

LAVORO ORIGINALE

Anticorpi anti-transglutaminasi tissutale nelle artropatie a carattere infiammatorio e degenerativo*

Anti-tissue transglutaminase antibodies in inflammatory and degenerative arthropathies

A. Spadaro, M.L. Sorgi, R. Scrivo, A. Picarelli¹, M. Di Tola¹, L. Sabbatella¹, E. Taccari²

Dipartimento di Terapia Medica, Unità di Reumatologia, I Facoltà di Medicina; ¹Dipartimento di Scienze Cliniche;

²Unità di Reumatologia, II Facoltà di Medicina. Università di Roma "La Sapienza"

SUMMARY

Recent studies identified tissue transglutaminase (tTG) as the antigen eliciting antiendomysial antibodies (EMA) in celiac disease (CD). Anti-tTG antibodies have therefore been proposed as a serological test for CD. Nevertheless, IgA anti-tTG but not EMA have also been found in inflammatory bowel disease patients, suggesting that these antibodies are linked to a tissue lesion rather than to an auto-immune component of CD. To confirm this hypothesis, we evaluated the presence of IgA anti-tTG in patients with inflammatory and degenerative diseases, in whom tissue lesions presented far away from the intestinal mucosa.

The study was carried out on the serum and synovial fluid (SF) of 68 patients with rheumatoid arthritis (RA=33), psoriatic arthritis (PsA=26) and osteoarthritis (OA=9).

In RA, PsA and OA sera, IgA anti-tTG were positive in 33%, 42% and 11% of patients, respectively.

Serum anti-tTG levels were significantly higher in RA ($p<0.0001$), PsA ($p<0.0001$) and OA ($p<0.02$) with respect to healthy controls. SF anti-tTG levels were significantly higher in PsA ($p<0.018$) than in OA.

A good correlation between serum and synovial fluid anti-tTG levels was found in all arthropathies

This study suggests that tTG is not the only antigen of EMA and, furthermore, that IgA anti-tTG antibodies represent a general lesion-associated event. Moreover, the significant correlation between serum and synovial fluid anti-tTG levels allow us to hypothesize that these antibodies could be synthesized in the site of arthritic lesions.

Reumatismo, 2002; 54(4):344-350

INTRODUZIONE

Nei pazienti affetti da malattia celiaca (MC) è nota una maggiore frequenza di patologie di interesse reumatologico rispetto alla popolazione generale (1), con manifestazioni articolari (2-4), ad esempio di tipo artrite, con una prevalenza del 41% nei pazienti a dieta libera e del 21.6% in quelli a dieta priva di glutine (4). L'applicazione di tests sierologici per la MC nelle spondiloartriti ha evidenziato la presenza di anticorpi anti-endomisio (EMA) in un paziente su 74 esaminati, suggerendo la possibilità di effettuare un ulteriore screening di

popolazione con l'ausilio di altri tests sierologici, come la ricerca degli anticorpi anti-transglutaminasi tissutale (anti-tTG) (5). Tuttavia, nonostante gli anti-tTG siano stati indicati come altamente sensibili e specifici per la MC (6, 7), la presenza di tali anticorpi è stata recentemente riscontrata in patologie intestinali come il morbo di Crohn e la colite ulcerosa (8, 9). È stato inoltre evidenziato come la tTG, un enzima prettamente intracellulare, sia spesso localizzata nella matrice extracellulare durante la MC così come durante il morbo di Crohn, dove svolge una funzione di riparazione del tessuto lesso (9, 10). Considerando che lo smascheramento di antigeni criptici induce la produzione di anticorpi diretti contro loro stessi (11, 12), è stato suggerito che l'induzione degli anticorpi anti-tTG, piuttosto che essere legata alla componente autoimmune della MC, potrebbe verificarsi in risposta alla tTG rilasciata nel compartimento extracellulare in seguito a lesione tissutale (9). Al fine di va-

*Lavoro premiato al XXXVIII Congresso SIR di Padova, 2001

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Antonio Spadaro, Dipartimento di Terapia Medica
Divisione di Reumatologia Azienda Policlinico Umberto I
Viale del Policlinico 155, 00161 Roma
E-mail: a.spadaro.reuma@virgilio.it

lutare la relazione tra lesione e produzione degli anticorpi anti-tTG anche in distretti tissutali diversi da quello intestinale, abbiamo valutato la presenza di tali anticorpi nel siero e nel liquido sinoviale (LS) di pazienti affetti da malattie articolari a carattere infiammatorio e degenerativo, senza sintomatologia intestinale clinicamente evidente.

MALATI E METODI

In 203 malati, caratterizzati da patologie articolari di interesse reumatologico a carattere infiammatorio o degenerativo e privi di sintomatologia intestinale, è stata valutata la presenza di versamento articolare. In 68 pazienti, rispettivamente con AR (n = 33) classificati in accordo ai criteri ARA (13), AP (n = 26) classificati in accordo ai criteri del "European Spondylo-arthritis Study Group" (14), e OA (n = 9) classificati in accordo ai criteri ACR (15-17), sono stati ottenuti campioni di siero e, tramite artrocentesi, di LS.

Nel mese precedente l'inizio dello studio, nessun malato ha effettuato un'artrocentesi o infiltrazioni articolari con preparati cortisonici o con altre sostanze farmacologiche.

In tutti i malati esaminati nello studio sono stati valutati i principali parametri clinici e laboratoristici, quali la determinazione della velocità di eritrosedimentazione (VES), della proteina-C-reattiva (PCR) e l'esame del LS. Sui campioni di siero e di

LS, conservati a -20°C, è stata effettuata la determinazione degli anticorpi anti-tTG e la ricerca degli EMA, entrambi di isotipo IgA.

Come controlli, sono stati utilizzati 54 soggetti sani (M/F = 26/28; età media = 40.2 ± 12.8; range 20-67).

Anticorpi IgA anti-tTG

La determinazione dei livelli di anticorpi IgA anti-tTG è stata effettuata utilizzando un test immunoenzimatico in cui i singoli pozzetti sono stati rivestiti con tTG ricombinante umana (Eurospital, Trieste). I sieri sono stati diluiti 1:26 ed i LS 1:5. La densità ottica (DO) è stata determinata, mediante un lettore ELISA, a 450 nm. Al fine di verificare la validità del test, sono state valutate le variazioni intra- e inter-analisi. Per la variazione intra-analisi, 5 sieri di riferimento sono stati testati in duplicato per quattro volte nella stessa piastra; il coefficiente di variazione (CV) è risultato compreso tra 0.8-2.5%. Per la variazione inter-analisi, 5 sieri di riferimento sono stati testati in duplicato per tre volte in piastre differenti; il CV è risultato compreso tra 2.8-7.4%.

I valori di IgA anti-tTG superiori a 0.200 DO, corrispondenti alla media + 3 DS dei valori di IgA anti-tTG riscontrati nei controlli sani, sono stati definiti anormali.

Anticorpi IgA anti-endomisio

La ricerca degli anticorpi anti-endomisio di isotipo IgA nel siero (diluito 1:5) e nel LS (non dilui-

Tabella I - Principali caratteristiche cliniche e demografiche dei malati con AR, AP e OA.

	AR n=33	AP n=26	OA n=9
Età media (anni)*	54.4 (26-76)	44.8 (17-70)	59.3 (50-70)
Sesso (M/F)	12/24	19/7	3/6
Durata di malattia (mesi)*	9.2 (1-49)	7.0 (1-53)	5.4 (1-10)
VES (mm/1 ^a ora)**	36 (16-50)	26 (12-36)	7 (2-15)
PCR (mg/l)**	15 (6-48)	12 (6-30)	3 (3-6)
Impegno articolare (%):			
monoarticolare	-	19.2	22.2
oligoarticolare	3	26.9	22.2
poliarticolare	97	53.8	65.6
articolazioni dolenti (n)**	5 (1-8)	2.5 (1-5)	1 (1-4)
articolazioni tumefatte (n)**	1 (1-2)	1 (1-1)	1 (1-1)
FANS (%)	93.9	100	100
Terapia cortisonica sistemica (%)	69.7	30.8	-
DMARDs (%)	69.7	57.8	-
* media (range)			
** mediana/25 ^o -75 ^o percentile			

to) è stata effettuata utilizzando una tecnica di immunofluorescenza indiretta (IFA) su sezioni crio-statiche di esofago di scimmia (Eurospital). I campioni in esame sono stati incubati per 30 minuti. L'anticorpo secondario anti-IgA umane coniugato con isotiocianato di fluoresceina, diluito 1:100, è stato incubato per ulteriori 30 minuti. La presenza degli EMA è stata definita da un'immagine reticolare specifica, marcante il contorno delle fibrocellule muscolari lisce di esofago di scimmia, osservata mediante microscopio a fluorescenza a 400 ingrandimenti (Olympus BX60). I risultati sono stati valutati in cieco da due diversi osservatori. La percentuale di accordo è stata 98,8%.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il test esatto di Fisher o del χ^2 per il confronto tra le percentuali mentre, per le variabili continue, è stato utilizzato il test di Mann-Whitney per campioni indipendenti. La significatività delle correlazioni è stata valutata con il coefficiente di correlazione dei ranghi di Spearman. Sono stati considerati significativi valori di $p < 0.05$.

RISULTATI

Le principali caratteristiche cliniche e demografiche dei malati in esame sono riportate in tabella I. Livelli di IgA anti-tTG al di sopra dei valori normali sono stati riscontrati nel siero dei malati con AR, AP e OA rispettivamente nel 33%, 42% e 11%. I livelli (mediana/25°-75° percentile) sierici

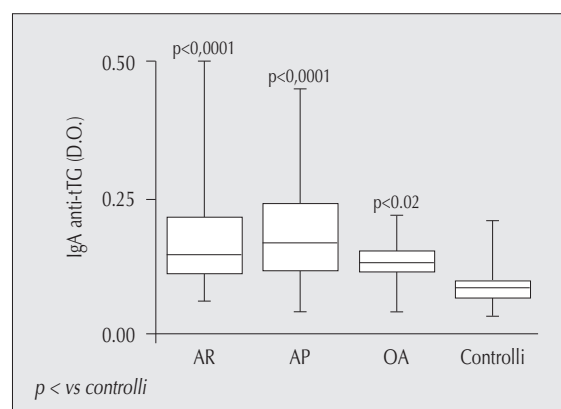


Figura 1 - Livelli di IgA anti-tTG (grafico box e whiskers: mediana 25°-75° percentile/range) nel siero di malati con AR (n = 33), AP (n = 26), OA (n = 9) e nei controlli (n = 54).

di IgA anti-tTG sono risultati significativamente più alti nei malati con AR (0.155/0.122-0.206 DO), AP (0.174/0.131-0.237 DO) e OA (0.138/0.129-0.152 DO) rispetto ai controlli sani (0.100/0.08-0.112 DO) (Fig. 1).

Le principali caratteristiche del LS dei 68 malati ammessi allo studio sono riportate in tabella II. I livelli di IgA anti-tTG nel LS di malati con AP (0.198/0.126-0.254) sono risultati significativamente più alti rispetto a quelli con OA (0.132/0.088-0.142), mentre non è stata riscontrata alcuna differenza rispetto a quelli con AR (0.154/0.131-0.192) (Fig. 2).

Nelle diverse patologie esaminate, i livelli sierici di IgA anti-tTG non differivano significativamente da quelli riscontrati nel LS. La determinazione del ratio (mediana/25°-75° percentile) tra i livelli di IgA

Tabella II - Principali caratteristiche del LS nei malati con AR, AP e OA.

	AR (n=33)	$p < *$	AP (n=26)	$p < *$	OA (n=9)
Coagulo mucinico % (n)					
I tipo	12.1 (4)	0.003	23.1 (6)	0.006	77.8 (7)
II tipo	63.6 (21)	0.03	65.4 (17)	0.03	22.2 (2)
III tipo	24.2 (8)	n.s.	11.5 (3)	n.s.	-
GB (x10 ³ /mmc)	8		7		3.225
mediana/25°-75° percentile	(6.6-13.25)	0.001	(6-10)	0.012	(2.175-3.25)
Polimorfonucleati (%)	75		70		20
mediana/25°-75° percentile	(69-81.5)	0.0001	(55-75)	0.001	(20-37.5)
Mononucleati (%)	25		30		80
mediana/25°-75° percentile	(18.5-31)	0.0001	(25-45)	0.001	(62.5-80)
* vs OA					

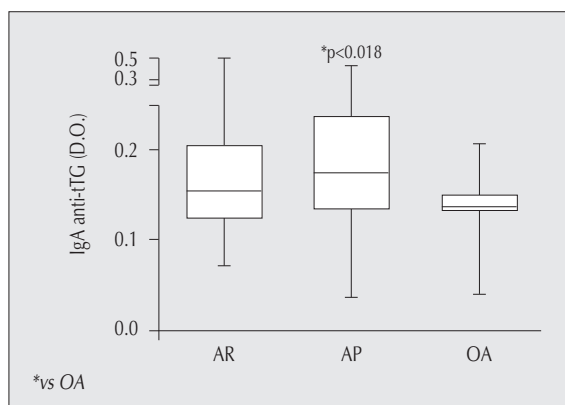


Figura 2 - Livelli di IgA anti-tTG (grafico box e whiskers: mediana 25°-75° percentile/range) nel LS di malati con AR (n = 33), AP (n = 26), OA (n = 9).

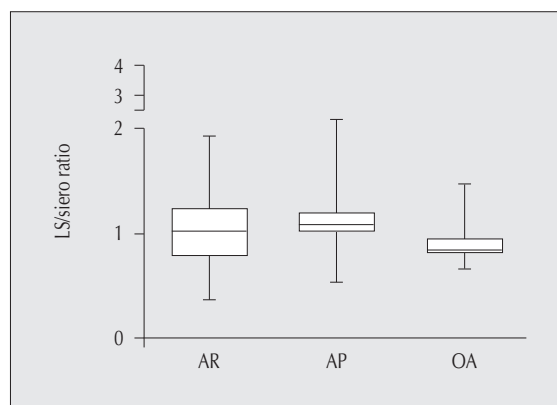


Figura 3 - Livelli di IgA anti-tTG (grafico box e whiskers: mediana 25°-75° percentile/range) nel LS e nel siero (LS/siero ratio) di malati con AR (n = 33), AP (n = 26), OA (n = 9).

anti-tTG nel LS e nel siero dei malati con AR (1.024/0.776-1.253), AP (1.079/0.988-1.216) e OA (0.835/0.796-0.970) sono riportati in figura 3. I livelli sierici degli anticorpi anti-tTG sono risultati strettamente correlati con quelli del liquido sinoviale nei malati con AR ($r_s=0.698$; $p<0.0001$), AP ($r_s=0.716$; $p<0.003$) e OA ($r_s=0.644$; $p<0.068$). I livelli di anticorpi anti-tTG, sia nel siero che nel LS, non correlavano con alcun parametro clinico e di laboratorio.

In nessun paziente in esame è stata riscontrata la presenza di EMA sia nel siero che nel LS.

DISCUSSIONE

Le transglutaminasi (TGs) costituiscono una famiglia di enzimi calcio-dipendenti largamente rappresentata sia nei tessuti che nei fluidi corporei. Tali enzimi sono preposti a numerose e importanti funzioni dell'organismo quali adesione cellulare, apoptosi, riparazione di tessuti, emostasi e neogenesi di tessuti epiteliali. Rispetto alla loro localizzazione, è possibile distinguere quattro isoforme di TGs: la transglutaminasi sierica (fattore XIII della cascata enzimatica della coagulazione), la transglutaminasi cheratinocitica (TGk), la transglutaminasi epidermica (Tge) e la transglutaminasi tissutale (tTG) (18).

La tTG, o transglutaminasi di tipo II, è un enzima intracellulare localizzato nel citoplasma delle cellule endoteliali, della muscolatura liscia di vene e arterie, mesangiali, midollari e dei fibroblasti (19). Tale enzima, catalizzando reazioni che portano alla formazione di cross-links glutamina-lisina e/o in-

corporazione di di- e poli-ammine nelle proteine, rende i substrati proteici resistenti agli insulti fisici e chimici, favorendo così la stabilizzazione della matrice extracellulare e la riparazione tissutale (20, 21). Inoltre, durante il processo apoptotico, è stata comprovata l'induzione del gene della tTG sia in condizioni fisiologiche che patologiche, suggerendone un ruolo nella stabilizzazione dei corpi apoptotici (22-26). Studi recenti mostrano infine un aumento di attività della tTG in neuroni di pazienti affetti da morbo di Alzheimer e di Huntington (27) e, mediando la formazione di aggregati insolubili di proteine, tale enzima sembra partecipare alla formazione delle placche senili nel morbo di Alzheimer e dei corpi di Lewy nel morbo di Parkinson (28).

La tTG è stata recentemente proposta come l'autoantigene degli anticorpi anti-endomisio nella malattia celiaca, una comune patologia autoimmune organo-specifica il cui bersaglio è rappresentato dalla mucosa intestinale (29). Gli EMA, determinati mediante una tecnica di immunofluorescenza indiretta, legano uno o più componenti endomisiali della muscolatura liscia e vengono identificati da un caratteristico pattern a nido d'ape di colore verde-mela che si distribuisce sulla muscolatura mucosae di una sezione criostatica di esofago di scimmia. A suffragio dell'ipotesi di cui sopra anche gli anticorpi anti-tTG, sviluppati su sezioni di esofago di scimmia, forniscono un pattern IFA sovrapponibile a quello degli EMA (29). Tuttavia l'ipotesi che la tTG sia l'autoantigene degli EMA è stata recentemente posta in discussione. Prove di inibizione competitiva e di adsorbimento anticorpale hanno infatti dimostrato che la tTG potrebbe non

essere l'antigene o, quantomeno, il solo antigene scatenante la produzione degli EMA (30, 31). Ulteriori studi sul pattern anticorpale degli EMA ed anti-tTG eseguiti con l'ausilio di tecniche più approfondite quali microscopio laser a scansione ed il confocale, hanno inoltre dimostrato che i siti di legame degli EMA ed anti-tTG non sono totalmente sovrapponibili (32). Resta comunque l'evidenza che oltre il 90% dei pazienti affetti da MC presenta alti valori di anticorpi anti-tTG circolanti, i quali sono stati quindi proposti come marker sierologico di malattia (6, 7).

L'evidenza che la tTG, enzima prettamente intracellulare, può in condizioni patologiche come la MC e il morbo di Crohn localizzarsi in sede extracellulare (9-10), suggerisce che la produzione degli anticorpi anti-tTG può essere indotta in risposta alla tTG rilasciata nei siti di lesione tissutale, secondo un meccanismo che determina la produzione di autoanticorpi in seguito all'esposizione di antigeni criptici (11, 12), piuttosto che essere legata a una componente autoimmune specifica della MC. La presenza di anticorpi anti-tTG di isotipo IgA, ma non di EMA, nel siero di pazienti affetti da patologie caratterizzate da lesioni tissutali a livello intestinale, come il morbo di Crohn e la colite ulcerosa (8, 9), ma anche da malattie come le epatopatie croniche (8), rinforza quest'ipotesi e sottolinea che gli anti-tTG possono essere considerati specifici per la MC solo a titoli medio-alti (8).

Questi risultati concordano con il nostro studio, il quale ha evidenziato aumentati livelli di anti-tTG nel siero di pazienti con malattie reumatologiche a carattere infiammatorio e degenerativo in assenza di positività per EMA e di sintomatologia intestinale clinicamente evidente, sebbene quest'ultimo aspetto non rappresenti un criterio assoluto per escludere la possibile presenza di alterazioni intestinali nelle forme di celiachia subclinica. Tuttavia, per quanto concerne la possibile sede del danno tissutale associato alla presenza di anticorpi anti-tTG sierici, è opportuno fare alcune considerazioni. È da sottolineare infatti che, nei pazienti con artrite, è nota un'alta frequenza di malattia infiammatoria intestinale silente (33) nella quale, anche in assenza di sintomi intestinali, è possibile riscontrare lesioni microscopiche a questo livello (34) e che, farmaci come gli anti-infiammatori non steroidei, ampiamente utilizzati in più del 90% dei nostri pazienti con artrite o artrosi, possono determinare alterazioni intestinali (35). Ciononostante, tenendo conto di queste limitazioni, nel nostro stu-

dio, il legame, sebbene non assoluto, tra gli anti-tTG ed il danno articolare sembrerebbe confermato dalla stretta correlazione tra i livelli di anti-tTG nel siero e nel LS nelle differenti patologie esaminate. In ogni caso, l'equilibrio dei livelli anticorpali tra il compartimento intra-articolare e quello intravasale non sembra differire nelle diverse patologie considerate, in quanto nell'AR, nell'AP e nell'OA sono stati riscontrati valori del rapporto LS/siero degli anticorpi anti-tTG prossimi all'unità. Inoltre, i livelli degli anticorpi anti-tTG come espressione di danno tissutale articolare sembrano avere una scarsa rilevanza clinica per via della mancanza di correlazione con i più comuni parametri utilizzati per valutare sia la flogosi sistemica che per caratterizzare il LS. Per quanto concerne invece il suggerimento della ricerca di questi anticorpi come metodica di screening nell'identificazione della MC in corso di spondiloartriti (5), è opportuno considerare una serie di problematiche legate ai valori soglia e al grado di positività considerati nei vari studi (6-9), nei quali è discussa la possibilità di rilevare bassi titoli anticorpali in presenza di altre patologie (8, 9). In particolare l'uso di tTG non umana potrebbe, almeno in parte, rendere ragione del riscontro di un'elevata frequenza di falsi positivi o falsi negativi (36).

In conclusione, sebbene la mancanza di un rilievo istopatologico intestinale imponga ulteriori studi, i nostri risultati suggeriscono che la tTG potrebbe non essere il solo antigene degli EMA e che gli anticorpi anti-tTG sembrerebbero essere espressione di un danno tissutale non necessariamente legato ad un organo o ad una malattia specifica.

BIBLIOGRAFIA

1. Bourne IT, Kumar P, Huskisson EC, Mageed R, Unsworth DJ, Wojtulewski JA. Arthritis and celiac disease. *Ann Rheum Dis* 1985; 44: 592-8.
2. Borg AA, Dawes PT, Swan CH, Mothersall TE. Persistent monoarthritis and occult coeliac disease. *Postgrad Med J* 1994; 70: 51-3.
3. Carli P, Chagnon A, Harle JR, Paris JF, Marlier S, Galzin M. Inflammatory rheumatism and celiac disease in adults. Coincidence of pathogenic relationship. *Presse Med* 1995; 24: 606-10.
4. Lubrano E, Ciacci C, Ames PR, Mazzacca G, Oriente P, Scarpa R. The arthritis of coeliac disease: prevalence and pattern in 200 adult patients. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 1314-8.
5. Kallikorm R, Uibo O, Uibo R. Celiac disease in spondyloarthritis: usefulness of serological screening. *Clin Rheumatol* 2000; 19: 118-22.

RIASSUNTO

Al fine di valutare la relazione tra lesione e produzione degli anticorpi anti-tTG anche in distretti tissutali diversi da quello intestinale, abbiamo valutato la presenza di tali anticorpi nel siero e nel liquido sinoviale (LS) di pazienti affetti da malattie articolari a carattere infiammatorio e degenerativo (AR=33; AP=26; OA=9), senza sintomatologia intestinale clinicamente evidente.

I livelli sierici di IgA anti-tTG sono risultati significativamente più alti nei malati con AR ($p < 0.0001$), AP ($p < 0.0001$) e OA ($p < 0.02$) rispetto ai controlli sani. I livelli di IgA anti-tTG nel LS di malati con AP sono risultati significativamente ($p < 0.018$) più alti rispetto a quelli con OA mentre non è stata riscontrata alcuna differenza rispetto a quelli con AR. I livelli sierici degli anticorpi anti-tTG sono risultati strettamente correlati con quelli del LS nei malati con AR, AP e OA.

In conclusione questi risultati suggeriscono che la tTG potrebbe non essere il solo antigene degli EMA e che gli anticorpi anti-tTG sembrerebbero essere espressione di un danno tissutale non necessariamente legato ad un organo o ad una malattia specifica.

Parole chiave - Anticorpi anti-transglutaminasi tissutale, malattie reumatiche, danno tissutale.

Key words - *Anti-transglutaminase antibodies, rheumatic diseases, tissue damage.*

6. Dieterich W, Laag E, Schöpper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H et al. Autoantibodies to "tissue" transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 1317-21.
7. Sulkanen S, Haltunen T, Laurila K, Laurila K, Kohlo KL, Korponay-Szabo IR et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 1322-8.
8. Koop I, Ilchmann R, Izzi L, Adragna A, Koop H, Barthelmes H. Detection of autoantibodies against tissue transglutaminase in patients with celiac disease and dermatitis herpetiformis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2009-14.
9. Farrace MG, Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L, Marchione OP, Ippolito G et al. Presence of anti-"tissue" transglutaminase antibodies in inflammatory intestinal diseases: an apoptosis-associated event? *Cell Death Differ* 2001; 8: 767-70.
10. D'Argenio G, Biancone L, Cosenza V, Della Valle N, D'Armiento FP, Boirivant M, et al. Transglutaminases in Crohn's disease. *Gut* 1995; 37: 690-5.
11. Theofilopoulos AN. The basis of autoimmunity: part I. *Immunol Today* 1995; 16: 90-8.
12. Theofilopoulos AN. The basis of autoimmunity: part II. *Immunol Today* 1995; 16: 150-9.
13. Arnett FR, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries GF, Cooper NS et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
14. Dougados M, van den Linden S, Juhlin R, Huitfeldt B, Amor B, Calin A et al. The European spondyloarthropathy study group preliminary criteria for the classification of spondyloarthropathy. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1218-30.
15. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 1039-49.
16. Altman R, Alarcon G, Appelrough D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hand. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1601-10.
17. Altman R, Alarcon G, Appelrough D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 505-14.
18. Greenberg CS, Birckbichler PJ, Rice RH. Transglutaminases: multifunctional cross-linking enzymes that stabilize tissues. *FASEB J* 1991; 5: 3071-7.
19. Thomazy V, Fesus L. Differential expression of tissue transglutaminase in human cells. An immunohistochemical study. *Cell Tissue Res* 1989; 255: 215-24.
20. Piacentini M, Martinet N, Beninati S, Folk JE. Free and protein-conjugated polyamines in mouse epidermal cells. *J Biol Chem* 1988; 263: 3790-4.
21. Piacentini M, Colizzi V. Tissue transglutaminase: apoptosis versus autoimmunity. *Immunol Today* 1999; 20: 130-4.
22. Fesus L, Thomazy V, Autuori F, Ceru MP, Tarcsa E, Piacentini M. Apoptotic hepatocytes become insoluble in detergents and chaotropic agents as a result of transglutaminase action. *FEBS Lett* 1989; 245: 150-4.
23. Piacentini M, Fesus L, Farrace MG, Ghibelli L, Piredda P, Melino G. The expression of "tissue" transglutaminase in two human cancer cell lines is related with the programmed cell death (apoptosis). *Eur J Cell Biol* 1991; 54: 246-54.
24. Knight C, Hand D, Piacentini M, Griffin M. Characterization of the transglutaminase-mediated large molecular weight polymer from rat liver; its relationship to apoptosis. *Eur J Cell Biol* 1993; 60: 210-7.
25. Amendola A, Gougeon ML, Poccia F, Bondurand A, Fesus L, Piacentini M. Induction of "tissue" transglutaminase in HIV pathogenesis: evidence for high rate of apoptosis of CD4+ T lymphocytes and accessory cells in lymphoid tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11057-62.

26. Piacentini M., M. G. Farrace, C. Hassan, B. Serafini and F. Autuori. Tissue transglutaminase release from apoptotic cells into extracellular matrix during human liver fibrogenesis. *J Pathol* 1999; 189: 92-8.
27. Lesort M, Tucholsky J, Miller ML, Johnson GV. Tissue transglutaminase: a possible role in neurodegenerative disease. *Prog Neurobiol* 2000; 61: 439-63.
28. Chen JS, Metha K. Tissue transglutaminase: an enzyme with a split personality. *Int Cell Biol* 1999; 31: 817-36.
29. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO et al. Identification of "tissue" transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3: 797-801.
30. Lock RJ, Gilmour JEM, Unsworth DJ. Anti-tissue transglutaminase, anti-endomysium and anti-R1-reticulin autoantibodies, the antibody trinity of coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 1999; 116: 258-62.
31. Brusco G, Muzi P, Ciccocioppo R, Biagi F, Cifone MG, Corazza GR. Transglutaminase and celiac disease: endomysial reactivity and small bowel expression. *Clin Exp Immunol* 1999; 118: 371-5.
32. Ulligh HH, Lichtenfeld J, Osman AA, Richter T, Mothes T. Evidence for existence of coeliac disease autoantigen apart from tissue transglutaminase. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 1017-20.
33. Leirisalo-Repo M, Turunen U, Stenman S, Helenius P, Seppala K. High frequency of silent inflammatory bowel disease in spondyloarthritis. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 23-31.
34. Scarpa R, Manguso F, D'Arienzo A, D'Armiento FP, Astarita C, Mazzacca G et al. Microscopic inflammatory changes in colon of patients with both active psoriasis and psoriatic arthritis without bowel symptoms. *J Rheumatol* 2000; 27: 1241-6.
35. Tanner AR, Raghunath AS. Colonic inflammation and nonsteroidal anti-inflammatory drug administration. An assessment of the frequency of the problem. *Digestion* 1988; 41: 116-20.
36. Clemente MG, Musu MP, Frau F, Cicotto L, De Virgiliis S. Antitissue transglutaminase antibodies outside celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 34: 31-4.