardivo paragonato a quello delle tiopurine [218, 219]; le prime segnalazioni sull'uso di formulazioni orali e sottocutanee di metotrexate nelle CM hanno dato risultati contrastanti [220, 221].

Negli ultimi anni sono stati documentati diversi casi di severa CM refrattaria sottoposti a terapie biologiche con anti-TNF $\alpha$ . Infliximab e adalimumab, somministrati secondo i protocolli utilizzati nelle MICI, si sono dimostrati molto efficaci sia nell'induzione che nel mantenimento [33-35].

Eccezionalmente, pazienti affetti da forme severe di CC refrattaria sono stati sottoposti a trattamenti chirurgici quali ileo-stomia o colectomia [1, 26, 32, 131, 132, 222]; uno di questi ha successivamente sviluppato una pouchite collagena [223].

#### ALGORITMO TERAPEUTICO

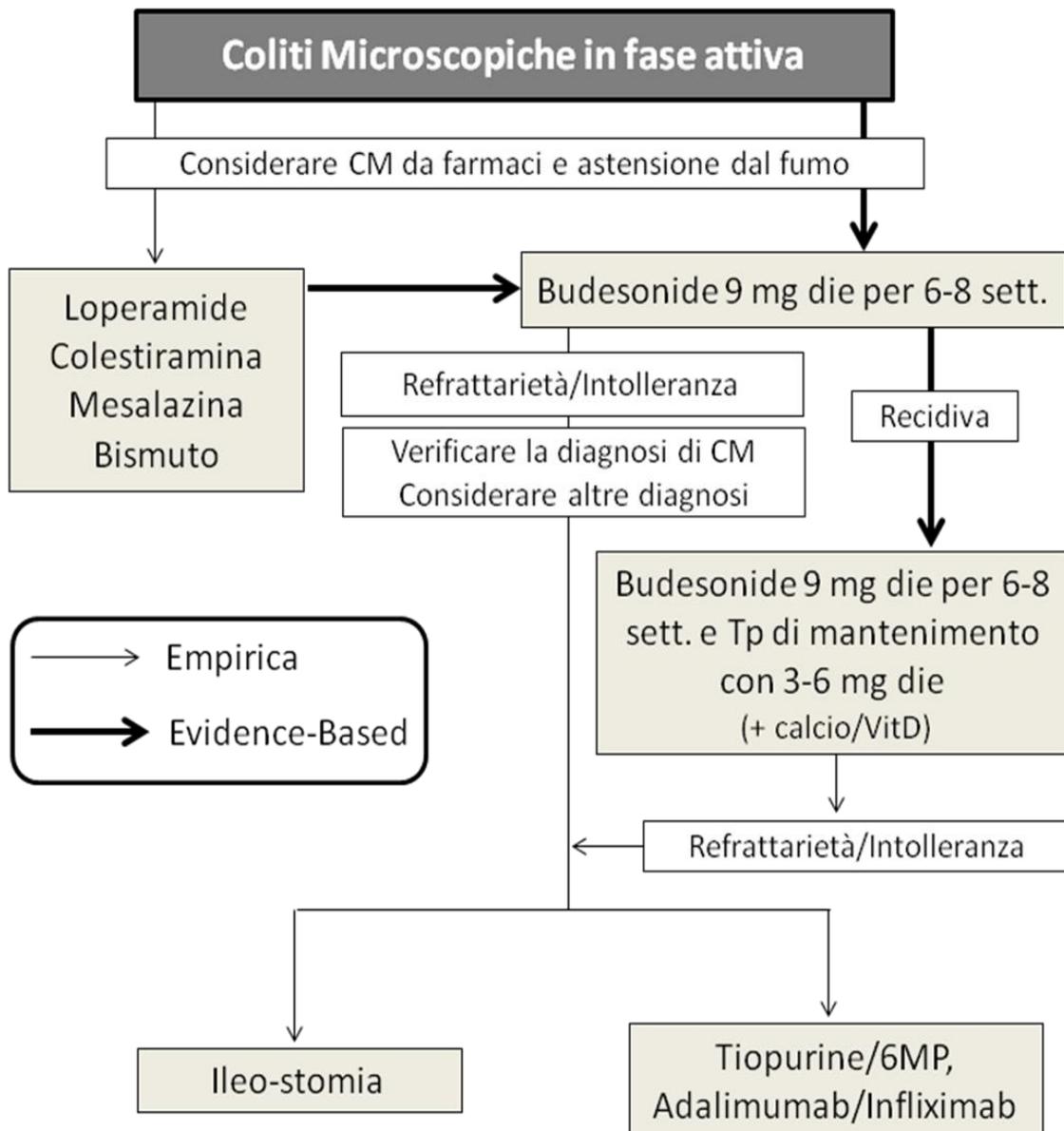
Gli algoritmi terapeutici proposti per le CM sono numerosi, tutti sostanzialmente concordi nella necessità di un'attenta valutazione a priori di ogni singolo caso e nel ponderare la scelta terapeutica sull'intensità dei sintomi [1, 2, 62, 224-226].

Il primo approccio terapeutico è rappresentato dall'accurata ricerca di una potenziale noxa patogena farmacologica [1, 2, 62]. Il Gruppo Europeo per lo studio delle Coliti Microscopiche sottolinea anche l'importanza di escludere la presenza di altre condizioni quali la malattia celiaca, l'intolleranza al lattosio o la diarrea da acidi biliari, e raccomanda la sospensione del tabagismo [2] (Figura 1, pagina 38). La necessità di escludere una genesi su base allergica sembra ancora poco accreditata e non è oggetto di specifiche raccomandazioni [1, 2, 62].

Generalmente l'uso di trattamenti sintomatici con antidiarroici in monoterapia e/o colestiramina è riservato alle sole forme di CM lievi o come terapia ponte [1, 2, 62].

Subsalicilato di bismuto e mesalazina orale, da sola o in combinazione con colestiramina, rappresentano la seconda linea di trattamento dopo il fallimento di terapie sintomatiche (antidiarroici e/o colestiramina) o in presenza di sintomi lievi-moderati [1, 2, 62]. La budesonide è il farmaco di scelta per CM con sintomatologia moderata o severa e nelle forme non responsive alle prime linee di trattamento [1, 2, 62]. L'indicazione al trattamento con immunosoppressori e farmaci biologici è eccezionale e non basata sull'evidenza, ma rappresenta una valida alternativa all'approccio chirurgico [1, 2, 62].

**Figura 1** Algoritmo terapeutico proposto dal Gruppo Europeo per lo studio delle Coliti Microscopiche, Münch et al.: "European Microscopic Colitis Group (EMCG). Microscopic colitis: Current status, present and future challenges: statements of the European Microscopic Colitis Group. *J Crohns Colitis*. 2012; 6(9):932-45" [2].



## ***SCOPO DELLO STUDIO***

L'impatto epidemiologico della CM nella popolazione è tuttora oggetto di studio tanto nei paesi occidentalizzati quanto in quelli in via di sviluppo. Recenti evidenze mostrano una prevalenza in continuo aumento stressano l'importanza di percorsi diagnostici accurati e standardizzati per conseguire la diagnosi in tempi congrui ed evitare l'inefficiente utilizzo di risorse diagnostiche [1, 2].

Scopo primario di questo studio è stato quello di valutare la prevalenza di CM in soggetti sottoposti a colonscopia per diarrea cronica o ricorrente non ematica.

In secondo luogo, la presente ricerca ha inteso valutare in modo prospettico le caratteristiche cliniche delle CM nonché l'applicabilità e la resa diagnostica di un protocollo endoscopico specificatamente disegnato per questo ambito clinico.

## **PAZIENTI E METODI**

### ARRUOLAMENTO ENDOSCOPICO

Dal mese di Maggio 2010 sino a Settembre 2012 sono stati arruolati in modo consecutivo tutti i soggetti adulti sottoposti a pan-colonscopia presso i Servizi di Endoscopia Digestiva di due Istituti Ospedalieri dell'area metropolitana milanese: l'IRCCS Policlinico San Donato di San Donato Milanese e gli Istituti Clinici Zucchi di Monza.

L'indicazione alla colonscopia e la provenienza del Paziente non hanno determinato alcuna selezione della casistica endoscopica.

Data la natura esclusivamente osservazionale dello studio non è stata richiesta la sottoscrizione di uno specifico consenso informato.

- Criteri d'inclusione per l'arruolamento endoscopico:
  - Età > 18 anni.
  - Pan-colonscopia, indipendentemente dall'indicazione e dalla provenienza del paziente.
  
- Criteri di esclusione per l'arruolamento endoscopico:
  - Indagini parziali del tratto digestivo inferiore in accordo con l'indicazione all'esame quali procto-sigmoidoscopie.
  - Indagini eseguite in regime d'urgenza.
  - Documentati esiti di chirurgia resettiva del colonretto: emicolectomia, colectomia, resezione segmentaria del colon, resezione anteriore del retto.

## PROTOCOLLO ENDOSCOPICO

La preparazione intestinale consigliata per la colonscopia era a base di 4l di lassativi osmotici (PEG) in un'unica somministrazione (pomeriggio-sera precedente) per le procedure programmate entro le ore 13.30, in due somministrazioni ( $\frac{1}{2}$  sera precedente +  $\frac{1}{2}$  prima mattinata del giorno stesso) per le procedure pomeridiane. In entrambi i Centri endoscopici partecipanti è prassi utilizzare in aggiunta o in alternativa differenti strategie a base di lassativi osmotici o di contatto (senna) in caso di specifiche necessità cliniche.

Prima dell'inizio della procedura è stata raccolta una breve anamnesi finalizzata a chiarire l'indicazione, la presenza di disordini dell'alvo e dei citati criteri di inclusione ed esclusione per l'arruolamento endoscopico. Il medico endoscopista ha quindi riportato sulla scheda endoscopica di ciascun soggetto arruolato l'indicazione all'esame emersa dalla valutazione globale dei dati anamnestici riferiti, dei dati clinici documentati e dell'indicazione segnalata sulla richiesta medica di colonscopia.

I dati anagrafici di ogni paziente e l'indicazione alla procedura sono stati archiviati insieme al risultato colonscopico dal programma di refertazione computerizzato al termine della colonscopia.

Hanno partecipato allo studio 9 operatori endoscopici: 7 Specialisti in Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva di cui 4 molto esperti (> 2000 colonscopie), 2 esperti (> 500 colonscopie), uno meno esperto (> 250 colonscopie) e 2 Chirurghi Addominali molto esperti in endoscopia digestiva (> 2000 colonscopie).

La procedura endoscopica è stata eseguita con colonscopi flessibili a luce bianca integrati a sistemi di visualizzazione (processore e video) dotati in alcuni casi di definizione standard, in altri di alta definizione (Pentax). Non è stato previsto alcun

confronto tra questi due sistemi di visualizzazione endoscopica, nè tra i due servizi di Endoscopia Digestiva partecipanti o tra gli operatori endoscopici impegnati.

#### ARRUOLAMENTO ISTOLOGICO

Tutti i soggetti sottoposti a pan-colonscopia per diarrea cronica o ricorrente sono stati candidati ad eseguire ulteriori approfondimenti microscopici.

- Criteri d'inclusione per l'arruolamento istologico:
  - Pan-colonscopie (completa visualizzazione dello sfondato ciecale) o ileo-colonscopie con sufficiente preparazione intestinale ("*Boston Bowel Preparation Scale*" globale >5, per macro-segmenti > 1).
  - Assenza di documentati o evidenti interventi resettivi a carico del colon-retto.
  - Diarrea cronica definita dalla presenza di più di tre scariche alvine al dì con feci di ridotta consistenza da oltre quattro settimane [122] o disturbi alvini equivalenti dotati di andamento ricorrente (almeno un giorno a settimana) da oltre 4 settimane.
  - Assenza di controindicazioni cliniche (diatesi emorragica severa) o di parere negativo dell'assistito all'esecuzione di biopsie.
  
- Criteri di esclusione per l'arruolamento istologico:
  - Inadeguatezza dei campioni bioptici.
  - Inadeguato campionamento di tutti segmenti previsti dal protocollo bioptico.
  - Diagnosi endoscopica di grossolane lesioni correlabili al disturbo dell'alvo: Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali, neoformazioni, diverticoliti, aree flogistiche di sospetta natura ischemica o da FANS. Le lesioni endoscopiche minori e di dubbia

interpretazione clinica (aree interessate da lievi e aspecifici segni flogostici) non rappresentavano un criterio di esclusione per l'arruolamento istologico data la loro potenziale associazione con una sottostante CM. Analogamente, riscontri endoscopici aspecifici e dotati di scarso significato clinico nel contesto della patogenesi della diarrea cronica quali diverticoli non complicati, polipi e congestione emorroidaria non hanno determinato alcuna selezione del campione.

#### PROTOCOLLO BIOPTICO

Il protocollo bioptico prevedeva 2-4 biopsie a tre livelli: colon ascendente, sigma e retto. La visualizzazione ed il campionamento bioptico dell'ileo terminale erano facoltativi. Qualunque lesione macroscopica è stata sottoposta a trattamento endoscopico o campionamento istologico selettivo secondo le specifiche indicazioni cliniche.

I campioni bioptici prelevati da ciascuna sede sono stati posti immediatamente in formalina e conservati separatamente.

#### PROTOCOLLO ANATOMO-PATOLOGICO

I campioni bioptici sono stati inviati e processati entro 72h separatamente presso Servizio di Anatomia Patologica e Citodiagnostica dell'Istituto I.R.C.C.S. Policlinico San Donato.

Ciascuna richiesta di analisi anatomopatologica, oltre a indicare i dati anagrafici del paziente e la sede colica di provenienza di ciascuna serie di biopsie, specificava l'indicazione alla procedura, i riscontri endoscopici e il sospetto clinico dell'operatore endoscopico.

La colorazione standard usata per l'analisi microscopica è stata ematossilina eosina, in alcuni casi sono state eseguite anche la colorazione tricromica e/o l'immuno-istochimica per cellule CD3.

Le analisi anatomico-patologiche sono state eseguite da uno Specialista esperto di Anatomia Patologica dell'apparato digerente che, in casi dubbi, si è avvalso del parere di un secondo esperto all'interno del proprio gruppo di lavoro.

#### FOLLOW-UP CLINICO

Secondo regolare prassi clinica in vigore da anni presso i Centri partecipanti, alla consegna dei risultati istologici i pazienti con diagnosi di CM hanno ricevuto indicazione ad eseguire una visita Gastroenterologica ambulatoriale per gli approfondimenti diagnostico-terapeutici di routine non in relazione al presente protocollo di ricerca.

Tutti i soggetti arruolati tra Maggio 2010 e Settembre 2012 presso il centro IRCCS Policlinico San Donato con diagnosi di CM sono stati contattati telefonicamente nel mese di Ottobre 2012 e invitati a sottoporsi ad una visita Gastroenterologica di controllo nell'ambito del presente protocollo di ricerca.

Le visite di follow-up eseguite tra Ottobre e Novembre 2012 hanno permesso la compilazione della "Scheda dei dati clinici" riportata nella sua versione integrale al termine di questo capitolo (pagina 45-47).

#### ANALISI STATISTICA

L'elaborazione statistica dei dati raccolti era mirata all'analisi di due potenziali fattori di rischio anagrafici: il sesso e l'età dei soggetti arruolati per diarrea cronica.

Per l'analisi della distribuzione dei sessi è stato utilizzato il Test Esatto di Fisher a due code. Previa studio di distribuzione delle età nei vari gruppi (distribuzione non normale), il Test non parametrico Mann-Whitney a due code per dati non appaiati è stato impiegato per le analisi di confronto. I risultati sono stati considerati significativi per valori di  $p < 0,05$ .

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite mediante programma di calcolo computerizzato (GraphPad InStat 3).

*Protocollo CM*

**SCHEMA RACCOLTA DATI CLINICI**

CENTRO \_\_\_\_\_.

NOME COGNOME del PAZIENTE \_\_\_\_\_.

SESSO: \_\_\_\_\_. DATA di NASCITA: \_\_\_\_\_. ETA': \_\_\_\_\_.

**ANALISI RETROSPETTIVA (alla diagnosi)**

**Colonscopia in data \_\_\_\_\_**

**CARATTERISTICHE della DIARREA:**

NUMERO DI SCARICHE IN PIU' RISPETTO LA NORMA

LIEVE(1-2)  MODERATA (3-4)  SEVERA (>4)

FECI FORMATE  SEMIFORMATE  ACQUOSE

INTERMITTENTE  CONTINUA

DIURNA  NOTTURNA

INCONTINENZA FECALE

URGENZA

**DOLORI ADDOMINALI:** Si  No

**METEORISMO:** Si  No

**CALO PONDERALE SIGNIFICATIVO (>10% PC abituale in 6m, >5% in 1m):**

Si  No

**USO di ANTIDIARROICI (se Si quali, posologia e freq.): \_\_\_\_\_**

**FARMACI ASSOCIATI allo SVILUPPO di COLITI MICROSCOPICHE**

**Ad alta probabilità di causalità:**  Acarbosio  
 Aspirina  
 FANS (quale): \_\_\_\_\_  
 Anti-H2 (quale): \_\_\_\_\_  
 PPI (quale): \_\_\_\_\_  
 Sertralina  
 Ticlopidina



**VISITA di FOLLOW UP in data \_\_\_\_\_**

**CARATTERISTICHE dell'ALVO:**

NUMERO DI SCARICHE IN PIU' RISPETTO LA NORMA

LIEVE(1-2)  MODERATA (3-4)  SEVERA (>4)

FECI FORMATE  SEMIFORMATE  ACQUOSE

INTERMITTENTE  CONTINUA

DIURNA  NOTTURNA

INCONTINENZA FECALE

URGENZA

**DOLORI ADDOMINALI:** Si  No

**METEORISMO:** Si  No

**PESO CORPOREO**\_\_\_\_\_ **PESO FORMA**\_\_\_\_\_

**USO di ANTIDIARROICI** (se Si quali, posologia e freq.):\_\_\_\_\_

**FUMO** (se Si indicare N° sig/die e quando):\_\_\_\_\_

**PATOLOGIE AUTOIMMUNI** (se Si quali nuove):\_\_\_\_\_

**Andamento dei disturbi presenti alla diagnosi:**

INVARIATI

RICORRENTI

SPORADICI

RISOLTI

**Conclusioni diagnostiche:**

Tipo di CM: \_\_\_\_\_

Ev. Farmaco correlato:\_\_\_\_\_

Ev. altre cause di diarrea cronica:\_\_\_\_\_

Dr \_\_\_\_\_

## **RISULTATI**

### ARRUOLAMENTO

Tra il primo Maggio 2010 ed il 30 Settembre 2012 sono stati arruolati in modo consecutivo per Pan-Colonscopia 8008 soggetti adulti di cui 5152 presso il Servizio di Endoscopia Digestiva dell'IRCCS Policlinico San Donato e 2856 presso il Centro Istituti Clinici Zucchi di Monza. I partecipanti provenivano dai reparti di degenza ospedaliera e, in grande maggioranza, dall'ambulatorio endoscopico.

265 pazienti presentavano diarrea cronica o ricorrente definita secondo i criteri specificati nel Paragrafo "Pazienti e Metodi".

90 soggetti diarroici sottoposti a Pan-Colonscopia sono stati esclusi a posteriori dallo studio istologico mirato alle CM per differenti ragioni legate a violazioni del protocollo di arruolamento endoscopico o istologico:

- 2 casi sono stati esclusi per il riscontro endoscopico di esiti chirurgici non precedentemente segnalati nella scheda endoscopica: verosimile resezione segmentaria del sigma e verosimile resezione anteriore del retto.
- 6 casi sono stati esclusi per incompleta visualizzazione del cieco; tali indagini pur provviste di biopsie ed archiviate come colonscopie complete, riportano nel referto un'incompleta visualizzazione del colon destro prossimale per ingombro fecale, intolleranza del paziente o dolico-colon.
- 30 casi sono stati esclusi per campionamento bioptico assente o inadeguato a cagione di diatesi emorragica severa, diniego dell'assistito ad acconsentire alle biopsie, incompleta adesione al protocollo da parte dell'operatore endoscopico.

- In 52 casi l'indagine endoscopica ha riscontrato lesioni potenzialmente compatibili con i disturbi dell'alvo (2 nell'ileo distale). Integrando i dati endoscopici con le analisi istologiche ed i dati clinici, sono state formulate 52 ipotesi diagnostiche riportate nel Grafico 2 (pagina 50). Il riscontro di grossolane lesioni macroscopiche rappresentava un criterio di esclusione per l'arruolamento istologico. Per tale ragione 7 neoformazioni e quadri endoscopici suggestivi per MICI (12) o diverticolite acuta (11) sono stati sottoposti a differenti protocolli bioptici secondo le specifiche necessità cliniche. Lesioni endoscopiche minori o di dubbia interpretazione clinica sono state biopsiate come da protocollo risultando in quadri anatomo-patologici suggestivi per specifici disordini gastro-enterologici diversi dalla CM come MICI (2), Coliti Eosinofile (2), o flogosi aspecifiche riconducibili, alla luce dei dati clinici, a danno ischemico, FANS, lassativi irritanti o traumi meccanici.

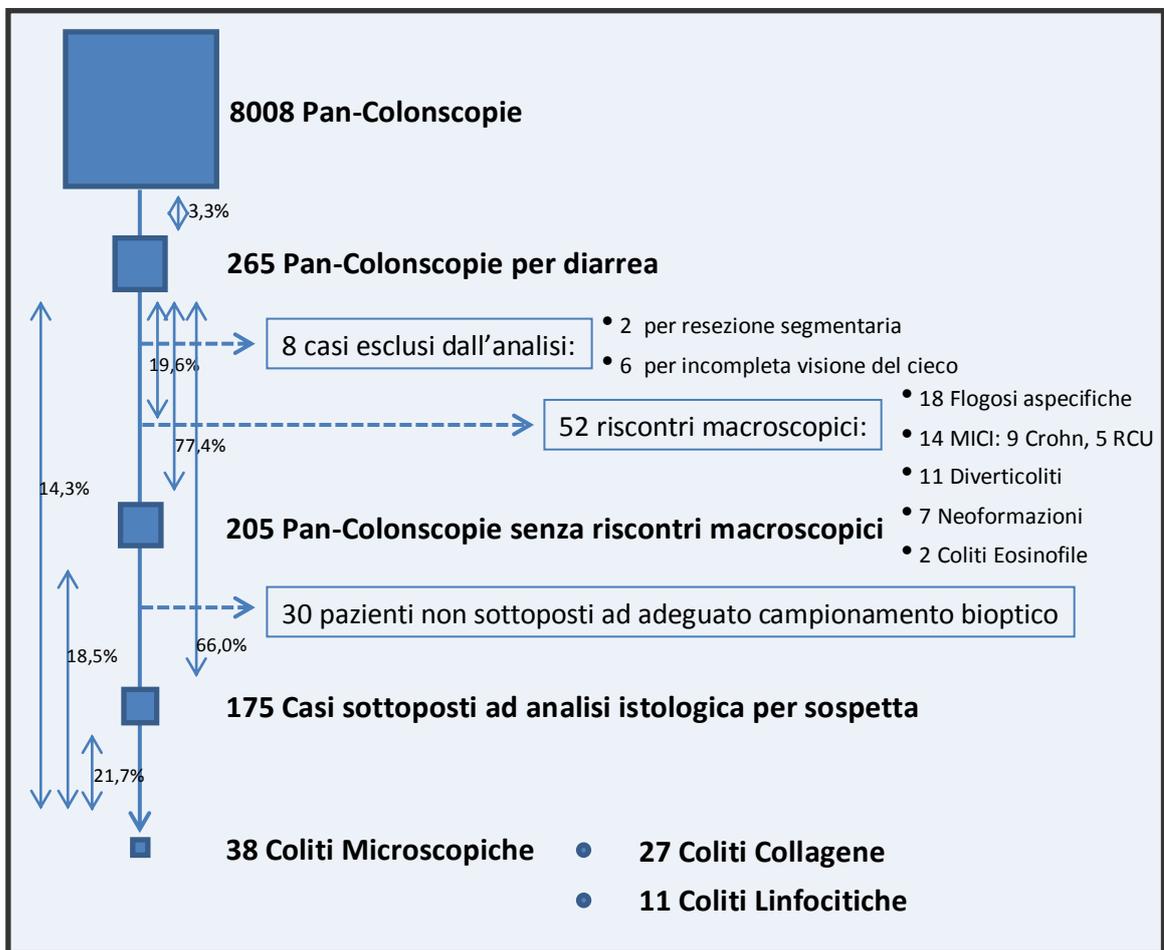
I soggetti arruolati in modo consecutivo per diarrea con Pan-Colonscopia priva di riscontri macroscopici clinicamente significativi sono risultati 175 (Grafico 2). In questo gruppo sono inclusi soggetti con colonscopia completamente priva di riscontri o con disordini emorroidari, diverticoli, polipi e, in alcuni casi, dubbi segni flogistici quali sfumate chiazze iperemiche, lieve edema, alterazione del reticolo vascolare.

#### RISULTATI ANATOMO-PATOLOGICI

Le analisi anatomo-patologiche hanno identificato 27 casi di CC e 11 di CL per un totale di 38 CM su 175 soggetti esaminati (21,7%) all'interno di un campione di 205 endoscopie prive di significativi riscontri (18,5%) e di una casistica di 265 colonscopie eseguite per diarrea cronica o ricorrente (14,3%) (Grafico 2, pagina 50).

Le indagini microscopiche hanno inoltre documentato alterazioni insufficienti a soddisfare alcun criterio di diagnosi microscopica in altri 25 casi, caratterizzati da scarso infiltrato in lamina propria, sottili (< 10 $\mu$ m) depositi di collagene subepiteliale (17 casi) e/o modesto incremento (<20/100 c. epiteliali) dei linfociti intra-epiteliali (8 casi).

**Grafico 2**, Risultati dell'rruolamento endoscopico ed istologico.



Nelle Tabelle 2, 3 e 4 sono riportate le principali caratteristiche anagrafiche dei pazienti arruolati per diarrea suddivisi per gruppi in funzione dei riscontri endoscopici, dell'arruolamento istologico e dell'esito anatomo-patologico.

**Tabella 2**

<b>Pan-Colonscopie per diarrea cronica o ricorrente</b>			
	<b>Colonscopie per diarrea</b>	<b>Riscontri macroscopici</b>	<b>Negatività macroscopica</b>
Numero Pazienti	265	52	205
Rapporto F : M	154 : 111	27 : 25	122 : 83
Età Media	57,8	57,7	57,3
Età Mediana	62	60,5	62
Età Dev. STD	17,9	21,8	16,8
Età Range	18 – 97	18 – 97	18 - 96
Età Range 25-75%	44 – 72	40 – 74	44 - 70

**Tabella 3**

<b>Pan-Colon per diarrea con sostanziale negatività macroscopica</b>		
	<b>Analisi istologiche</b>	<b>Biopsie non eseguite</b>
Numero Pazienti	175	60
Rapporto F : M	105 : 70	17 : 13
Età Media	56,9	60
Età Mediana	61	62,5
Età Dev. STD	16,6	18,2
Età Range	18 – 96	18 – 91
Età Range 25-75%	43 – 70	47 – 74

**Tabella 4**

<b>Pan-Colon per diarrea con sostanziale negatività macroscopica e studio istologico</b>						
	<b>Analisi istologiche</b>	<b>CM</b>	<b>Coliti Collagene</b>	<b>Coliti Linfocitiche</b>	<b>Istologia aspecifica</b>	<b>Istologia negativa</b>
N° Pazienti	175	38	27	11	25	112
Rapporto F : M	105 : 70	24 : 14	17 : 10	7 : 4	12 : 13	68 : 44
Età Media	56,9	66,2	66,6	65,2	57	53,7
Età Mediana	61	67,5	69	66	62	55,5
Età Dev. STD	16,6	13,6	14,4	12,1	15,7	16,7
Età Range	18 – 96	32 – 96	32 - 96	45 - 83	23 - 86	18 - 88
Età R. 25-75%	43 – 70	59 – 74	60 - 74	60 - 75	46 - 69	40 - 68

## ANALISI STATISTICA

Nelle Tabelle 5-8 sono riportati i principali confronti statistici eseguiti nei pazienti arruolati per diarrea cronica suddivisi per gruppi in funzione dei riscontri endoscopici, dell'arruolamento e degli esiti istologici.

L'età mediana dei partecipanti è pari a 62 anni nei soggetti arruolati per diarrea, 60.5 anni nel gruppo con rilevanti riscontri macroscopici, 62 anni in quello con endoscopia sostanzialmente negativa, 67.5 anni nelle Coliti Microscopiche (69 aa la CC, 66 aa la CL) e 55.5 anni nei soggetti studiati per diarrea ma con colonscopia ed approfondimenti microscopici del tutto negativi (Tabelle 2-6).

Il confronto statistico eseguito con il Mann-Whitney Test (Tabelle 5 e 6) evidenzia come le CM presentino un'età significativamente maggiore rispetto ai soggetti sottoposti a colonscopia per diarrea ( $p=0,0062$ ), il gruppo definito da indagini endoscopiche prive di riscontri macroscopici ( $p=0,0023$ ) ed il gruppo sottoposto ad approfondimento istologico ( $p=0,0014$ ). Inoltre le CM, globalmente considerate tra CC e CL, risultano di età più avanzata rispetto ai soggetti con istologia negativa ( $p=0,0001$ ) o con alterazioni microscopiche aspecifiche ( $p=0,0182$ ). Le Coliti Collagene presentano età tendenzialmente maggiori rispetto alle Linfocitiche: rispettivamente con mediane di 69 e 66 anni e medie di 66,6 e 65,2 anni (Tabella 4 e 8). Tale differenza non è tuttavia risultata statisticamente significativa ( $p=0,6752$ ).

**Tabella 5**

<b>Età dei soggetti sottoposti Colonscopia per diarrea a confronto (Mann-Whitney Test)</b>							
		Colonscopie per diarrea	Riscontri macroscopici	Negatività macroscopica	Biopsie non eseguite	Analisi istologiche	CM
	<i>età mediana</i>	62	60,5	62	63	61	67,5
Colonscopie per diarrea	62	X	p > 0,1	p > 0,1	p > 0,1	p > 0,1	<b>p = 0,0062</b>
Riscontri macroscopici	60,5	-	X	p > 0,1	p > 0,1	p > 0,1	p > 0,1
Negatività macroscopica	62	-	-	X	p > 0,1	p > 0,1	<b>p = 0,0023</b>
Biopsie non eseguite	63	-	-	-	X	p > 0,1	p > 0,1
Analisi istologiche	61	-	-	-	-	X	<b>p = 0,0014</b>
CM	67,5	-	-	-	-	-	X

**Tabella 6**

<b>Età dei soggetti sottoposti ad analisi istologica a confronto (Mann-Whitney Test)</b>							
		Analisi istologiche	CM	Coliti Collagene	Coliti Linfocitiche	Istologia aspecifica	Istologia negativa
	<i>età mediana</i>	61	67,5	69	66	62	55,5
Analisi istologiche	61	X	<b>p = 0,0014</b>	<b>p = 0,0036</b>	p > 0,1	p > 0,1	p > 0,1
CM	67,5	-	X	p > 0,1	p > 0,1	<b>p = 0,0182</b>	<b>p &lt; 0,0001</b>
Coliti Collagene	69	-	-	X	p > 0,1	<b>p = 0,0195</b>	<b>p = 0,0003</b>
Coliti Linfocitiche	66	-	-	-	X	p > 0,1	<b>p = 0,0255</b>
Istologia aspecifica	62	-	-	-	-	X	p > 0,1
Istologia negativa	55,5	-	-	-	-	-	X

Al fine di evidenziare eventuali differenze nella prevalenza di CM in funzione dell'età dei pazienti sottoposti a pan-colonscopia per diarrea, abbiamo focalizzato l'analisi statistica sulle prevalenze osservate in funzione di due *cutoff* arbitrariamente scelti a cavallo del picco d'incidenza delle CM: 50 e 65 anni (con riferimento al Paragrafo "Epidemiologia", pagina 5) (Tabella 7). Tra i soggetti sottoposti a colonscopia per diarrea cronica la prevalenza di CM è pari a 10,1% nel gruppo di età inferiore a 50 anni (89 colonscopie, 6 CM), a 18,2% nel gruppo con età  $\geq$  50 anni (176 colonscopie, 32 CM) ed a 23,1% tra i pazienti con oltre 65 anni (117 pazienti, 27 CM).

La differenza tra la prevalenza di CM osservata prima e dopo i 50 anni di età è statisticamente significativa ( $p=0,0149$ ) ed il rischio relativo pari a 2,7 (IC=1,2-6,2); anche l'aumento della prevalenza di CM osservato dopo i 65 anni di età è altamente significativo ( $p=0,0004$ ) e si associa a un rischio relativo pari a 3,1 (IC=1,6-6,0) (i risultati di tale Test Esatto di Fisher a due code non sono illustrati da Tabelle).

**Tabella 7**

		Arruolati (Età $\geq$ 18 a.)	Pazienti stratificati per età			
			Età < 50 a.	Età $\geq$ 50 a.	Età < 65 a.	Età $\geq$ 65 a.
<b>CM</b>	<b>Pazienti</b>	38	6	32	11	27
	<b>Donne</b>	24	4	20	8	16
	<b>Uomini</b>	14	2	12	3	11
<b>Diarrea</b>	<b>Pazienti</b>	265	89	176	148	117
	<b>Donne</b>	154	47	107	80	74
	<b>Uomini</b>	111	42	69	68	43

Dall'analisi della distribuzione per genere è emerso che il sesso femminile prevale su quello maschile sia tra i soggetti arruolati per diarrea (205 pazienti: 154 F e 111 M) che nei pazienti sottoposti ad approfondimento microscopico (175 pazienti: 105 F e 70 M) o con diagnosi di CM (38 pazienti: 24 F e 14 M), tanto nelle forme di CC (27 pazienti: 17 F e 10 M) quanto nelle CL (11 pazienti: 7 F e 4 M).

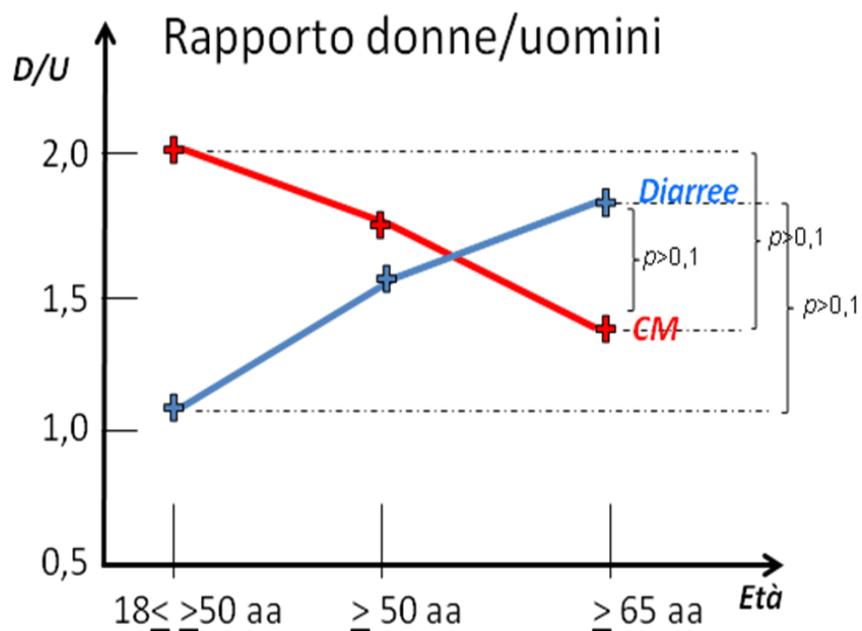
Dal confronto tra le distribuzioni per genere di questi gruppi mediante Test Esatto di Fisher a due code non sono emerse differenze statisticamente significative (Tabella 8).

**Tabella 8**

Distribuzione del sesso tra i soggetti arruolati				
Test Esatto di Fisher a due code			<i>p</i>	Rischio relativo (IC)
<b>CM</b>	<>	<b>Pan-Colon per diarrea</b>	> 0,1	1,1 (0,7-1,2)
24F : 14M	<>	154F : 111M		
<b>CC</b>	<>	<b>Pan-Colon per diarrea</b>	> 0,1	1,1 (0,7-1,3)
17F : 10M	<>	154F : 111M		
<b>CL</b>	<>	<b>Pan-Colon per diarrea</b>	> 0,1	1,1 (0,6-1,4)
7F : 4M	<>	154F : 111M		
<b>CM</b>	<>	<b>Analisi istologiche</b>	> 0,1	1,1 (0,7-1,2)
24F : 14M	<>	105F : 70M		
<b>CC</b>	<>	<b>Analisi istologiche</b>	> 0,1	1,0 (0,7-1,3)
17F : 10M	<>	105F : 70M		
<b>CL</b>	<>	<b>Analisi istologiche</b>	> 0,1	1,1 (0,6-1,5)
7F : 4M	<>	105F : 70M		

Al fine di evidenziare eventuali correlazioni tra età e distribuzione per genere, abbiamo valutato come varia la prevalenza sessuale nei soggetti con età inferiore o maggiore/uguale a 65 anni (Tabella 7). La numerosità relativa del campione femminile presenta, dopo i 65 anni d'età, un modesto aumento tra i soggetti sottoposti a pancoloscopia per diarrea (dal 54,0% al 63,2%) ed una lieve riduzione tra le nuove diagnosi di CM (dal 72,3% al 59,2%) (Grafico 3). In entrambi i gruppi esaminati, il confronto della distribuzione per genere prima e dopo i 65 anni di età non ha generato risultati statisticamente significativi (Grafico 3).

**Grafico 3**



## FOLLOW-UP CLINICO

Il solo Centro IRCCS Policlinico San Donato ha partecipato alla fase di follow-up clinico. 29 diagnosi di CM sono state eseguite presso tale Istituto. Tre pazienti non sono risultati contattabili, mentre gli altri 26 sono stati invitati telefonicamente a presentarsi tra Ottobre e Novembre 2012 all'intervista medica mirata alla somministrazione della scheda per la raccolta dati clinici riportata a pagina 45.

Solamente 8 pazienti su 26 contattati si sono effettivamente presentati all'appuntamento. Le ragioni della mancata partecipazione degli altri 18 soggetti sono le seguenti: scarso interesse spesso associato ad un riferito miglioramento clinico, problemi logistici legati al domicilio in località remote, indisponibilità non meglio precisata.

L'esigua numerosità del campione non ha permesso alcun confronto statistico. Di seguito sono pertanto riportate le caratteristiche cliniche salienti di ciascuna intervista.

- BR, maschio, diagnosi di CL nel Maggio 2011 all'età di 65 anni, esordio di malattia caratterizzato da profusa diarrea. Nessun fattore di rischio per CM. Ottimale remissione clinica con budesonide alla dose di 9 mg die correlata però ad un significativo incremento ponderale. Recidiva a 12 mesi trattata con mesalazina orale previa ripetizione di approfondimenti non endoscopici per escludere altre diagnosi differenziali. Completa remissione clinica in assenza di terapie di mantenimento alla visita di follow-up.
- CB, femmina, diagnosi di CL nell'Aprile 2011 all'età di 67 anni, esordio caratterizzato da profusa diarrea. Ex fumatrice, nessun disordine autoimmune noto. Uso frequente di FANS e PPI (esomeprazolo). Completa remissione sintomatologica alla sospensione di entrambi assumendo paracetamolo al

bisogno. A 1 anno di distanza presentava una recidiva moderata in seguito ad un ciclo di pantoprazolo seguita dalla completa remissione dopo la sospensione. Benessere alla visita di Follow-up.

- SC, femmina, diagnosi di CC nel Settembre 2011 all'età di 73 anni per diarrea ricorrente di grado lieve. Ex fumatrice. Nessun fattore di rischio farmacologico o disimmune. La Paziente, non nota all'ambulatorio di Gastroenterologia, dichiarava diarrea intermittente autogestita con assunzione di antidiarroici al bisogno.
- ZR, femmina, diagnosi di CC nel Luglio 2011 all'età di 44 anni per lieve diarrea cronica. Forte fumatrice (40 sig die), noto ipertiroidismo autoimmune. Uso ricorrente di FANS, antipsicotici non meglio precisati e occasionale di PPI prima della diagnosi. Sostanziale remissione clinica dopo la sospensione di FANS e antipsicotici.
- SV, femmina, diagnosi di CC nel Luglio 2010 all'età di 69 anni per severa diarrea cronica. Uso cronico di omeprazolo, non altri disordini autoimmuni, né storia di tabagismo. Dopo la diagnosi di CC gli approfondimenti richiesti dallo specialista riscontrarono la presenza di intolleranza al lattosio. La Paziente presentò una completa e persistente remissione clinica dopo un ciclo di mesalazina orale e l'astensione dall'uso di lattosio ma proseguì la terapia con PPI.
- DL, femmina, diagnosi di CC nel Gennaio 2011 all'età di 81 anni per diarrea ricorrente. Uso cronico di statine, non disordini autoimmuni, né storia di tabagismo. Buona risposta a mesalazina orale, blanda recidiva alla

sospensione seguita da remissione persistente associata all'uso continuativo di mesalazina.

- SE, maschio, diagnosi di CC nel Giugno 2012 all'età di 74 anni per diarrea cronica di grado lieve. Molteplici trattamenti domiciliari tra cui pantoprazolo, ASA, statine, ACE-I, metformina. Il Paziente, non noto all'ambulatorio di Gastroenterologia, alla visita dell'Ottobre 2012 dichiarava la continua persistenza della diarrea autogestita con incompleto beneficio mediante assunzione di antidiarroici. Sono stati prescritti approfondimenti mirati alla diagnosi differenziale proponendo all'endocrinologo la sostituzione della metformina.
- RR, femmina, diagnosi di CC nell'Aprile 2011 all'età di 60 anni per diarrea ricorrente di grado severo. Negava storia di tabagismo e uso di terapie domiciliari, nota per tiroidite autoimmune. Dopo la diagnosi di CC gli approfondimenti richiesti dallo specialista riscontrarono la presenza di gastropatia autoimmune. Scarsa risposta a terapie sintomatiche, buona e persistente dopo ciclo di budesonide 9 mg/die.

Nella presente casistica compaiono due CL, sei CC, due uomini e sei donne.

L'intervista è stata eseguita a 4-27 mesi dalla diagnosi (media 15 mesi, mediana 16 mesi).

L'età media dei pazienti è di 66 anni, la mediana 68 anni, il range 44-81 anni. Una paziente presenta età sensibilmente inferiore alla media (ZR) in associazione a fattori di rischio disimmuni (tiroidite autoimmune), farmacologici (FANS, PPI, antipsicotici) e ad un severo tabagismo.

Un'altra paziente affetta da CC con sintomatologia sostenuta presenta altre due condizioni disimmuni (tiroidite e gastropatia autoimmune).

In almeno tre casi è plausibile una genesi farmaco-indotta (PPI, PPI+FANS, Statine); in due soggetti è stata proposta con successo una strategia basata unicamente sull'allontanamento della noxa farmacologica sospetta mentre, nel terzo non è stata considerata costo-efficace per le severe comorbidità cardiovascolari e la buona risposta a mesalazina.

La budesonide ha indotto la remissione in 2 casi su due, la mesalazina in tre casi su tre se includiamo anche il caso di SV in cui la concomitante intolleranza al lattosio potrebbe aver giocato un ruolo decisivo.

Tre pazienti su otto non si sono sottoposti mai a visita specialistica dopo la diagnosi di CM prima dell'intervista finalizzata al presente protocollo di ricerca. Tutti e tre i soggetti riferivano una sintomatologia poco sostenuta all'esordio; due di loro lamentavano il persistere di disturbi ricorrenti compatibili con CM alla valutazione di follow-up.

## ***DISCUSSIONE***

A 40 anni di distanza dalla descrizione dei primi casi di CM [3-5], gli aspetti epidemiologici di queste condizioni idiopatiche del colon sono ancora oggetto di studio. Alcuni *trial* relativamente recenti mostrano un aumento considerevole dei tassi d'incidenza e prevalenza sia nei paesi occidentali che in aree in via di sviluppo. Le cause di tale incremento sono con ogni probabilità molteplici. L'applicazione su vasta scala di percorsi diagnostici mirati, la diffusione di farmaci e condizioni ambientali potenzialmente correlati con la verosimile patogenesi disimmune sono considerate dagli esperti le ragioni più significative [1, 2].

Lo scopo principale di questo studio era proprio quello di quantificare l'impatto della CM tra i soggetti affetti da diarrea cronica o ricorrente in un territorio, quello italiano, in cui non erano ancora stati eseguiti studi prospettici specificatamente disegnati con tale fine. L'ambito d'indagine scelto per raggiungere quest'obiettivo è quello dei soggetti sottoposti in età adulta a indagine colonscopica per diarrea cronica o ricorrente.

L'arruolamento in modo consecutivo di tutti i casi di diarrea sottoposti a colonscopia ha permesso l'acquisizione di un considerevole campione di potenziali soggetti affetti da CM e il confronto con l'impatto epidemiologico di altri disordini diarrogeni diagnosticabili mediante studio endoscopico e anatomo-patologico del colon. Inoltre, i Centri di Endoscopia Digestiva partecipanti hanno offerto, nel loro insieme, un bacino d'utenza ideale per uno studio epidemiologico, costituito da soggetti riferiti a cure di

primo livello offerte sul territorio regionale e da pazienti più selezionati seguiti in ambiti medico-chirurgici di terzo livello e provenienti da tutto il territorio nazionale.

Dalla valutazione di oltre 8.000 colonscopie sono emerse 38 nuove diagnosi di CM, configurando una prevalenza pari 14,3% su 265 soggetti esaminati per diarrea non ematica cronica (Grafico 2, pagina 50). In particolare, se consideriamo soltanto le colonscopie sostanzialmente negative ed escludiamo i 52 casi di diarrea associati a una patologia macroscopica del colon, la CM è presente nel 18,5 % dei casi di diarrea cronica.

Secondo diversi *trial* condotti in paesi sviluppati, la prevalenza di CM nei soggetti con diarrea cronica non ematica varia tra il 4 e il 13% [1, 2, 12, 25, 62, 131, 135, 227] e aumenta con l'avanzare dell'età attestandosi attorno al 20% nei soggetti oltre settanta anni [2, 25, 136]. I risultati emersi dal presente studio confermano queste evidenze mostrando una stretta correlazione tra età e rischio di CM. Nella presente casistica la prevalenza di CM aumenta dal 10,1% al 18,2% dopo i 50 anni di età ( $p=0,0149$ ; rischio relativo=2,7; intervallo di confidenza=1,2-6,2) e incrementa ulteriormente sino al 23,1% dopo 65 anni ( $p=0,0004$ ; rischio relativo=3,1; intervallo di confidenza=1,6-6,0). In altre parole, l'indagine coloscopica e lo studio istologico della mucosa colica in presenza di diarrea cronica non ematica rivelano un caso di CM ogni dieci soggetti esaminati con meno di 50 anni e ogni quattro quando l'età supera i 65 anni.

In aggiunta, l'età dei pazienti con CM è significativamente più elevata di quella osservata nei soggetti arruolati per diarrea, nel sottogruppo con esame coloscopico negativo e nei soggetti con studio anatomo-patologico del colon negativo o caratterizzato da riscontri aspecifici e non conclusivi per CM (Tabelle 5 e 6).

Nelle casistiche condotte in paesi sviluppati [1, 2, 12, 25, 62, 131, 135, 136] si osserva solitamente un'equa distribuzione tra CC e CL. Alcuni recenti studi provenienti da paesi in via di sviluppo e basati su pazienti affetti da diarrea cronica non ematica riportano prevalenze di CM marcatamente più elevate di quelle osservate altrove (29,3-50%) [228-230] e una maggiore presenza di CL [228, 230]. L'ipotesi formulata dagli stessi Autori per spiegare queste grossolane differenze chiama in causa la presenza di fattori di rischio microbiologici. In un recente studio spagnolo, su 271 casi di diarrea cronica sono state identificate 32 CM e solamente 2 casi di CL [227]. Al contrario, la nostra popolazione è caratterizzata da un'elevata frequenza di CC (27/11).

In un altro studio di popolazione condotto in Spagna pubblicato nel 1999 [10], le CC presentavano un esordio sintomatologico dieci anni prima rispetto alle forme di CL ( $53.4 \pm 3.2$  verso  $64.3 \pm 2.7$ ;  $p=0.012$ ). Nella nostra casistica, sebbene la differenza non sia statisticamente significativa (Tabella 4 e 6), i pazienti affetti da CC presentano un'età tendenzialmente maggiore rispetto alle CL (mediana 69 e 66 anni, media 66,6 e 65,2 anni).

Precedenti evidenze mostrano una netta prevalenza del sesso femminile su quello maschile (F:M=3-9:1), soprattutto nel caso della CC [8, 10, 13, 30]. Il rapporto uomini/donne emerso nei casi di CM arruolati in questo studio è più bilanciato (F:M=1,7:1) e non mostra alcuna variazione tra CC (F:M=1,7:1) e CL (F:M=1,7:1). La distribuzione tra i due sessi presenta comunque spunti d'interesse allorché analizzata prendendo in esame differenti ambiti d'età (Tabella 7 e Grafico 3). Difatti, mentre tra i casi arruolati per diarrea la numerosità relativa del campione femminile aumenta parallelamente con l'età, nelle CM il rapporto donne/uomini mostra il suo picco prima dei 65 anni di età (F:M=2,7:1); tale differenza non raggiunge la significatività statistica

verosimilmente per insufficiente numerosità del campione. Nel loro insieme, questi risultati sembrano ridimensionare la netta correlazione legata al genere osservata in precedenti studi [8, 10, 13, 30] e suggeriscono di considerare il sesso femminile come un fattore di rischio per l'esordio di CM in età meno avanzata.

Il limite principale di questo studio è rappresentato dalla scarsa rappresentatività delle interviste mirate alla valutazione di aspetti clinico - epidemiologici e alla rivalutazione prospettica a medio - lungo termine rispetto al momento della diagnosi. Le otto interviste eseguite su 26 soggetti arruolabili confermano la natura benigna di questi disordini, spesso legata alle note condizioni favorevoli (fumo, farmaci, disimmunità) e la risposta ad un approccio terapeutico personalizzato.

Vanno inoltre annoverati due potenziali *bias* di selezione del campione esaminato. Il primo, determinato dall'arruolamento di soli adulti, ha molto probabilmente un impatto assai marginale sui risultati vista l'eccezionalità della diagnosi di CM in ambito pediatrico [8-11, 25-29]. Il secondo, generato dalla scelta di un campione sottoposto a indagine pan-colonscopica, potrebbe avere determinato una significativa sottostima della reale prevalenza di questi disordini tra pazienti affetti da diarrea cronica o ricorrente. Come accadde, infatti, per la malattia celiaca nell'epoca precedente alla diagnosi sierologica [24], è plausibile che una quota considerevole di CM paucisintomatiche non sia sottoposta a indagini invasive quali la colonscopia o vi arrivi senza adeguato inquadramento clinico e indicazione a campionamenti biotici multipli, finendo per classificare erroneamente l'insieme dei pazienti con diagnosi di sindrome dell'intestino irritabile [1, 16-23]. D'altronde, in assenza di attendibili test di screening non invasivi [36-41, 47-49, 166], l'indagine endoscopica resta l'unico strumento

diagnostico che, unitamente agli approfondimenti istologici, consente l'identificazione di queste malattie.

Il protocollo bioptico adottato ha consentito di formulare un numero di diagnosi coerente con la prevalenza di CM riportata in altri paesi sviluppati. Tuttavia, pur adottando rigidi criteri di arruolamento endoscopico e istologico, è stato osservato un elevato numero di flogosi microscopiche lievi e aspecifiche (25 casi) prive dei criteri necessari per porre diagnosi di CM o di altre condizioni patologiche. Come noto, le CM presentano una distribuzione spesso segmentaria e una penetranza variabile nei diversi segmenti colici [2, 112, 173]. In alcuni Centri endoscopici diversi da quelli partecipanti è prassi eseguire ulteriori campionamenti bioptici a livello del colon trasverso e/o discendente. Quale possa essere l'impatto di un campionamento così esteso, non è noto. Alcuni studi indicano la necessità di raccogliere biopsie dal colon destro e trasverso per ottimizzare la resa diagnostica [105, 178], mentre altri dimostrano che è sufficiente il campionamento di sigma e colon discendente [5, 109, 179, 180]. In aggiunta, la diagnosi microscopica di queste condizioni non è sempre agevole [111, 231, 232]. Per chiarire la natura e l'impatto clinico delle lesioni microscopiche aspecifiche riscontrate e stabilire quale sia il protocollo diagnostico più appropriato, sono auspicabili ampi studi prospettici e multicentrici che considerino la valutazione in cieco dei campioni istologici da parte di più esperti anomo-patologi e un diffuso campionamento istologico.

Nel presente studio vanno infine annoverati due limiti metodologici. Come descritto nei Metodi, l'intubazione e il campionamento bioptico dell'ileo terminale, benché raccomandati, non rappresentavano un criterio d'inclusione. La valutazione endoscopica dell'ultima ansa ileale è stata eseguita in quasi la metà dei soggetti (dati

non riportati) e, in due casi, ha permesso di identificare rilevanti lesioni macroscopiche: un'ileite di Crohn e una flogosi aspecifica, verosimilmente riconducibile a enteropatia da FANS. Questi riscontri confermano che lo studio dell'ileo terminale può fornire elementi preziosi per il corretto inquadramento diagnostico dei pazienti con diarrea cronica non ematica e per orientare il giudizio clinico di fronte ad esiti istologici di non univoca interpretazione.

In secondo luogo, l'assenza di un protocollo comune per la refertazione endoscopica e l'utilizzo di strumenti endoscopici non sempre dotati di alta definizione hanno prodotto, in alcuni casi, *report* endoscopici non sufficientemente uniformi per classificare lesioni macroscopiche minori e di non univoca interpretazione. Tali riscontri, ancorché potenzialmente correlabili alla preparazione intestinale, a traumi meccanici iatrogeni (clistere, strumento endoscopico) o a Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali, possono sottendere la presenza di processi infiammatori microscopici e la diagnosi di CM [25, 26, 156, 171-177]. Tra gli scopi del presente studio non figuravano la prevalenza e la caratterizzazione delle lesioni endoscopiche associate a CM e non sono identificabili criteri che ne consentano un'accurata valutazione retrospettiva.

## **CONCLUSIONI**

Il presente studio è la prima ricerca italiana con disegno prospettico e arruolamento consecutivo mirato alle Coliti Microscopiche, disordini infiammatori cronici e idiopatici del colon che rappresentano un'emergente causa di diarrea in tutto il mondo.

I dati emersi documentano un'elevata prevalenza di CM nel nord-Italia tra soggetti adulti affetti da diarrea cronica non ematica e confermano la stretta correlazione tra età e rischio di malattia già evidenziata in altri paesi sviluppati. Nei soggetti oltre i 65 anni d'età affetti da diarrea cronica, il rischio di CM è tre volte più elevato rispetto ai più giovani e la colonscopia con biopsie multiple del colon identifica un caso di CM ogni quattro pazienti esaminati, contro i dieci necessari per ottenere una diagnosi prima dei 50 anni di età.

La marcata predilezione per il sesso femminile osservata in precedenti studi appare ridimensionata in questa casistica e sembra piuttosto contraddistinguere le forme esordite in età meno avanzata.

La valutazione clinica prospettica di un sottoinsieme di pazienti con nuova diagnosi di CM ha confermato la natura di condizione benigna caratteristica di questi disordini e la frequente presenza di condizioni endogene ed esogene favorevoli quali alcune categorie farmacologiche, il tabagismo e la predisposizione a patologie autoimmuni.

Nel loro insieme, queste evidenze sottolineano l'importanza di percorsi diagnostici mirati alla diagnosi delle CM in soggetti in età adulta o senile, soprattutto quando sono identificabili altri fattori di rischio. In presenza di sintomi compatibili, l'indicazione allo studio endoscopico e istologico del colon con biopsie multiple in vari segmenti va

attentamente considerata, poiché rappresenta l'unico strumento capace d'identificare ed escludere la presenza di CM evitando l'inefficiente utilizzo di altre risorse diagnostiche e l'impatto negativo sulla qualità di vita legato a una diagnosi tardiva.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Pardi DS, Kelly CP. Microscopic colitis. *Gastroenterology* 2011; 140:1155-65.
2. Münch A, Aust D, Bohr J, Bonderup O, Fernández Bañares F, Hjortswang H, Madisch A, Munck LK, Ström M, Tysk C, Miehke S; European Microscopic Colitis Group (EMCG). Microscopic colitis: Current status, present and future challenges: statements of the European Microscopic Colitis Group. *J Crohns Colitis*. 2012; 6(9):932-45.
3. Lindström CG. 'Collagenous colitis' with watery diarrhoea - a new entity? *Pathol Eur* 1976; 11:87-89.
4. Read NW, Krejs GJ, Read MG, et al. Chronic diarrhea of unknown origin. *Gastroenterology* 1980; 78:264-71.
5. Lazenby AJ, Yardley JH, Giardiello FM, Jessurun J, Bayless TM. Lymphocytic ("microscopic") colitis: a comparative histopathologic study with particular reference to collagenous colitis. *Hum Pathol* 1989; 20:18-28.
6. Vigren L, Olesen M, Benoni C, Sjöberg K. Are collagenous and lymphocytic colitis different aspects of the same disease? *Scand J Gastroenterol*. 2012; 47(12):1448-53.
7. Rasmussen MA, Munck LK. Systematic review: are lymphocytic colitis and collagenous colitis two subtypes of the same disease - microscopic colitis? *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; 36(2):79-90.
8. Bohr J, Tysk C, Eriksson S, et al. Collagenous colitis in Orebro, Sweden, an epidemiological study 1984-1993. *Gut* 1995; 37:394-97.

9. Olesen M, Eriksson S, Bohr J, et al. Microscopic colitis: a common diarrhoeal disease. An epidemiological study in Orebro, Sweden, 1993–1998. *Gut* 2004; 53:346–50.
10. Fernandez-Banares F, Salas A, Forne M, et al. Incidence of collagenous and lymphocytic colitis: a 5-year population-based study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:418–23.
11. Agnarsdottir M, Gunnlaugsson O, Orvar KB, et al. Collagenous and lymphocytic colitis in Iceland. *Dig Dis Sci* 2002; 47:1122–28.
12. Pardi DS, Loftus EV Jr, Smyrk TC, et al. The epidemiology of microscopic colitis: a population based study in Olmsted County, Minnesota. *Gut* 2007; 56:504–8.
13. Williams JJ, Kaplan GG, Makhija S, et al. Microscopic colitis defining incidence rates and risk factors: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:35–40.
14. Fernandez-Banares F, Salas A, Esteve M, et al. Collagenous and lymphocytic colitis. evaluation of clinical and histological features, response to treatment, and long-term follow-up. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:340–47.
15. Teglbjaerg PS, Thaysen EH, Jensen HH. Development of collagenous colitis in sequential biopsy specimens. *Gastroenterology* 1984; 87:703–9.
16. Madisch A, Bethke B, Stolte M, Miehke S. Is there an association of microscopic colitis and irritable bowel syndrome – A subgroup analysis of placebo-controlled trials. *World J Gastroenterol* 2005; 11(41):6409.
17. Limsui D, Pardi DS, Camilleri M, et al. Symptomatic overlap between irritable bowel syndrome and microscopic colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13:175-81.
18. Abboud R, Pardi DS, Tremaine WJ, Kammer PP, Sandborn WJ, Loftus EV Jr. Symptomatic Overlap Between Microscopic Colitis and Irritable Bowel Syndrome: A Prospective Study. *Inflamm Bowel Dis*. 2013. [Epub, in attesa di stampa]

19. Carmona-Sánchez R, Carrera-Álvarez MA, Pérez-Aguilar RM. Prevalence of microscopic colitis in patients with irritable bowel syndrome with diarrhea predominance. *Rev Gastroenterol Mex.* 2011; 76(1):39-45.
20. Ozdil K, Sahin A, Calhan T, Kahraman R, Nigdelioglu A, Akyuz U, Sokmen HM. The frequency of microscopic and focal active colitis in patients with irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol.* 2011; 11:96.
21. Rahman MA, Raihan AS, Ahamed DS, Masud H, Safiullah AB, Khair KB, Salimullah AS, Islam MM. Symptomatic overlap in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome and microscopic colitis in a sub group of Bangladeshi population. *Bangladesh Med Res Counc Bull.* 2012; 38(1):33-8.
22. Stoicescu A, Becheanu G, Dumbrava M, Gheorghe C, Diculescu M. Microscopic colitis - a missed diagnosis in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Maedica (Buchar).* 2012; 7(1):3-9.
23. Nielsen OH, Vainer B, Schaffalitzky de Muckadell OB. Microscopic colitis: a missed diagnosis? *Lancet.* 2004; 364(9450):2055-7.
24. Logan RFA, Branski D, Rozen P, Kagnoff MF. Descriptive epidemiology of celiac disease. In *Gluten-sensitive Enteropathy, Frontiers Gastrointestinal Research.* Karger, New York, Basel, 1992, pp. 1-14.
25. Olesen M, Eriksson S, Bohr J, et al. Lymphocytic colitis: a retrospective clinical study of 199 Swedish patients. *Gut* 2004; 53:536–541.
26. Bohr J, Tysk C, Eriksson S, et al. Collagenous colitis: a retrospective study of clinical presentation and treatment in 163 patients. *Gut* 1996;39:846–851.
27. Gremse DA, Boudreaux CW, Mancini EA. Collagenous colitis in children. *Gastroenterology* 1993;104:906–909.

28. Mahajan L, Wyllie R, Goldblum J. Lymphocytic colitis in a pediatric patient: a possible adverse reaction to carbamazepine. *Am J Gastroenterol* 1997;92:2126–2127.
29. El-Matary W, Girgis S, Huynh H, Turner J, Diederichs B. Microscopic colitis in children. *Dig Dis Sci*. 2010; 55(7):1996-2001.
30. Kao KT, Pedraza BA, McClune AC, et al. Microscopic colitis: a large retrospective analysis from a health maintenance organization experience. *World J Gastroenterol* 2009; 15:3122–27.
31. Nyhlin N, Montgomery SM, Wickbom A, Tysk C, Bohr J. Symptom burden in collagenous and lymphocytic colitis compared to a matched control group. *Gut* 2009; 58(Suppl II):A309.
32. Pardi DS, Loftus Jr EV, Tremaine WJ, Sandborn WJ. Treatment of refractory microscopic colitis with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gastroenterology* 2001; 120:1483–4.
33. Esteve M, Mahadevan U, Sainz E, Rodriguez E, Salas A, Fernández-Bañares F. Efficacy of anti-TNF therapies in refractory severe microscopic colitis. *J Crohns Colitis*. 2011; 5(6):612-8.
34. Münch A, Ignatova S, Ström M. Adalimumab in budesonide and methotrexate refractory collagenous colitis. *Scand J Gastroenterol*. 2012; 47(1):59-63.
35. Aram G, Bayless TM, Chen ZM, Montgomery EA, Donowitz M, Giardiello FM. Refractory lymphocytic enterocolitis and tumor necrosis factor antagonist therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8:391-94.
36. Chetty R, Govender D. Lymphocytic and collagenous colitis: an overview of so-called microscopic colitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012; 9(4):209-18.

37. Fine, K. et al. High prevalence of celiac sprue-like HLA-DQ genes and enteropathy in patients with the microscopic colitis syndrome. *Am. J. Gastroenterol.* 2000; 95:1974–82.
38. Hamilton, I., Sanders, S., Hopwood, D. & Bouchier, I. Collagenous colitis associated with small intestinal villous atrophy. *Gut* 1986; 27:1394–98.
39. Matteoni, C. et al. Celiac disease is highly prevalent in lymphocytic colitis. *J. Clin. Gastroenterol.* 2001; 32:225–27.
40. Koskela RM, Karttunen TJ, Niemela SE, et al. Human leucocyte antigen and TNFalpha polymorphism association in microscopic colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2008; 20:276–82.
41. Giardiello FM, Lazenby AJ, Yardley JH, et al. Increased HLA A1 and diminished HLA A3 in lymphocytic colitis compared to controls and patients with collagenous colitis. *Dig Dis Sci.* 1992; 37:496–99.
42. Mahajan D, Goldblum JR, Xiao SY, Shen B, Liu X. Lymphocytic colitis and collagenous colitis: a review of clinicopathologic features and immunologic abnormalities. *Adv Anat Pathol.* 2012; 19(1):28-38.
43. Madisch A, Hellmig S, Schreiber S, Bethke B, Stolte M, Miehke S. NOD2/CARD15 gene polymorphisms are not associated with collagenous colitis. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22:425–8.
44. Järnerot, G. et al. Familial occurrence of microscopic colitis: a report on five families. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001; 36:959–62.
45. Weidenhiller, M. et al. Microscopic (collagenous and lymphocytic) colitis triggered by food allergy. *Gut* 2005; 54(2):312-13.

46. Kaplan GG, Seminowich S, Williams J, et al. The risk of microscopic colitis in solid-organ transplantation patients: a population-based study. *Transplantation*. 2008; 85:48–54.
47. Holstein, A. et al. Autoantibody profiles in microscopic colitis. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2006; 21:1016–20.
48. Bohr J, Tysk C, Yang P, et al. Autoantibodies and immunoglobulins in collagenous colitis. *Gut* 1996; 39:73–76.
49. Duerr RH, Targan SR, Landers CJ, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. Comparison with other colitides/diarrheal illnesses. *Gastroenterology* 1991;100:1590–96.
50. Bajor, A., Kilander, A., Gälman, C., Rudling, M. & Ung, K. Budesonide treatment is associated with increased bile acid absorption in collagenous colitis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006; 24:1643–49.
51. Ung, K., Gillberg, R., Kilander, A. & Abrahamsson, H. Role of bile acids and bile acid binding agents in patients with collagenous colitis. *Gut* 2000; 46:170–75.
52. Tagkalidis P, Bhathal P, Gibson P. Microscopic colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17:236-48.
53. Fausa O, Foerster A, Hovig T. Collagenous colitis. A clinical, histological, and ultrastructural study. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1985; 107:8-23.
54. Kingham JG, Levison DA, Ball JA, Dawson AM. Microscopic colitis-a cause of chronic watery diarrhoea. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 285:1601-04.
55. Giardiello FM, Bayless TM, Jessurun J, Hamilton SR, Yardley JH. Collagenous colitis: physiologic and histopathologic studies in seven patients. *Ann Intern Med* 1987; 106:46-49.

56. Laing AW, Pardi DS, Kammer P, et al. Microscopic colitis is not associated with cholecystectomy or appendectomy. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12:708–11.
57. Giardiello FM, Hansen FC 3rd, Lazenby AJ, et al. Collagenous colitis in setting of nonsteroidal antiinflammatory drugs and antibiotics. *Dig Dis Sci* 1990; 35:257–60.
58. Riddell RH, Tanaka M, Mazzoleni G. Non-steroidal antiinflammatory drugs as a possible cause of collagenous colitis: a case–control study. *Gut* 1992; 33:683–86.
59. Ruget O, Burtin P, Cerez H, Cales P, Boyer J. Chronic diarrhea associated with villous atrophy and lymphocytic gastritis, caused by ticlopidine. *Gastroenterol Clin Biol* 1992; 16:290.
60. Ouyahya F, Codjovi P, Mchet MC, Oliver JM, Dorval ED, Metman EH. Diarrhea induced by Cyclo3 fort and lymphocytic colitis. *Gastroenterol Clin Biol* 1993; 17:65–6.
61. Beaugier L, Luboinski J, Brousse N, et al. Drug-induced lymphocytic colitis. *Gut* 1994; 35:426–8.
62. Ianiro G, Cammarota G, Valerio L, Annicchiarico BE, Milani A, Siciliano M, Gasbarrini A. Microscopic colitis. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(43):6206-15.
63. Beaugier L, Pardi DS. Review article: drug-induced microscopic colitis - proposal for a scoring system and review of the literature. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22:277-84.
64. Thomson RD, Lestina LS, Bensen SP, et al. Lansoprazole-associated microscopic colitis: a case series. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:2908–13.
65. Fernandez-Banares F, Esteve M, Espinos JC, et al. Drug consumption and the risk of microscopic colitis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:324–30.
66. Macedo AF, Marques FB, Ribeiro CF, et al. Causality assessment of adverse drug reactions: comparison of the results obtained from published decisional algorithms

- and from the evaluations of an expert panel, according to different levels of imputability. *J Clin Pharm Ther* 2003; 28:137–43.
67. Begaud B, Evreux JC, Jouglard J, et al. Imputation of the unexpected toxic effects of drugs. Actualization of the method used in France. *Therapie* 1985; 40:111–18.
68. Marteau P, Lavergne-Slove A, Lemann M, et al. Primary ileal villous atrophy is often associated with microscopic colitis. *Gut* 1997;41:561–64.
69. Colombel JF, Loftus EV, Jr, Tremaine WJ, et al. The safety profile of infliximab in patients with Crohn's disease: the Mayo clinic experience in 500 patients. *Gastroenterology* 2004;126:19–31.
70. Beaugerie L, Pardi DS. Patients With Drug-Induced Microscopic Colitis Should Not Be Included in Controlled Trials Assessing the Efficacy of Anti-Inflammatory Drugs in Microscopic Colitis. *Gastroenterology* 2009; 137(4):1535–36.
71. Pascua, M. et al. Microscopic colitis and medication use. *Clin. Med. Insights Gastroenterol* 2010; 3: 11–19.
72. Vigren L, Sjöberg K, Benoni C, Tysk C, Bohr J, Kilander A, Larsson L, Ström M, Hjortswang H. Is smoking a risk factor for collagenous colitis? *Scand J Gastroenterol.* 2011; 46(11):1334-39.
73. Andersen T, Andersen JR, Tvede M, et al. Collagenous colitis: are bacterial cytotoxins responsible? *Am J Gastroenterol* 1993; 88:375–77.
74. Fine KD, Lee EL. Efficacy of open-label bismuth subsalicylate for the treatment of microscopic colitis. *Gastroenterology* 1998; 114:29–36.
75. Zins BJ, Sandborn WJ, Tremaine WJ. Collagenous and lymphocytic colitis: subject review and therapeutic alternatives. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1394–1400.

76. Narayani RI, Burton MP, Young GS. Resolution of collagenous colitis after treatment for *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:498–99.
77. Pardi DS, Ramnath VR, Loftus EV Jr, et al. Lymphocytic colitis: clinical features, treatment, and outcomes. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:2829–33.
78. Bohr J, Nordfelth R, Jarnerot G, Tysk C. *Yersinia* species in collagenous colitis: a serologic study. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37:711–14.
79. Byrne MF, McVey G, Royston D, Patchett SE. Association of *Clostridium difficile* infection with collagenous colitis. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36:285.
80. Erim T, Alazmi WM, O’Loughlin CJ, Barkin JS. Collagenous colitis associated with *Clostridium difficile*: a cause-effect? *DigDis Sci* 2003; 48:1374–75.
81. Vesoulis Z, Lozanski G, Loiudice T. Synchronous occurrence of collagenous colitis and pseudomembranous colitis. *Can J Gastroenterol* 2000; 14:353–58.
82. Khan MA, Brunt EM, Longo WE, et al. Persistent *Clostridium difficile* colitis: a possible etiology for the development of collagenous colitis. *Dig Dis Sci* 2000; 45:998–1001.
83. Osterholm MT, MacDonald KL, White KE, et al. An outbreak of a newly recognized chronic diarrhea syndrome associated with raw milk consumption. *JAMA* 1986; 256:484–90.
84. Olesen, M. et al. Luminal nitric oxide and epithelial expression of inducible and endothelial nitric oxide synthase in collagenous and lymphocytic colitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 2003; 38:66–72.
85. Perner, A., Nordgaard, I., Matzen, P. & Rask-Madsen, J. Colonic production of nitric oxide gas in ulcerative colitis, collagenous colitis and uninfamed bowel. *Scand. J. Gastroenterol.* 2002; 37:183–88.

86. Andresen, L. et al. Activation of nuclear factor kappaB in colonic mucosa from patients with collagenous and ulcerative colitis. *Gut* 2005; 54:503–09.
87. Bonderup, O. et al. Budesonide treatment and expression of inducible nitric oxide synthase mRNA in colonic mucosa in collagenous colitis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 18:1095–99.
88. Mosnier JF, Larvol L, Barge J, et al. Lymphocytic and collagenous colitis: an immunohistochemical study. *Am J Gastroenterol.* 1996; 91:709–13.
89. Tagkalidis PP, Gibson PR, Bhathal PS. Microscopic colitis demonstrates a T helper cell type 1 mucosal cytokine profile. *J Clin Pathol.* 2007; 60:382–87.
90. Gledhill A, Cole FM. Significance of basement membrane thickening in the human colon. *Gut* 1984; 25:1085–88.
91. Hwang WS, Kelly JK, Shaffer EA, et al. Collagenous colitis: a disease of pericryptal fibroblast sheath? *J Pathol* 1986; 149:33–40.
92. Widgren S, Jlidi R, Cox JN. Collagenous colitis: histologic, morphometric, immunohistochemical and ultrastructural studies. Report of 21 cases. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1988; 413:287–96.
93. Balazs M, Egerszegi P, Vadasz G, et al. Collagenous colitis: an electron microscopic study including comparison with the chronic fibrotic stage of ulcerative colitis. *Histopathology* 1988; 13:319–28.
94. Gunther U, Schuppan D, Bauer M, et al. Fibrogenesis and fibrolysis in collagenous colitis. Patterns of procollagen types I and IV, matrix-metalloproteinase-1 and -13, and TIMP-1 gene expression. *Am J Pathol* 1999; 155:493–503.
95. Aigner T, Neureiter D, Muller S, et al. Extracellular matrix composition and gene expression in collagenous colitis. *Gastroenterology* 1997; 113:136–43.

96. Munch A, Soderholm JD, Ost A, Strom M. Increased transmucosal uptake of E. coli K12 in collagenous colitis persists after budesonide treatment. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:679–85.
97. Shaz BH, Reddy SI, Ayata G, Brien T, Farraye FA, Antonioli DA, et al. Sequential clinical and histopathological changes in collagenous and lymphocytic colitis over time. *Mod Pathol* 2004; 17:395–401.
98. Baert F, Wouters K, D'Haens G, Hoang P, Naegels S, D'Heygere F, et al. Lymphocytic colitis: a distinct clinical entity? A clinicopathological confrontation of lymphocytic and collagenous colitis. *Gut* 1999; 45:375–81.
99. Abdo A, Raboud J, Freeman HJ, Zetler P, Tilley J, Chaun H, et al. Clinical and histological predictors of response to medical therapy in collagenous colitis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:1164–8.
100. Fernandez-Banares F, Casalots J, Salas A, Esteve M, Rosinach M, Forne M, et al. Paucicellular lymphocytic colitis: is it a minor form of lymphocytic colitis? A clinical pathological and immunological study. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:1189–98.
101. Burgel N, Bojarski C, Mankertz J, Zeitz M, Fromm M, Schulzke JD. Mechanisms of diarrhea in collagenous colitis. *Gastroenterology* 2002; 123:433–43.
102. Protic M, Jovic N, Bojic D, Milutinovic S, Necic D, Bojic B, et al. Mechanism of diarrhea in microscopic colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11:5535–39.
103. Bohr J, Jarnerot G, Tysk C, Jones I, Eriksson S. Effect of fasting on diarrhoea in collagenous colitis. *Digestion* 2002; 65:30–4.
104. Warren BF, Edwards CM, Travis SP. 'Microscopic colitis': classification and terminology. *Histopathology* 2002; 40:374–6.

105. Carpenter HA, Tremaine WJ, Batts KP, Czaja AJ. Sequential histologic evaluations in collagenous colitis. Correlations with disease behavior and sampling strategy. *Dig Dis Sci* 1992; 37:1903–9.
106. Koskela RM, Niemela SE, Karttunen TJ, Lehtola JK. Clinical characteristics of collagenous and lymphocytic colitis. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39:837–45.
107. Jessurun J, Yardley JH, Lee EL, Vendrell DD, Schiller LR, Fordtran JS. Microscopic and collagenous colitis: different names for the same condition? *Gastroenterology* 1986; 91:1583–4.
108. Tysk C, Bohr J, Nyhlin N, Wickbom A, Eriksson S. Diagnosis and management of microscopic colitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14:7280–8.
109. Bjornbak C, Engel PJ, Nielsen PL, Munck LK. Microscopic colitis: clinical findings, topography and persistence of histopathological subgroups. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34:1225–34.
110. Lazenby AJ. Collagenous and lymphocytic colitis. *Semin Diagn Pathol* 2005; 22:295–300.
111. Robert ME. Microscopic colitis: pathologic considerations, changing dogma. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38:S18–26.
112. Thijs WJ, van Baarlen J, Kleibeuker JH, Kolkman JJ. Microscopic colitis: prevalence and distribution throughout the colon in patients with chronic diarrhoea. *Neth J Med* 2005; 63:137–40.
113. Temmerman F, Baert F. Collagenous and lymphocytic colitis: systematic review and update of the literature. *Dig Dis* 2009; 27(Suppl 1):137–45.
114. Liszka L, Woszczyk D, Pajak J. Histopathological diagnosis of microscopic colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21:792–7.

115. Fraser AG, Warren BF, Chandrapala R, Jewell DP. Microscopic colitis: a clinical and pathological review. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37:1241–5.
116. Freeman HJ. Collagenous mucosal inflammatory diseases of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2005; 129:338–50.
117. Goldstein NS & Bhanot P. Paucicellular and asymptomatic lymphocytic colitis. Expanding the clinicopathologic spectrum of lymphocytic colitis. *Am. J. Clin. Pathol.* 2004; 122:405–11.
118. Libbrecht, L, Croes, R., Ectors, N., Staels, F. & Geboes, K. Microscopic colitis with giant cells. *Histopathology* 2002; 40:335–38.
119. Saurine, T. J., Brewer, J. M. & Eckstein, R. P. Microscopic colitis with granulomatous inflammation. *Histopathology* 2004; 45:82–86.
120. Iwai, H. et al. Microscopic colitis with granuloma which responded to steroid therapy. *Intern. Med.* 2007; 46:1551–55.
121. Schiller LR. Diagnosis and management of microscopic colitis syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38:S27–30.
122. Fine KD, Schiller LR. AGA technical review: evaluation and management of chronic diarrhea. *Gastroenterology*. 1999; 116:1464-86.
123. Mullhaupt B, Guller U, Anabitarte M, Guller R, Fried M. Lymphocytic colitis: clinical presentation and long term course. *Gut* 1998; 43:629–33.
124. Taylor S, Haggitt R, Bronner M. Colonic perforation complicating colonoscopy in collagenous colitis. *Gastroenterology* 1999; 116: A938.
125. Freeman HJ, James D, Mahoney CJ. Spontaneous peritonitis from perforation of the colon in collagenous colitis. *Can J Gastroenterol* 2001; 15:265–7.

126. Bohr J, Larsson LG, Eriksson S, Jarnerot G, Tysk C. Colonic perforation in collagenous colitis: an unusual complication. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17:121–4.
127. Bonderup OK, Folkersen BH, Gjersoe P, Teglbjaerg PS. Collagenous colitis: a long-term follow-up study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11:493–5.
128. Chan JL, Tersmette AC, Offerhaus GJ, Gruber SB, Bayless TM, Giardiello FM. Cancer risk in collagenous colitis. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5:40–3.
129. Kao KT, Pedraza BA, McClune AC, Rios DA, Mao YQ, Zuch RH, et al. Microscopic colitis: a large retrospective analysis from a health maintenance organization experience. *World J Gastroenterol* 2009; 15:3122–7.
130. Lorinczy K, Lakatos G, Müllner K, Hritz I, Lakatos PL, Tulassay Z, Miheller P. Low bone mass in microscopic colitis. *BMC Gastroenterol*. 2011; 11:58.
131. Pardi DS. Microscopic colitis: an update. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10:860-70.
132. Nyhlin N, Bohr J, Eriksson S, et al. Systematic review: microscopic colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23:1525-34.
133. Fernandez-Banares F, salas A, Esteve M. Pitfalls and errors in the diagnosis of collagenous and lymphocytic colitis. *J Chron's and Colitis* 2008; 2:343-347.
134. Hjortswang H, Tysk C, Bohr J, et al. Health-related quality of life is impaired in patients with collagenous colitis. *Gut* 2005; 54(Suppl VII):A183.
135. Madisch A, Heimer P, Voss C, et al. Oral budesonide therapy improves quality of life in patients with collagenous colitis. In *J Colorectal Dis* 2005; 20:312-6.
136. Williams JJ, Beck PL, Andrews CN, Hogan DB, Storr MA. Microscopic colitis — a common cause of diarrhoea in older adults. *Age Ageing* 2010; 39:162–8.

137. Bonderup OK, Folkersen BH, Gjersoe P, Teglbjaerg PS. Collagenous colitis: a long-term follow-up study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11:493–5.
138. Madisch A, Miehke S, Lindner M, Bethke B, Stolte M. Clinical course of collagenous colitis over a period of 10 years. *Z Gastroenterol* 2006; 44:971–4.
139. Sveinsson OA, Orvar KB, Birgisson S, Agnarsdottir M, Jonasson JG. Clinical features of microscopic colitis in a nation-wide follow-up study in Iceland. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43:955–60.
140. Miehke S, Heymer P, Bethke B, Bästlein E, Meier E, Bartram HP, Wilhelms G, Lehn N, Dorta G, DeLarive J, Tromm A, Bayerdörffer E, Stolte M. Budesonide treatment for collagenous colitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Gastroenterology* 2002; 123: 978-84.
141. Bonderup OK, Hansen JB, Birket-Smith L, Vestergaard V, Teglbjaerg PS, Fallingborg J. Budesonide treatment of collagenous colitis: a randomised, double blind, placebo controller trial with morphometric analysis. *Gut* 2003; 52:248-51.
142. Baert F, Schmit A, D’Haens G, Dedeurwaerdere F, Louis E, Cabooter M, De Vos M, Fontaine F, Naegels S, Schurmans P, Stals H, Geboes K, Rutgeerts P. Budesonide in collagenous colitis: a double-blind placebo-controlled trial with histologic follow-up. *Gastroenterology* 2002; 122:20-25.
143. Miehke S, Madisch A, Karimi D, Wonschik S, Kuhlisch E, Beckmann R, Morgner A, Mueller R, Greinwald R, Seitz G, Baretton G, Stolte M. Budesonide is effective in treating lymphocytic colitis: a randomized double-blind placebocontrolled study. *Gastroenterology* 2009; 136:2092-2100.
144. Goff JS, Barnett JL, Pelke T, Appelman HD. Collagenous colitis: histopathology and clinical course. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:57–60.

145. Bonner GF, Petras RE, Cheong DM, Grewal ID, Breno S, Ruderman WB. Short- and long-term follow-up of treatment for lymphocytic and collagenous colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6:85–91.
146. Miehke S, Madisch A, Voss C, Morgner A, Heymer P, Kuhlisch E, et al. Long-term follow-up of collagenous colitis after induction of clinical remission with budesonide. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22:1115–9.
147. Bonderup OK, Hansen JB, Teglbjaerg PS, Christensen LA, Fallingborg JF. Long-term budesonide treatment of collagenous colitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Gut* 2009; 58:68–72.
148. Bonderup OK, Hansen JB, Birket-Smith L, Vestergaard V, Teglbjaerg PS, Fallingborg J. Budesonide treatment of collagenous colitis: a randomised, double blind, placebo controlled trial with morphometric analysis. *Gut* 2003; 52:248–51.
149. Wolber R, Owen D, Freeman H. Colonic lymphocytosis in patients with celiac sprue. *Hum Pathol* 1990; 21:1092–96.
150. Breen EG, Coughlan G, Connolly CE, et al. Coeliac proctitis. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22:471–77.
151. Green PHR, Yang J, Cheng J, et al. An association between microscopic colitis and celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7:1210–16.
152. Ramzan NN, Shapiro MS, Pasha TM, et al. Is celiac disease associated with microscopic and collagenous colitis? (abstr). *Gastroenterology* 2001; 120:A684.
153. Giardiello FM, Jackson FW, Lazenby AJ. Metachronous occurrence of collagenous colitis and ulcerative colitis. *Gut* 1991; 32:447–449.

154. Panaccione R, Tremaine WJ, Batts KW, et al. Diagnosis of lymphocytic or collagenous colitis in patients with ulcerative colitis or Crohn's disease (abstr). *Gastroenterology* 1999; 116:A833.
155. Pokorny CS, Kneale KL, Henderson CJ. Progression of collagenous colitis to ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol* 2001; 32:435–438.
156. Ayata G, Ithamukkala S, Sapp H, et al. Prevalence and significance of inflammatory bowel disease-like morphological features in collagenous and lymphocytic colitis. *Am J Surg Pathol* 2002; 26:1414–23.
157. Gill MT, Feinstein AR. A critical appraisal of the quality of life measurements. *JAMA* 1994; 272:619-26.
158. Guyatt GH, Veldhuyzen Van Zanten SJ, Feeny DH, Patrick DL. Measuring quality of life in clinical trials: a taxonomy review. *Can Med Assc J* 1989; 140: 1441-48.
159. Hjortswang H, Tysk C, Bohr J, Benoni C, Vigren L, Kilander A, et al. Health-related quality of life is impaired in active collagenous colitis. *Dig Liver Dis* 2011; 43:102–9.
160. Hjortswang C, Tysk C, Bohr J, Benoni C, Kilander A, Larsson L, et al. Defining clinical criteria for clinical remission and disease activity in collagenous colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15:1875–81.
161. Roth B, Ohlsson B. Gastrointestinal symptoms and psychological well-being in patients with microscopic colitis. *Scand J Gastroenterol*. 2013 Jan;48(1):27-34.
162. Larsson A, Simrén M, Stotzer PO, Isaksson S, Ohman L, Strid H. Fecal Calprotectin Levels Predict the Clinical Course in Patients With New Onset of Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Jan 31. [Epub ahead of print]
163. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Safroneeva E, Romero Y, Armstrong D, Schmidt C, Trummel M, Pittet V, Vavricka SR. Fecal Calprotectin More Accurately

- Reflects Endoscopic Activity of Ulcerative Colitis than the Lichtiger Index, C-reactive Protein, Platelets, Hemoglobin, and Blood Leukocytes. *Inflamm Bowel Dis.* 2013; 19(2):332-41.
164. Gisbert JP, McNicholl AG, Gomollon F. Questions and answers on the role of fecal lactoferrin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009; 15(11):1746-54.
165. Manz M, Burri E, Rothen C, Tchanguizi N, Niederberger C, Rossi L, Beglinger C, Lehmann FS. Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study. *BMC Gastroenterol.* 2012; 12:5.
166. Wildt S, Nordgaard-Lassen I, Bendtsen F, Rumessen JJ. Metabolic and inflammatory faecal markers in collagenous colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 19(7):567-74.
167. Fine KD, Meyer RL, Lee EL. The prevalence and cause of chronic diarrhea in patients with celiac sprue treated with a gluten-free diet. *Gastroenterology* 1997; 112:1830–38.
168. Deepthi RV, Bhat SP, Shetty SM, Shenoy RD. Juvenile spondyloarthritis with microscopic colitis. *Indian Pediatr.* 2012; 49(7):579-80.
169. Narváez J, Montala N, Busquets-Pérez N, Joan M, Nolla JM, Valverde J. Collagenous colitis and spondyloarthropathy. *Arthritis and Rheumat (Arthritis Care and Research).* 2006; 55:507-12.
170. Orlando A, Renna S, Perricone G, Cottone M. Gastrointestinal lesions associated with spondyloarthropathies. *World J Gastroenterol.* 2009; 15:2443-8.
171. Cruz-Correa, M. et al. Collagenous colitis with mucosal tears on endoscopic insufflation: a unique presentation. *Gut* 2002; 51:600.

172. Couto G, Bispo M, Barreiro P, Monteiro L, Matos L. Unique endoscopy findings in collagenous colitis. *Gastrointest Endosc.* 2009; 69(6):1186-8.
173. Koulaouzidis A, Saeed AA. Distinct colonoscopy findings of microscopic colitis: Not so microscopic after all? *World J Gastroenterol* 2011; 17(37):4157-65.
174. Yuan, S., Reyes, V. & Bronner, M. P. Pseudomembranous collagenous colitis. *Am. J. Surg. Pathol.* 2003; 27:1375–79.
175. Neumann H, Neurath MF, Mudter J. New endoscopic approaches in IBD. *World J Gastroenterol.* 2011; 17(1):63-8.
176. Galloro G. High technology imaging in digestive endoscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4(2):22-27.
177. Suzuki G, Mellander MR, Suzuki A, Rubio CA, Lambert R, Björk J, Schmidt PT. Usefulness of colonoscopic examination with indigo carmine in diagnosing microscopic colitis. *Endoscopy.* 2011; 43(12):1100-4.
178. Tanaka M, Mazzoleni G, Riddell RH. Distribution of collagenous colitis: utility of flexible sigmoidoscopy. *Gut* 1992; 33:65–70.
179. Fine KD, Seidel RH, Do K. The prevalence, anatomic distribution, and diagnosis of colonic causes of chronic diarrhea. *Gastrointest Endosc* 2000; 51:318–26.
180. Matteoni CA, Wang N, Goldblum JR, Brzezinski A, Achkar E, Soffer EE. Flexible sigmoidoscopy for the detection of microscopic colitis. *Am J Med* 2000; 108:416–8.
181. Offner FA, Jao RV, Lewin KJ, Havelec L, Weinstein WM. Collagenous colitis: a study of the distribution of morphological abnormalities and their histological detection. *Hum Pathol* 1999; 30:451–7.
182. Villanacci V, Casella G, Bassotti G. The spectrum of drug-related colitides: important entities, though frequently overlooked. *Dig Liver Dis.* 2011; 43(7):523-8.

183. Villanacci V, Manenti S, Antonelli E, Chiudinelli M, Giuliano V, Bassotti G. Non-IBD colitides: clinically useful histopathological clues. *Rev Esp Enferm Dig.* 2011; 103(7):366-72.
184. Roberts, M. E. Microscopic colitis. Pathologic considerations, changing dogma. *J. Clin. Gastroenterol.* 2004; 38:S18–26.
185. Kiesslich R, Hoffman A, Goetz M, Biesterfeld S, Vieth M, Galle PR, Neurath MF. In vivo diagnosis of collagenous colitis by confocal endomicroscopy. *Gut.* 2006; 55(4):591-2.
186. Zambelli A, Villanacci V, Buscarini E, Bassotti G, Albarello L. Collagenous colitis: a case series with confocal laser microscopy and histology correlation. *Endoscopy.* 2008; 40(7):606-8.
187. Neumann H, Vieth M, Neurath MF, Atreya R. Endocytoscopy Allows Accurate In Vivo Differentiation of Mucosal Inflammatory Cells in IBD: A Pilot Study. *Inflamm Bowel Dis.* 2013; 19(2):356-62.
188. Neurath MF, Travis SP. Mucosal healing in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Gut.* 2012;61(11):1619-35.
189. Lundin PD, Edsbäcker S, Bergstrand M, Ejderhamn J, Linander H, Högberg L, Persson T, Escher JC, Lindquist B. Pharmacokinetics of budesonide controlled ileal release capsules in children and adults with active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 17(1):85-92.
190. Seidegård J, Nyberg L, Borgå O. Differentiating mucosal and hepatic metabolism of budesonide by local pretreatment with increasing doses of ketoconazole in the proximal jejunum. *Eur J Pharm Sci.* 2012; 46(5):530-6.

191. Nunes T, Barreiro-de Acosta M, Marin-Jiménez I, Nos P, Sans M. Oral locally active steroids in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2013; 7(3):183-91.
192. Pardi DS . After budesonide, what next for collagenous colitis? *Gut* 2009; 58(1):3-4.
193. Edsbäcker S, Andersson T. Pharmacokinetics of budesonide (Entocort EC) capsules for Crohn's disease. *Clin Pharmacokinet*. 2004; 43(12):803-21.
194. Chande N, McDonald JW, Macdonald JK. Interventions for treating collagenous colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008; 16;(2):CD003575.
195. Miehke S, Madisch A, Bethke B, Morgner A, Kuhlisch E, Henker C, et al. Oral budesonide for maintenance treatment of collagenous colitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2008; 135:1510–6.
196. Chande N, MacDonald JK, McDonald JW. Interventions for treating microscopic colitis: a Cochrane Inflammatory Bowel Disease and Functional Bowel Disorders Review Group systematic review of randomized trials. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:235–41.
197. Stewart MJ, Seow CH, Storr MA. Prednisolone and budesonide for short- and long-term treatment of microscopic colitis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011; 9(10):881-90.
198. Chande N, McDonald JW, Macdonald JK. Interventions for treating lymphocytic colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008; 16;(2):CD006096.
199. Pardi DS, Loftus Jr EV, TremaineWJ, SandbornWJ. A randomized double-blind, placebo controlled trial of budesonide for the treatment of active lymphocytic colitis. *Gastroenterology* 2009;136(Suppl 1) [AGA Abstracts, T 1193].
200. Gentile NM, Abdalla AA, Khanna S, Smyrk TC, Tremaine WJ, Faubion WA, Kammer PP, Sandborn WJ, Loftus EV Jr, Pardi DS. Outcomes of patients with microscopic

- colitis treated with corticosteroids: a population-based study. *Am J Gastroenterol.* 2013; 108(2):256-9.
201. Abdalla AA, Faubion WA, Loftus EV, et al. The natural history of microscopic colitis treated with corticosteroids (abstr). *Gastroenterology* 2008; 134:A121.
202. Munck LK, Kjeldsen J, Philipsen E, Fischer Hansen B. Incomplete remission with short-term prednisolone treatment in collagenous colitis: a randomized study. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38:606–10.
203. De Cassan C, Fiorino G, Danese S. Second-generation corticosteroids for the treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis: more effective and less side effects? *Dig Dis.* 2012; 30(4):368-75.
204. Fascì Spurio F, Aratari A, Margagnoni G, Doddato MT, Chiesara F, Papi C. Oral beclomethasone dipropionate: a critical review of its use in the management of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Curr Clin Pharmacol.* 2012; 7(2):131-6.
205. Simondi D, Pellicano R, Reggiani S, Pallavicino F, David E, Sguazzini C, Bonagura AG, La Terra A, Rizzetto M, Astegiano M. A retrospective study on a cohort of patients with lymphocytic colitis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2010; 102(6):381-4.
206. Calabrese C, Fabbri A, Areni A, Zahlane D, Scialpi C, Di Febo G. Mesalazine with or without cholestyramine in the treatment of microscopic colitis: randomized controlled trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22:809–14.
207. Fine KD, Ogunji F, Lee EL, Lafon G, Tanzi M. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of bismuth subsalicylate for microscopic colitis. *Gastroenterology* 1999; 116:A880.
208. Amaro R, Poniecka A, Rogers AI. Collagenous colitis treated successfully with bismuth subsalicylate. *Dig Dis Sci* 2000; 45:1447-50.

209. Fine KOF, Lee E, Lafon G, Tanzi M. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of bismuth subsalicylate for microscopic colitis. *Gastroenterology* 1999; 116:A880.
210. Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO, Lémann M, Söderholm J, Colombel JF, Danese S, D'Hoore A, Gassull M, Gomollón F, Hommes DW, Michetti P, O'Morain C, Oresland T, Windsor A, Stange EF, Travis SP; European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO). The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. *J Crohns Colitis*. 2010; 4(1):28-62.
211. Dignass A, et al. Second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: Current management. *J Crohns Colitis* 2012. Article in press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crohns.2012.09.002>.
212. Wildt S, Munck LK, Vinter-Jensen L, Hanse BF, Nordgaard-Lassen I, Christensen S, et al. Probiotic treatment of collagenous colitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12:395–401.
213. Madisch A, Miehke S, Eichele O, Mrwa J, Bethke B, Kuhlisch E, et al. *Boswellia serrata* extract for the treatment of collagenous colitis. A double-blind, randomized, placebo-controlled, multi center trial. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22:1445–51.
214. Tromm A, Niewerth U, Khoury M, Baestlein E, Wilhelms G, Schulze J, et al. The probiotic *E. coli* strain Nissle 1917 for the treatment of collagenous colitis: first results of an open-label trial. *Z Gastroenterol* 2004; 42:365–9.
215. Beaugerie L, Pardi DS. Patients with drug-induced microscopic colitis should not be included in controlled trials assessing the efficacy of anti-inflammatory drugs in microscopic colitis. *Gastroenterology*. 2009; 137(4):1535-6.

216. Saibeni S, Virgilio T, D'Inca R, Spina L, Bortoli A, Paccagnella M, Peli M, Sablich R, Meucci G, Colombo E, Benedetti G, Girelli CM, Casella G, Grasso G, de Franchis R, Vecchi M. The use of thiopurines for the treatment of inflammatory bowel diseases in clinical practice. *Dig Liver Dis.* 2008; 40(10):814-20.
217. Münch A, Fernandez-Banares F, Munck LK. Azathioprine and mercaptopurine in the management of patients with chronic, active microscopic colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013 Feb 24. doi: 10.1111/apt.12261. [In stampa]
218. Ng SC, Chan FK, Sung JJ. Review article: the role of non-biological drugs in refractory inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011; 33(4):417-27.
219. Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, Greenberg GR, Gillies R, Hopkins M, et al. Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. The North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med.* 1995; 332(5):292-7.
220. Riddell J, Hillman L, Chiragakis L, Clarke A. Collagenous colitis: oral low-dose methotrexate for patients with difficult symptoms: long-term outcomes. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22:1589–93.
221. Münch ABJ, Vigren L, Tysk C, Ström M. Methotrexate is not effective in budesonide-refractory collagenous colitis. *Gut* 2011; 60(Suppl 3):A406.
222. Järnerot G, Tysk C, Bohr J, Eriksson S. Collagenous colitis and fecal stream diversion. *Gastroenterology* 1995; 109:449–55.
223. Shen B, Bennett AE, Fazio VW, Sherman KK, Sun J, Remzi FH, Lashner BA. Collagenous pouchitis. *Dig Liver Dis.* 2006 Sep;38(9):704-9
224. Loftus EV. Microscopic colitis: epidemiology and treatment. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:S31-S36.

225. Yen EF, Pardi DS. Review article: Microscopic colitis--lymphocytic, collagenous and 'mast cell' colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34:21-32.
226. Chande N. Microscopic colitis: an approach to treatment. *Can J Gastroenterol* 2008; 22:686-88.
227. Guagnozzi D, Lucendo AJ, Angueira-Lapeña T, González-Castillo S, Tenias Burillo JM. Prevalence and incidence of microscopic colitis in patients with diarrhoea of unknown aetiology in a region in central Spain. *Dig Liver Dis*. 2012; 44(5):384-8.
228. Brown WR, Tayal S. Microscopic colitis. A review. *J Dig Dis*. 2013 Feb 19. doi: 10.1111/1751-2980.12046. [In stampa].
229. Valle Mansilla JL, León Barúa R, Recavarren Arce S, Berendson Seminario R, Biber Poillevard M. Microscopic colitis in patients with chronic diarrhea. *Rev Gastroenterol Peru* 2002; 22:275-8.
230. Essid M, Kallel S, Ben Brahim E, Chatti S, Azzouz MM. Prevalence of the microscopic colitis to the course of the chronic diarrhea: About 150 cases. *Tunis Med* 2005; 83:284-7.
231. Villanacci V, Manenti S, Antonelli E, Chiudinelli M, Giuliano V, Bassotti G. Non-IBD colitides: clinically useful histopathological clues. *Rev Esp Enferm Dig*. 2011; 103(7):366-72.
232. Mohamed N, Marais M, Bezuidenhout J. Microscopic colitis as a missed cause of chronic diarrhea. *World J Gastroenterol*. 2011; 17(15):1996-2002.