

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



TESIS DOCTORAL

**Seguimiento de una cohorte de población infantil genéticamente predispuesta
(HLA-DQ2) para la enfermedad celiaca**

Influencia de factores ambientales en el desarrollo de la enfermedad

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Sonia Fernández Fernández

Directores

María Luz Cilleruelo Pascual
Jesús Ruiz Contreras

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Pediatría



**Seguimiento de una cohorte de población infantil genéticamente
predispuesta (HLA-DQ2) para la enfermedad celiaca. Influencia de
factores ambientales en el desarrollo de la enfermedad.**

TESIS DOCTORAL

Sonia Fernández Fernández

Directores de Tesis Doctoral: Dra. M^a Luz Cilleruelo Pascual

Dr. Jesús Ruiz Contreras

A mi marido por su apoyo incondicional.

A mis hijos por su sonrisa.

A mis padres porque les debo todo.

Agradecimientos

A todos los niños que han participado en este estudio, a sus padres por la confianza y la colaboración en este proyecto.

A las enfermeras, residentes, técnicos de laboratorio y todo aquel que hizo posible la realización de esta tesis doctoral.

A la memoria del Profesor Nogales que supervisó el comienzo de este trabajo transmitiendo su profundo conocimiento en el mundo académico de la Pediatría.

A la Dra. M^a Luz Cilleruelo, por ser mi guía y referente desde los primeros pasos en el mundo de la Pediatría, y por su inestimable ayuda como directora de esta tesis doctoral.

Al Dr. Jesús Ruíz Contreras, por sus consejos, experiencia y ánimos finales como codirector de esta tesis doctoral.

A la Dra. Juana Jiménez, sin la cual este proyecto no hubiera sido posible. Por su entusiasmo, sus ánimos y su buen hacer diario desde el Servicio de Bioquímica.

A la Dra. Carmen Hernando de Larramendi y a la fundación MAPFRE por la confianza mostrada y el apoyo desde el inicio del estudio.

A Isabel Millán, por su ayuda en el estudio estadístico de este trabajo.

A todos mis compañeros del Hospital Severo Ochoa, por sus ánimos, que sin duda me han dado aliento en el tiempo que dediqué a esta tesis doctoral

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
RESUMEN	3
SUMMARY	13
I. INTRODUCCION	23
1. RECUERDO HISTÓRICO	25
2. CONCEPTO	27
3. EPIDEMIOLOGÍA	27
3.1 Estudios de prevalencia	27
3.2 Estudios de incidencia	29
3.3 Estudios en población de riesgo	29
3.4 Estudios sobre factores ambientales de riesgo en el desarrollo de la EC	30
3.4.1. Lactancia materna.....	31
3.4.2. Edad de introducción del gluten.....	31
3.4.3. Papel de las infecciones.....	32
3.4.4. Tipo de parto.....	32
4. PATOGENIA	33
4.1 Proteínas tóxicas de los cereales	33
4.2 Factores genéticos	33
4.3 Inmunopatogenia	35
4.3.1. Activación de la inmunidad innata.....	36
4.3.2. Activación de la inmunidad adaptativa.....	36
5. SÍNTOMAS Y SIGNOS CLÍNICOS	38
5.1 Manifestaciones clínicas	38
5.2 Grupos de riesgo	40
5.3 Enfermedades asociadas	40
5.4 Familiares de primer grado	40
6. DIAGNÓSTICO	41
6.1 Estudio serológico	41
6.1.1. Anticuerpos anti gliadina.....	42
6.1.2. Anticuerpos anti endomisio.....	42
6.1.3. Anticuerpos antitransglutaminasa.....	43
6.1.4. Anticuerpos anti-péptido deaminado de gliadina.....	44
6.1.5. Test inmunocromatográficos de lectura rápida.....	44

6.2 Estudio histológico.....	46
6.3 Estudio genético.....	49
6.4 Evolución de los criterios diagnósticos.....	49
7. TRATAMIENTO.....	53
7.1 Nuevas perspectivas terapéuticas.....	54
7.2 Seguimiento serológico de la dieta sin gluten.....	56
8. COMPLICACIONES.....	56
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	59
1. JUSTIFICACIÓN.....	61
2. OBJETIVOS.....	63
III. PARTICIPANTES Y METODOS.....	65
1. PARTICIPANTES.....	67
2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	67
3. DISEÑO Y FASES DEL ESTUDIO.....	68
3.1 Formación de la cohorte de riesgo de EC mediante estudio del HLA-DQ2 en sangre del cordón umbilical.....	68
3.1.1. Determinación del HLA-DQ2.....	68
3.1.2. Comunicación de los resultados a la familia.....	69
3.1.3. Definición de los grupos de estudio.....	69
3.2 Estudio serológico de la cohorte de niños de riesgo HLA- DQ2 Positivos.....	70
3.2.1. Grupo de despistaje.....	70
3.2.2. Grupo sintomático.....	72
3.3 Valoración clínica de los niños con serología positiva.....	72
3.4 Estudio histológico de los niños con serología positiva.....	73
3.4.1. Grupo de despistaje.....	73
3.4.2. Grupo sintomático.....	74
3.5 Valoración de factores epidemiológicos relacionados con la EC mediante estudio de casos y controles.....	75
4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO..	76

IV. RESULTADOS	77
1. ESTUDIO DEL HLA-DQ2 EN CORDÓN UMBILICAL FORMACIÓN DE LA COHORTE DE RIESGO	79
2. ESTUDIO SEROLÓGICO DE LA COHORTE DE NIÑOS DE RIESGO (HLA-DQ2 POSITIVO). RESULTADOS DE OTROS PARÁMETROS ANALÍTICOS	80
2.1 Estudio serológico	80
2.1.1. Grupo de despistaje.....	80
2.1.2. Grupo sintomático.....	80
2.2 Resultados de otros parámetros analíticos	81
3. VALORACIÓN CLÍNICA DE LOS NIÑOS CON SEROLOGÍA POSITIVA	81
3.1 Grupo de despistaje	81
3.2 Grupo sintomático	81
4. ESTUDIO HISTOLÓGICO	84
4.1 Grupo de despistaje	84
4.2 Grupo sintomático	84
5. EVOLUCIÓN DE LOS ANTICUERPOS DE LOS NIÑOS CON CELIACA POTENCIAL Y CON AUTOINMUNIDAD CELIACA ..	88
6. ESPECTRO CLÍNICO DE LA ENFERMEDAD CELIACA EN LA POBLACIÓN HLA-DQ2 POSITIVA	90
6.1 Signos y síntomas	90
6.1.1. Grupo de despistaje.....	90
6.1.2. Grupo sintomático.....	91
6.1.3. Grupo de despistaje y grupo sintomático.....	91
6.2 Somatometría	92
6.3 Evolución clínica tras la retirada del gluten	93
7. VALORACIÓN DE POSIBLES FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LA EC	96
V. DISCUSIÓN	99
1. PREVALENCIA DE LA EC EN LA COHORTE DE RIESGO	101
2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	107
3. SEGUIMIENTO DE LOS NIÑOS CON EC POTENCIAL Y CON SEROLOGÍA DÉBILMENTE POSITIVA	110

4. FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DE LA EC.....	112
5. CONTROVERSAS EN EL DESPISTAJE POBLACIONAL DE LA EC.....	117
6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	119
VI. CONCLUSIONES.....	121
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	125

ABREVIATURAS

AGA: Anticuerpos antigliadina

Anti-TG2: Anticuerpos antitransglutaminasa tisular

Anti-PDG: Anticuerpos frente a los péptidos deaminados de gliadina

CESIC: Consejo superior de investigaciones científicas

CD3-/CD7+: Cluster of Differentiation 3 o 7. Proteína de los linfocitos T maduros con papel en la interacción entre los linfocitos.

DOR: Odds ratio diagnóstico

EC: Enfermedad celiaca

ELISA: Enzimoimmunoanálisis

ELISA-R5: Enzimoimmunoanálisis en el que el anticuerpo monoclonal R5 reacciona simultáneamente con el gluten del trigo, cebada, centeno y avena.

EMA: Anticuerpos antiendomiso

ESPGHAN: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition o Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica

FACE: Federación de Asociaciones de Celiacos de España

IFN γ : Interferón γ

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

IL 15: Interleukina 15

LIE: Linfocitos intraepiteliales

LT CD4⁺: Linfocitos T CD4

LR: Likelihood ratios

MICA: Proteínas de superficie estructuralmente similares a las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I.

NK: Natural Killer

NKG2D: Receptor activador en la superficie de las células NK

NASPGHAN: North America Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition o Sociedad Americana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica

OMS: Organización Mundial de la Salud

OR: Odds ratio

PCR/SSP: Polimerase chain reaction and amplification with secuencia specific primers

TCR $\gamma\delta$: Receptores de superficie de células T compuesta por una cadena γ y otra δ

Th1: Linfocitos T colaboradores (respuesta humoral)

VR: Valor de referencia

RESUMEN**1-Introducción**

La EC es un trastorno sistémico mediado inmunológicamente y desencadenado por el gluten y prolaminas relacionadas en individuos genéticamente susceptibles. Se caracteriza por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes del gluten, anticuerpos específicos, HLA-DQ2 y/o DQ8 y diferentes grados de enteropatía. Se trata de una enfermedad crónica en la que la instauración de una dieta exenta de gluten conduce a la desaparición de los síntomas y a la normalización de la mucosa intestinal. Los estudios de despistaje han contribuido a reconocer las formas atípicas y silentes de la enfermedad que queden sin diagnosticar. La mayoría han estimado la prevalencia de EC en la población general, sin embargo son escasos los efectuados en población genéticamente susceptible. Tanto el retraso en el diagnóstico de la enfermedad como el no cumplimiento de la dieta tienen una elevada morbilidad en la vida adulta. Los pacientes celíacos con un diagnóstico tardío tienen una mayor tasa de osteoporosis, linfoma no Hodgkin de células T y enfermedades autoinmunes.

No está claro porqué la EC se desarrolla sólo en un pequeño porcentaje de la población con predisposición genética, a pesar de la amplia exposición al gluten en poblaciones occidentales. Este hecho, así como las diferencias en el patrón de la enfermedad indican que existen otros factores, además del gluten, que pueden jugar un papel en su desarrollo. En los últimos años, varios estudios epidemiológicos, la mayoría realizados en población general, han mostrado una posible asociación entre la EC y factores ambientales como infecciones virales o bacterianas, el patrón de lactancia materna, el tiempo de introducción del gluten en la dieta y el tipo de parto.

2-Objetivo

El objetivo de este estudio ha sido establecer la prevalencia y el espectro clínico de EC en una cohorte de niños portadores del haplotipo HLA-DQ2 y evaluar posibles factores ambientales en el desarrollo de la enfermedad.

3-Participantes y métodos

3.1 Participantes

Se incluyeron los niños nacidos en el Hospital Severo Ochoa de Leganés desde Julio 2004 a Julio 2005, cuyos padres consintieron en participar en el estudio. Se excluyeron los recién nacidos con malformaciones congénitas graves, aquellos con muestra de sangre insuficiente para la adecuada extracción de DNA y los que sus padres no dieron su consentimiento. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Severo Ochoa.

3.2 Diseño del estudio

Se trata de un estudio prospectivo en el que se valoró la prevalencia de la EC en una cohorte de riesgo genético (HLA-DQ2 positivo) y los posibles factores epidemiológicos implicados en su desarrollo. Inicialmente se determinó en sangre del cordón umbilical el haplotipo HLA –DQ2, a fin de crear una cohorte de riesgo genético en la que se realizó posteriormente el estudio serológico de despistaje de la EC. Se definieron dos grupos de estudio dentro de la cohorte de riesgo, el *grupo de despistaje*, formado por niños asintomáticos a los que se realizó el estudio serológico después de los dos años de edad, y el *grupo sintomático*, compuesto por niños que fueron remitidos por su pediatra a las consultas de Gastroenterología infantil por sospecha de EC, por haber iniciado los síntomas antes del comienzo del despistaje. Los niños del *grupo de despistaje* con serología positiva, fueron remitidos a la consulta de Gastroenterología Infantil para valoración, y en todos ellos se efectuó una segunda determinación de anticuerpos para

confirmar la positividad pasados 3-4 meses. A los niños con cifras altas de anticuerpos, anti – TG2 ≥ 80 (> 10 veces el valor de referencia y/o EMA $\geq 1:80$) se les realizó biopsia intestinal para el diagnóstico de la EC. Si las cifras eran menores se les realizó seguimiento y estudio serológico cada 6 meses. Se recogieron las siguientes variables: edad, género, tipo de parto, antecedentes familiares de EC, alimentación con lactancia materna, duración de la misma (meses), edad de introducción del gluten (meses) y asistencia a guardería. A los niños del *grupo sintomático* se realizó biopsia intestinal para el diagnóstico de la EC tras valorar los niveles de anticuerpos y la presencia de síntomas. En estos pacientes se estudiaron las mismas variables clínicas y demográficas que en el grupo de despistaje.

3.2.1 Determinación del HLA-DQ2

Se determinó la presencia de los alelos DQA1*05 y DQB1*02 en sangre del cordón umbilical mediante PCR/SSP según técnica descrita por Olerup. Se consideró resultado positivo si ambos alelos eran positivos.

3.2.2 Estudio serológico

A los niños con HLA-DQ2 positivo, se les efectuó determinación de los anticuerpos anti-TG2 IgA/IgG/IgM mediante un test inmunocromatográfico en sangre capilar. A todos los pacientes con dicho test positivo se confirmó el resultado mediante la determinación de anti-TG2 IgA y EMA en sangre venosa. Los anti-TG2 se realizaron mediante ELISA y se consideraron positivos los títulos ≥ 8 U/ml. Los EMA se estudiaron mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando como sustrato esófago de mono y se consideraron positivos los títulos $\geq 1:5$. En aquellos niños con déficit de IgA (valor inferior a 20 mg/dl) se efectuaron los mismos anticuerpos de clase IgG. Se determinaron además niveles de hemoglobina, ferritina y enzimas hepáticas, glucosa, creatinina, proteínas totales y albúmina.

3.2.3 Diagnóstico de EC

Se consideraron síntomas y signos de la EC : Diarrea crónica o intermitente, estreñimiento crónico, dolor abdominal, náuseas o vómitos, distensión abdominal, fallo de medro, anemia ferropénica, irritabilidad y elevación de las enzimas hepáticas.

La biopsia intestinal se realizó mediante endoscopia digestiva alta. Se tomaron biopsias de la segunda porción de duodeno y de bulbo duodenal. La lesión intestinal se valoró siguiendo la clasificación de Marsh modificada por Oberhuber . Se consideró EC si el niño presentaba una lesión intestinal grado II, III a, IIIb y IIIC.

3.2.3 Estudio de los factores de riesgo

Realizamos un estudio caso-control para valorar el papel del género, tipo de parto, antecedentes familiares de EC, asistencia a guardería, alimentación con lactancia materna, duración de la lactancia y edad de introducción del gluten en el desarrollo de la EC. Los controles fueron todos los niños de la cohorte de riesgo con serología negativa para la EC.

3.3 Estudio estadístico

Las medidas de frecuencia asociadas a las variables HLA-DQ2, serología positiva y niños celíacos se estimaron mediante el cálculo de sus intervalos de confianza del 95% (IC95%). En el estudio de casos y controles la comparación de porcentajes de los factores de riesgo se realizó con la prueba χ^2 corregido por continuidad. La magnitud de la asociación de las variables significativas entre casos y controles se evaluó con la *odds ratio* (OR) calculada mediante regresión logística por el método de máxima verosimilitud condicional. Las OR se presentaron con los intervalos de confianza del 95%. Todas las pruebas se realizaron en contraste bilateral. El análisis se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 14.0 (SPSS Inc.Chicago IL, USA) y los valores de p inferiores a 0,05 se consideraron significativos.

4. Resultados

4.1 Determinación del HLA-DQ2 y estudio serológico

Desde Julio de 2004 hasta Julio de 2005 nacieron en nuestra maternidad un total de 1716 niños, de los cuales 1291 (75,2%) cumplieron los criterios de inclusión (620 niñas). No se pudo contactar con un 13,1% de los padres debido a altas precoces y de fin de semana de la maternidad. De los padres contactados, 1,7 % no dio su consentimiento. Finalmente participaron en el estudio 1291 niños, de los cuales 362 eran HLA-DQ2 positivos (28%, IC 95% 25-30) (44,5% niñas). De los 362 niños HLA-DQ2 positivos se pudo contactar con 262 familias (72,3%) para proceder al estudio serológico. El grupo de despistaje estuvo constituido por 255 niños, y 7 pertenecían al grupo sintomático. En el grupo de despistaje el test rápido inmunocromatográfico fue positivo en 20 de los 255, y se confirmó la positividad mediante determinación de anticuerpos en suero en 19 de los 20 niños. Todos tuvieron ambos anticuerpos, anti-TG2 y EMA, positivos. Por tanto, el 7,4% (IC 95% 4.0-10.9) (13 mujeres) del total de este grupo presentó una serología positiva. Tomando en conjunto los 19 niños del grupo de despistaje y los 7 niños del grupo sintomático, el total de niños con serología positiva de esta cohorte de riesgo fue de 26 (9,9% , IC 95% 6,1-13,7) (18 niñas). (Tabla. 4)

4.2 Estudio histológico

Se realizó biopsia intestinal en 20 niños, 14 en el grupo de despistaje y 6 en el grupo sintomático. En 15 (12 mujeres: 80%) se confirmó el diagnóstico de EC y 5 presentaban una biopsia normal. La EC fue finalmente diagnosticada en 15/262 de la cohorte HLA-DQ2+ (5,7%, CI 95% 2,7%-8,7%) o en 1/17.

Considerando la población total estudiada la prevalencia de EC fue de 1/86 niños (1,1%). (Fig. 6)

4.3 Evolución de los anticuerpos en EC potencial y autoinmunidad celiaca

Durante el seguimiento, los anticuerpos se negativizaron en los 10 niños del grupo de despistaje (52,6%), 5 con EC potencial y 5 con autoinmunidad celíaca y en 1 del grupo sintomático. Esto supone una negativización de 11 de los 26 niños con serología positiva (42,3%). (Tabla 5). El tiempo medio de negativización de los anticuerpos fue de 14,5 meses (4-22 meses) existiendo diferencias, no significativas, entre el grupo con EC potencial (19,2 meses) y el grupo con autoinmunidad celíaca (10,6 meses). Tras un seguimiento de 6 años, estos niños tienen en la actualidad entre 7 y 8 años y todos ellos se mantienen asintomáticos y con serología negativa.

4.4 Manifestaciones clínicas

Del total de los enfermos celiacos, el 60% mostraban síntomas digestivos, el 7% pérdida o pobre ganancia ponderal y el 33% eran asintomáticos. En el grupo de despistaje, el 56% eran asintomáticos, el 33% presentaban distensión abdominal y el 11% síntomas digestivos (diarrea intermitente). En el grupo sintomático, el 83% presentaban síntomas digestivos (formas clásicas) y el 17% pérdida ponderal sin otros síntomas. (Tabla 6y7) (Fig. 7). No existieron diferencias en el peso ($0,32 \pm 0,63$ vs $-0,16 \pm 0,66$) y talla ($-0,04 \pm 1,06$ vs. $-0,25 \pm 0,63$) entre el grupo sintomático y el grupo de despistaje. Ningún paciente presentó déficit de IgA. Todos tuvieron unos niveles normales de transaminasas, glucosa, creatinina, proteínas totales y albúmina. En 10 de los 26 pacientes (38,5%) se encontró ferropenia, aunque sólo 5 (19,2%) tenían una anemia ferropénica, 2 del grupo de despistaje y 3 del sintomático.

4.5 Valoración de los posibles factores de riesgo relacionados con el desarrollo de la EC.

Se compararon las variables estudiadas entre el grupo de celiacos (casos) y el grupo de niños de la cohorte de riesgo con serologia negativa (controles). Se obtuvieron datos

completos de 220 niños del grupo de control. En el grupo de niños celíacos se observó un porcentaje significativamente mayor del género femenino y de los niños que introducían el gluten tras la retirada de la lactancia materna. (Tabla 8 y 9)

5. Discusión

Nuestro estudio es el primero realizado en España de detección de EC en población genéticamente susceptible, lo que permite reducir significativamente la población a estudiar. En nuestra serie se creó inicialmente una cohorte de riesgo determinando en sangre del cordón umbilical el HLA-DQ2, que resultó positivo en el 28 % de los casos. Este resultado es similar al encontrado en la literatura y ligeramente superior a lo descrito en nuestro medio, que se sitúa en torno al 22%. Para realizar el despistaje de la EC se eligió un test inmunocromatográfico rápido que determina anti-TG2 IgA, IgG e IgM en sangre capilar. Estos test han demostrado ser una herramienta diagnóstica válida con una sensibilidad y especificidad superiores al 95%. En nuestro estudio, tras realizar el cribado serológico y las confirmaciones posteriores en sangre venosa de ambos anticuerpos, el 9,9% de niños entre 2 y 3 años de edad presentaron autoinmunidad para la EC. De ellos, el 7,4% pertenecía al grupo de despistaje y el resto al sintomático, es decir, al que debutó clínicamente antes del inicio del cribado. La edad de diagnóstico en nuestra serie contrasta con los hallazgos de otros autores que no encontraron seropositividad antes de los 3 años. En nuestro caso, la aparición temprana de anticuerpos podría justificarse por la exposición tardía, y no necesariamente progresiva al gluten que se realizaba en ese momento en nuestro medio. El porcentaje final de celíacos confirmados por biopsia intestinal fue del 5,7%. Este resultado es ligeramente superior a lo publicado, aunque resulta difícil efectuar comparaciones con estudios similares debido a diferencias en el diseño. Nuestra prevalencia, extrapolada a la población total estudiada es de 1,1% (1/86), similar al 1% de un amplio estudio

multicéntrico europeo y mayor a la observada en nuestro país en niños de 3 años de edad (1/118) y, asimismo, superior al efectuado por nuestro grupo en niños escolares (1/220).

En nuestra serie más de la mitad de los enfermos celíacos presentaron síntomas digestivos con o sin anemia ferropénica, el 7% estancamiento ponderal exclusivamente sin síntomas digestivos y una tercera parte fue clínicamente silente. Si consideramos los pacientes diagnosticados por despistaje, más de la mitad fueron asintomáticos. Valorando el espectro clínico de la EC en forma de “iceberg” observamos que el 60% de niños asintomáticos constituiría la base, y en la parte visible se situaría un 33% de formas clásicas y un 7% de formas no clásicas, cifras muy similares a las encontradas recientemente por otros autores. Al año de realizar la dieta sin gluten, todo el grupo experimentó un aumento significativo del peso, lo que podría indicar que estos niños, a pesar de su escasa o nula sintomatología, parecerían beneficiarse clínicamente de la retirada del gluten de la dieta.

En todos los niños con EC potencial y con autoinmunidad celíaca se observó en el seguimiento una negativización mantenida de los anticuerpos, sin haber realizado cambios en su dieta. Esto ocurrió en el 52,6% del grupo de despistaje y en el 42,3% del total de la cohorte. El porcentaje de negativización de los autoanticuerpos de nuestro estudio es elevado y similar al descrito por Simell y cols en su estudio de despistaje en población de riesgo genético. En nuestra serie, los 11 niños que negativizaron los anticuerpos presentaron EMA positivos y 4 de ellos mostraban niveles de anti-TG2 superiores a 10 veces el límite de la normalidad. Es más, el valor de los EMA en 3 de los 5 niños con EC potencial fue igual o superior a 1/80. Estos resultados difieren de lo descrito en un estudio reciente de despistaje en población escolar, en el que todos los niños con cifras de anti-TG2 superiores a 10 veces el valor de referencia presentaron

lesión intestinal. Asimismo, está descrita la tendencia a la persistencia de los EMA cuando sus cifras son iguales o superiores a 1/80. Sin embargo, en nuestro estudio, los niveles de anticuerpos no nos permitieron identificar con seguridad a todos los niños con lesión intestinal. Por este motivo, y fundamentalmente en niños pequeños asintomáticos con riesgo genético, donde la inmunidad transitoria parece más marcada, podría esperarse la evolución de los anticuerpos con el fin de disminuir el número de biopsias negativas. Asimismo, los estudios de prevalencia, sobre todo los efectuados en edades tempranas, deberían basarse en la constatación de lesión en la biopsia intestinal para no sobreestimar los resultados. En nuestra cohorte, tras un seguimiento de 6 años, todos los niños con seronegativización espontánea siguen asintomáticos y con serología negativa.

El seguimiento de nuestra cohorte de niños que comparten la misma genética de predisposición para la EC, posibilita la valoración de posibles factores de riesgo para el desarrollo de la misma, ya que nos permite comparar a los pacientes celíacos con los que no lo son. En nuestro estudio observamos que el género femenino y la introducción del gluten tras la retirada de la lactancia materna aumentan el riesgo. El predominio del género femenino, que en nuestro caso llegó al 80%, se observa en la mayoría de los estudios, a excepción del efectuado por Mustalathi y cols. En nuestra serie, la frecuencia de la lactancia materna fue similar en casos y controles. La duración de la misma, aunque superior en los controles, no alcanzó el nivel de significación, en probable relación con el pequeño tamaño de la muestra. Sin embargo, los niños en los que se introdujo el gluten mientras se alimentaban con lactancia materna presentaron un menor riesgo de desarrollar la enfermedad. Este hecho, encontrado en estudios retrospectivos realizados en enfermos celíacos, no se ha observado en los dos estudios prospectivos efectuados en población de riesgo. En ellos no se encontraron diferencias

significativas en la duración de la lactancia materna y/o coincidencia de la misma con la introducción del gluten. No obstante, en ambos estudios encontramos importantes limitaciones; uno valora exclusivamente 8 niños, hermanos de celíacos, por lo que el pequeño tamaño de la muestra no permite extraer conclusiones, y en el otro se incluyeron, además de niños con HLA de riesgo de diabetes tipo 1 y EC, niños con un hermano, padre o madre con diabetes tipo 1, independientemente de su genotipo HLA.

En cuanto a las limitaciones de nuestro estudio, no fue posible la determinación del HLA DQ8 por lo que las cifras obtenidas estiman la mínima frecuencia de EC en la población estudiada. Sin embargo, pensamos que la inclusión de este haplotipo no habría modificado de forma sustancial los resultados finales, debido al pequeño porcentaje de celíacos que lo portan en nuestro país. Por otra parte, el escaso tamaño de la muestra, debido al elevado porcentaje de seronegativización en el grupo de despistaje, ha restado poder estadístico al estudio de los factores de riesgo, por lo que estos resultados deben ser tomados con cautela.

En conclusión, en nuestro estudio de seguimiento de una cohorte de niños HLA-DQ2 positiva, aproximadamente el 6% desarrollaron la EC. La mitad de los pacientes presentaron síntomas digestivos, una tercera parte eran clínicamente silentes y un pequeño porcentaje mostraba escasa ganancia ponderal sin síntomas digestivos. Cerca de la mitad de los niños con serología positiva experimentaron una desaparición espontánea de los anticuerpos que se mantiene tras 6 años de seguimiento. Las cifras elevadas de los anti-TG2 IgA y la positividad de los EMA no nos permitieron identificar con seguridad a todos los niños con lesión intestinal. El género femenino y la introducción del gluten tras la retirada de la lactancia materna se apuntan como factores de riesgo en el desarrollo de la EC en esta cohorte de riesgo.

SUMMARY

1-Introduction

Celiac disease (CD) is an immune-mediated systemic disorder elicited by gluten and related prolamines in genetically susceptible individuals and characterized by the presence of a variable combination of gluten-dependent clinical manifestations, CD-specific antibodies, HLA-DQ2 or HLA-DQ8 haplotypes, and enteropathy. A gluten-free diet leads to a prompt clinical improvement and the histological recovery of the damaged mucosa.

Screening programs within populations have contributed to the recognition of atypical and silent forms of the disease that can remain underdiagnosed. Untreated CD is linked to significant morbidity later in life such as osteoporosis, T-cell non-Hodgkin lymphoma, and possibly other autoimmune diseases. Most studies have estimate the prevalence of the disease in the general population, however studies assessing the prevalence of CD in populations selected by genetic susceptibility are scarce.

It is still unclear why CD develops in only a minority of genetically susceptible individuals, even though virtually all individuals in western populations are exposed to gluten. This together with the different and changing pattern of the disease indicate that other factors, besides gluten, may play a role. In the last years, several epidemiological studies, mostly carried out in unselected cohorts with regard to CD risk, have shown an association between CD and environmental factors such as viral or bacterial infection, the pattern of breastfeeding, the timing of gluten introduction into the diet, and mode of delivery, although these findings are still controversial.

2- Objective

The aim of the current study was to assess the prevalence and the spectrum of clinical presentation of CD in a cohort of children carrying HLA-DQ2 haplotype and to

evaluate environmental factors in the development of CD in this population.

3-Patients and methods

3.1 Participants

Between July 2004 and July 2005 the parents of all healthy term newborns in the maternity ward of our hospital were invited to participate in the study. Follow-up of all children at risk for CD (HLA-DQ2 positive) was performed. This study was approved by the Ethics Committee for Clinical Research Hospital. We excluded infants with major congenital malformations, those with insufficient blood sample that did not allow adequate extraction of DNA and those parents that did not consent to participate.

3.2 Study design

HLA genotyping was performed in the blood of the umbilical cord in order to create a cohort of newborns who can be followed prospectively over time. We studied two groups of children: the screening group, asymptomatic children called for serological study after 2 years of age, and the symptomatic group, children with symptoms of CD before the screening study started. Our hospital has a well defined catchment area with a Pediatric Gastroenterology Unit and no specialized pediatric private facilities.

In the screening group (asymptomatic children) with positive antibodies a blood sample was collected to confirm these results by serum anti-transglutaminase 2 antibodies (anti-TG2) and endomysial antibodies (EMA). Children with positive results were referred to the Pediatric Gastroenterology Unit for a complete clinical evaluation including a physical examination and a symptom questionnaire. Serological testing was repeated 3-4 months later. Children with high titers of autoantibodies, anti-TG2 ≥ 80 (>10-fold the upper normal value) and/or EMA $\geq 1:80$ underwent an intestinal biopsy. Children with lower titers were followed and serological levels were repeated at six month intervals. During the visit, a registration form was filled out containing: age

(months), gender, mode of delivery (vaginal or cesarean), breastfeeding (more than 15 days), breastfeeding duration (months), age of gluten introduction (months), family history of CD and daycare attendance.

In the symptomatic group, intestinal biopsy for the diagnosis of CD was made after assessing antibody levels and the presence of symptoms. The same clinical and demographic variables than in the screening group were included.

3.2.1 HLA-DQ Genotyping

HLA-DQA*05 and DQB1*02 genotyping was done by polymerase chain reaction amplification and sequence-specific primers (PCR/SSP) as previously described. The result was considered positive if both alleles were positive.

3.2.2 Autoantibody Assay

Anti-TG2 antibody detection (IgA/IgG/IgM) was performed from the whole blood at the point of contact using a rapid test kit (POC test). These results were confirmed by serum IgA anti-TG2 and IgA EMA determination. IgA anti-TG2 level was measured by an enzyme-linked immunosorbent assay method based on human recombinant antigen; values ≥ 8 were considered to be positive. IgA-EMA values were determined by a commercial indirect immunofluorescence assay with monkey esophagus as the substrate; a dilution $\geq 1:5$ was considered to be positive. The following laboratory values were also measured: total serum IgA, hemoglobin, glucose, total proteins, albumin, creatinine, ferritin and liver enzymes levels.

3.2.3 Celiac Disease Diagnosis

Symptoms and signs of CD included: Chronic or intermittent diarrhea, weight loss, abdominal distension, chronic abdominal pain, failure to thrive, chronic constipation, nausea or vomiting, irritability, iron-deficiency anemia and increased levels of liver enzymes.

Intestinal biopsy was performed by upper gastrointestinal endoscopy with specimens obtained from the bulb and descending duodenum. The small intestinal damage was graded according to the Marsh-Oberhuber classification. Children with grade II, IIIa, IIIb and IIIc were diagnosed with CD.

3.2.4 Risk factors study

We performed a case-referent study to assess: the role of gender, mode of delivery, family history of CD, daycare attendance center, breastfeeding, breastfeeding duration and age of gluten introduction in the development of CD in this population. The referent group consisted of all children of the at-risk cohort with negative CD antibodies.

3.3 Ethics and Statistics

The study protocol was approved by the Clinical Research Ethics Committee of Severo Ochoa Hospital (Leganés, Madrid). Written informed consent was obtained from the parents of each infant entering the study. Proportions were expressed as percentages and 95% confidence intervals (CI). Continuous variables, presented as mean \pm standard deviation, were compared between groups by using the *t* test. Differences in frequency of the independent variables between patients and referents were assessed by χ^2 with continuity correction. The odds ratio (OR) and 95% CI were calculated to estimate the strength of the association. SPSS version 14.0 (SPSS Inc.Chicago IL, USA) was used for the statistical analyses. All *p* values were two-sided and values less of .05 were considered statistically significant.

4-Results

4.1 HLA-typing and serological study

Between July 2004 and July 2005, 1716 children were born in our maternity ward. Parents of 1291 (75.2%) (620 females) agreed to participate in this prospective follow-

up. We were unable to contact parents of 13.1% of the eligible children, usually due to early hospital discharge. 11.7% of parents who were asked to participate refused the screening, mainly due to linguistic problems. Of the 1291 children who joined the study, 362 (28%, 95% CI 25%-30%) (44.5% females) carried the HLA-DQ2 haplotype. Of these 362 children, 262 (72.3%) participated in the serological screening; 255 were recruited between the ages of 2 and 3 (screening group) and 7 were referred from primary care pediatricians to our gastroenterology clinic with symptoms of CD and positive autoantibodies before the serological screening started (symptomatic group).

In the screening group, the POC test was positive in 20/255. Results were confirmed in 19 by serum determination of IgA anti-TG2 and IgA EMA antibodies. All 19 children tested positive to both antibodies (7.4%, 95% CI 4.0%-10.9%) (13 females) and were suspected of having CD. Taking into account 7 additional children who tested positive in the symptomatic group, 26 (9.9%, CI 95% 6.1%-13.7%) (18 females) were positive for IgA anti-TG2 and IgA EMA antibodies in the at-risk cohort (Table 4)

4.2 Small-bowel biopsy

An intestinal biopsy was performed on 20 children, 14 in the screening group and 6 in the symptomatic group. Among these, 15 (12 females: 80%) had intestinal biopsy confirmation of CD and 5 had a normal biopsy. CD was finally diagnosed in 15/262 of the HLA-DQ2 positive children (5.7%, CI 95% 2.7%-8.7%) or in 1/17. Considering the total population studied the incidence of CD was 1/86 children (1.1%). (Fig. 6)

4.3 Serological follow-up

During follow-up, 10 children in the screening group (52.6%), 5 with potential CD and 5 with celiac autoimmunity, and one child with celiac autoimmunity in the symptomatic group lost their autoantibodies. In total, 11 out of 26 (42.3%) became antibody negative (Table 5). After 6 years, children were still antibody negative under a normal diet. The

average time during which antibodies were lost was 14.5 months (4-22 months), 19.2 months in children with potential CD and 10.6 months in children with celiac autoimmunity.

4.4 Clinical features

In the total population of celiac children, 60% showed gastrointestinal symptoms, 7% weight loss or poor weight gain and 33% were asymptomatic. In the screening group, 56% were asymptomatic, 33% showed abdominal distension and 11% digestive symptoms (intermittent diarrhea). In the symptomatic group, 83% showed digestive symptoms (classical forms) and 17% weight loss without any other symptom (Table 6y7) (Fig. 7). No significant differences in weight (0.32 ± 0.63 vs -0.16 ± 0.66) and in height (-0.04 ± 1 vs -0.25 ± 0.63) were observed between the screening group and the symptomatic group.

All children were IgA sufficient and showed normal levels of liver enzymes. Iron deficiency was found in 10/26 children (38.5%), but only 5 (19.5%) showed iron deficiency anemia, 2 in the screening group and 3 in the symptomatic group.

4.5 Cases and referents study

The variables studied were compared between the celiac group (cases) and the cohort risk group with negative serology (referents). Complete data were obtained from 220 children of the control group. Comparisons of cases to referents showed a significantly higher frequency of girls and gluten introduction after breastfeeding was discontinued among cases (Table 8,9)

5- Discusión

Our study is the first carried out in Spain for the detection of CD in genetically susceptible population, therefore allowing for a significant reduction in the group under study. In our series, an initial risk cohort was created, performing HLA-DQ2 in the

blood of the umbilical cord with positive results in 28%. This result is similar to that found in literature and slightly superior to that described in our country, which is approximately 22%. In order to carry out the CD screening program, a rapid test kit (POC test) was chosen, which determines anti-TG2 IgA e IgG in capilar blood. These test have proved to be a valid diagnostic tool with over 95% sensitivity and specificity. In our study, after performing the serological screening and posterior confirmation by serum determination of both antibodies, 9.9% of children between 2 and 3 years old showed CD autoimmunity. Of these, 7.4% belonged to the screening group and the rest to the symptomatic group. The diagnostic age of our series contrasts with the findings of other authors, which did not show positive serology in children under 3 years of age. In our patients, the early appearance of antibodies could be due to the late, but not necessarily progressive introduction to gluten, a normal procedure at that time in our country. The final percentage of confirmed CD by intestinal biopsy was 5.7%. This was slightly higher than the previously published literature, although comparison with similar studies is difficult due to design differences. Our prevalence, applied to the total study population, is 1.1% (1/86) which is similar to the 1% of a wide multicenter European study and greater than that observed in children of 3 years old (1/118) in our country. Likewise, it is superior to that carried out by our group in school children (1/220).

In our series, over half the celiac patients showed gastrointestinal symptoms with or without iron-deficiency anaemia, 7% weight loss or poor weight gain but without any other gastrointestinal symptoms and a third were asymptomatic. If we consider the patients diagnosed by screening, over half were asymptomatic. Taking the CD clinical spectrum as an “iceberg”, we observe that 60% is the base (asymptomatic patients) and the visible part is formed by 33% of classic forms and 7%, nonclassic.

These figures are very similar to those recently found by other authors. After a year of gluten-free diet, all the group showed a significant weight increase, which could indicate that those children, despite their scarce symptomatology, seemed to clinically benefit from the gluten-free diet.

During the follow-up, all the children with potential CD and celiac autoimmunity lost their antibodies without having had any diet changes. This happened in 52.6% of the screened group and 42.3% of the total cohort. The percentage of negative antibodies in our study is high and similar to that described by Simell et al in their study of screening in a genetic risk population. In our series, the 11 children who showed negative antibodies had positive EMA and 4 of them had anti-TG2 levels ten times higher than the normal limit. Moreover, the EMA value in 3 of the 5 children with potential CD was $\geq 1/80$. These results differ from those described in a recent screening study in school children, where all the children with anti-TG2 ≥ 10 times the value reference showed intestinal lesion. Likewise, it is proven that there is a tendency to EMA to persist when their figures are equal or superior to 1/80. However, in our study, the antibody levels did not allow us to identify with absolute certainty all the children with small intestinal damage. For this reason, and basically in young asymptomatic, at-risk children, where there seems to be a more marked transitory immunity, time should be given to antibody evolution before carrying out biopsies in order to not overestimate the results. In the same way, the prevalence studies, especially those carried out at an early age, should be based on intestinal damage in the intestinal biopsy in order not to overestimate results. After a six year follow-up of our cohort, all the children that lost their antibodies continue being asymptomatic and with negative antibodies.

The follow-up of our cohort of children who share the same CD genetic background allows for the valuation of possible CD development risk factors, since it

enables us to compare the celiac patients with those who are not. In our study, we have observed that there is an increased risk in females and when gluten is introduced into the diet after breastfeeding has ceased.

The female predominance, which reaches 80% in our case, is seen in most of the studies except in that of Mustalathi et al. In our series, breastfeeding frequency was similar in both case and referent groups. The duration of breastfeeding, although superior in the referents, did not reach a significant level, probably due to the small sample size. However, those children who were given gluten while breastfeeding showed less risk of developing CD. This fact, found in retrospective studies carried out in celiac patients, has not been observed in the two prospective studies performed on the risk population. In these, no significant differences were found in the duration of breastfeeding and/or coincidence of the same when gluten was introduced.

Nevertheless, we found important limitations in both studies: in one, only 8 children, siblings of celiac patients, are studied and therefore making it impossible to draw conclusions due to the small sample number; and the other included, as well as HLA children with Type 1 Diabetes and CD risk, those who had a sibling or a parent with Type 1 Diabetes, without regard to their HLA genotype.

With reference to the limitations of our own study, we were not able to determine the HLA-DQ8 and therefore the figures obtained are an estimate of the minimum CD frequency in the population under study. However, we consider that the inclusion of this haplotype would not have substantially modified the final results, due to the low percentage of celiac patients who carry it in our country. On the other hand, the small sample size, due to the high percentage of negative serology in the screened group, has decreased the statistic power of the risk factor study. Therefore, these results should be treated with caution.

In conclusion, in our follow-up study of a cohort of HLA-DQ2 positive children, approximately 6% developed CD. Half of these showed digestive symptoms; a third were clinically asymptomatic and a small percentage had poor weight gain without digestive symptoms. Almost fifty percent of the children with positive serology underwent a spontaneous disappearance of the antibodies, which is still true after 6 years of follow-up. The high figures of anti-TG2 IgA and the EMA positivity did not allow us to identify with certainty all the children with intestinal lesions. Both the female gender and the introduction of gluten after ceasing breastfeeding are indicated as risk factors in CD development in this risk cohort.

I. INTRODUCCIÓN

1. RECUERDO HISTÓRICO

Existen numerosas referencias históricas sobre la enfermedad celíaca (EC) y ya en el siglo II A. de C., Aretaeus de Capadocia acuñó la palabra “Koliakos” (de la que deriva la actual celíaco) que significa “aquellos que sufren del intestino”¹. Pero no es hasta 1888 cuando Samuel Gee², un médico inglés, hizo la primera descripción clínica de la forma clásica de la enfermedad y recomendó para su tratamiento la reducción de las harinas de la dieta. Años después, Dicke³ relacionó la ingesta de trigo, cebada y centeno con el desarrollo de la EC y posteriormente, este autor⁴ y Anderson⁵ identificaron al gluten como el factor dañino de estos cereales. En 1954 Paulley⁶ objetivó atrofia intestinal en una pieza quirúrgica de un paciente celíaco y en 1957, gracias al dispositivo ideado por Crosby⁷ y modificado para su adaptación pediátrica por Watson, se generalizó la utilización de la cápsula para la realización de la biopsia intestinal, hecho clave en el diagnóstico de esta enfermedad.

En 1981 Unsworth⁸ identificó los anticuerpos antigliadina (AGA) en el suero de los enfermos celíacos. La determinación de estos marcadores serológicos permitió realizar el despistaje de la enfermedad antes de efectuar la biopsia intestinal, hecho importante en el diagnóstico, que hasta ese momento se realizaba exclusivamente por la sospecha clínica. En 1984 Chorzelsky⁹ describió los anticuerpos antiendomio (EMA) presentes en pacientes con Dermatitis Herpetiforme y EC. Estos anticuerpos, dirigidos contra un antígeno en aquel momento desconocido, y dotados de una sensibilidad y especificidad muy superiores a los de los AGA, revolucionaron el diagnóstico de la EC. En 1997 Dieterich¹⁰ describió la transglutaminasa tisular como el antígeno reconocido por los EMA. Se identificaron los anticuerpos anti-transglutaminasa tisular (anti-TG2), que unían a su elevada sensibilidad la posibilidad de ser determinados mediante una

técnica automatizada (enzimoinmunoanálisis) frente a la técnica manual (inmunofluorescencia) de los EMA, por lo que se constituyeron en el anticuerpo de elección en el diagnóstico de la EC.

En 1992 el patólogo Marsh¹¹ describió los estadios sucesivos de alteración de la estructura de la mucosa intestinal que el paciente celíaco va experimentando por la acción tóxica del gluten, lo cual permitió la clasificación del grado de lesión intestinal de manera unificada.

En 1989 Sollid¹² puso de manifiesto la base genética de esta enfermedad al describir su fuerte asociación con los antígenos de histocompatibilidad de clase II y, en concreto, con el HLA-DQ2 presente en las células presentadoras de antígeno.

Más recientemente, en el año 2002, Shan¹³ identificó un péptido de gliadina de 33 aminoácidos como el responsable de la respuesta inflamatoria que el gluten desencadena en el paciente celíaco.

2. CONCEPTO

La EC es un trastorno sistémico mediado inmunológicamente y desencadenado por el gluten y prolaminas relacionadas en individuos genéticamente susceptibles. Se caracteriza por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes del gluten, anticuerpos específicos, HLA-DQ2 y/o DQ8 y diferentes grados de enteropatía¹⁴. Los síntomas resultan del daño estructural de la mucosa del intestino delgado proximal que condiciona, finalmente, una malabsorción de nutrientes. Se trata de una enfermedad crónica en la que la instauración de una dieta exenta de gluten conduce a la desaparición de los síntomas y a la normalización de la mucosa intestinal¹⁵.

3. EPIDEMIOLOGÍA

3.1. Estudios de prevalencia

La aplicación de los nuevos test serológicos, de elevada sensibilidad y especificidad, ha posibilitado la realización de estudios epidemiológicos que han puesto de manifiesto la auténtica prevalencia de la enfermedad. Los primeros estudios de despistaje de la EC fueron realizados en población general infantil italiana. Catassi y cols.¹⁶ mostraron que la prevalencia global de la enfermedad era de 1:184 y que la mayoría de casos permanecían sin diagnosticar, ya que la relación de casos conocidos frente a casos descubiertos por despistaje era de 1:5-7¹⁷. Estos datos fueron corroborados posteriormente en diversos estudios en los que se observaron prevalencias en población escolar y preescolar de 1/99 en Finlandia¹⁸, 1/76 en Suecia¹⁹ y 1/86 en Hungría²⁰. En el momento actual, se estima que la EC está presente en 1% de la población general de Europa y Estados Unidos, con un rango de 0,5 a 1,26%²¹.

El estudio epidemiológico más amplio realizado hasta el momento se ha efectuado en cuatro países europeos y ha incluido una población total de 29.212 individuos, niños y adultos. Este estudio confirma la misma prevalencia, por lo que se trata, por tanto, de una de las enfermedades crónicas más comunes en Europa. Asimismo, se encuentran variaciones notables entre los países participantes, con una mayor frecuencia en Finlandia e Italia que en el Norte de Irlanda y Alemania²². En nuestro país se han llevado a cabo dos estudios de prevalencia de EC en población exclusivamente infantil, uno realizado en niños escolares entre 10 y 12 años y otro en niños de 3 años con prevalencias de 1:220²³ y 1:118²⁴ respectivamente. Los determinantes fundamentales para el desarrollo de la EC en una población concreta son la frecuencia de los alelos de riesgo y el patrón de consumo de gluten. La mayor prevalencia conocida a escala mundial la presenta la población saharauí de origen bereber, que alcanza el 5,6%. En esta población son frecuentes los alelos de riesgo, es muy elevada la consanguinidad y el gluten es un alimento básico²⁵. La difusión mundial de los hábitos dietéticos de los países occidentales, con un mayor consumo de gluten, está contribuyendo al aumento en el diagnóstico de la EC en sociedades, que como la china, han presentado tradicionalmente una baja frecuencia de esta enfermedad²⁶.

La epidemiología de la EC se conceptualiza por el modelo del iceberg²⁷. El número total de casos de EC es el tamaño del iceberg. Los casos de EC clásica se diagnostican clínicamente y constituyen su parte visible, expresada por la incidencia de la enfermedad en términos cuantitativos. La parte sumergida estaría formada por los casos que permanecen sin diagnosticar porque los síntomas son atípicos, muy leves o incluso ausentes. Esta parte sumergida es la que ha sido puesta al descubierto por los

estudios de despistaje poblacional. En el momento actual se considera que la mejor estrategia para mejorar el diagnóstico de esta enfermedad es la búsqueda activa de casos en los grupos de riesgo.

3.2. Estudios de incidencia

Frente a la abundante literatura sobre prevalencia de la EC, son escasos los estudios realizados para conocer la incidencia de esta enfermedad. Un registro prospectivo de carácter nacional efectuado en Holanda mostró una incidencia de 0,86:1000 recién nacidos vivos²⁸. En nuestro país, estudios de carácter retrospectivo en la década de los 80 y comienzos de los 90 mostraban tasas de incidencia cruda de 0,22-0,85 por cada 1000 recién nacidos vivos^{29,30}. Sin embargo, en un estudio reciente prospectivo, multicéntrico y de ámbito nacional de registro de nuevos casos de EC en España (en prensa), se ha encontrado una incidencia de EC de casi 8 por cada 1000 recién nacidos vivos, cifras muy superiores a las observadas en nuestro medio en épocas pasadas y superiores, asimismo, a las encontradas en el estudio holandés. Por tanto, en España, la incidencia actual de la EC es muy elevada y se evidencia un aumento significativo en el número de diagnósticos en los últimos años.

3.3. Estudios en población de riesgo genético

Son, asimismo, escasos los estudios de incidencia y prevalencia de EC efectuados sobre población previamente seleccionada en función del riesgo genético. Hoffenberg y cols³¹ realizaron el seguimiento de una cohorte de 987 niños con HLA-DQ2 de riesgo de EC determinado en sangre de cordón umbilical dentro de un estudio de detección precoz de diabetes mellitus tipo 1. Efectuaron controles seriados de anti-TG2 desde los 9 meses de

edad. De los 40 niños con serología positiva, al menos en alguna ocasión, 19 (13 niñas) tuvieron evidencia de EC, 10 casos confirmados por biopsia intestinal con lesión grado 2 o 3 de Marsh y 9 por serología persistente. Se trata de una estimación de la mínima incidencia de EC, puesto que en un seguimiento más prolongado podrían aparecer nuevos casos y porque no estudian a los niños portadores del HLA-DQ8. A los 5 años el porcentaje acumulado de celíacos en esta cohorte de riesgo se situó entre el 3,2-3,5%.

El estudio más reciente es el realizado por Bjöck y cols.³². Tras determinar los HLA-DQ2 y DQ8 en sangre de cordón, efectuaron un seguimiento de 1620 niños con HLA de riesgo y 1815 controles. El estudio serológico se realizó en torno a los 3 años de edad. Se constató la EC por biopsia intestinal en el 3,5% y, si a esta cifra se suman los 23 niños previamente diagnosticados de EC pertenecientes a esta cohorte, la incidencia ascendió a 4,08%, con una relación de casos diagnosticados clínicamente frente a casos detectados por despistaje de 1:2,4. Ningún niño sin riesgo genético presentó anticuerpos positivos. Sin embargo, 21% de los niños con anti-TG2 persistentemente positivos tuvieron una mucosa intestinal normal. En el estudio de despistaje en individuos de riesgo de Simell y cols³³ la cifra de niños con anti-TG2 positivos que se negativizaron en el seguimiento ascendió al 45%. Estas elevadas cifras de seronegativización tienen importantes implicaciones en relación con el uso de estos anticuerpos como único elemento diagnóstico en estudios de cribado, sin constatar la lesión intestinal, al menos en niños pequeños con escasa o nula sintomatología.

3.4. Estudios sobre factores ambientales de riesgo en el desarrollo de la EC

En los últimos años ha cobrado especial interés la posible influencia de diversos factores ambientales en el desarrollo de la EC.

3.4.1. Lactancia materna

Aunque el papel protector de la lactancia materna en el desarrollo de la EC había sido propuesto con anterioridad, el estudio de Ivarson y cols³⁴ vuelve a impulsar las investigaciones en este campo. Estos autores observaron que, durante los años 80, Suecia sufrió una incidencia anual de EC 4 veces superior a la esperada en niños menores de 2 años. Este patrón epidémico se relacionó con una menor duración de la lactancia materna, un retraso en la introducción del gluten en la dieta y una mayor cantidad de gluten en el momento de la introducción³⁵. Una revisión sistemática y meta-análisis³⁶ ha valorado todos los estudios epidemiológicos observacionales que han estudiado el efecto de la lactancia materna en el desarrollo de la EC. Se concluye que los niños que están siendo lactados en el momento de la introducción del gluten tienen una reducción del riesgo de desarrollarla de un 52%. Sin embargo, en la literatura analizada no está claro si la lactancia materna proporciona una protección permanente frente a la EC o si lo observado es un retraso en el comienzo de los síntomas.

3.4.2. Edad de introducción del gluten

La evidencia epidemiológica más firme al respecto procede de un estudio observacional en niños de riesgo genético de desarrollar la EC³⁷. Este estudio demostró que los niños expuestos al gluten durante los primeros 3 meses de vida y a partir de los 7 meses tienen un riesgo 5 y 1,87 veces mayor, respectivamente, que cuando se introduce entre los 4 y 6 meses. En relación con estos resultados la ESPGHAN³⁸ (Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica) recomienda, como medida de prevención de la EC, la introducción gradual del gluten entre los 4 y los 7 meses de vida mientras que el niño está con lactancia materna.

3.4.3. Papel de las infecciones

El desarrollo de la EC se ha relacionado con exposición a infecciones en el periodo neonatal y con infecciones por adenovirus tipo 12, VHC y rotavirus. Estas infecciones podrían modificar la respuesta inmune frente al gluten, aunque no hay datos concluyentes en el momento actual³⁹. Un estudio epidemiológico reciente no ha encontrado ninguna asociación entre el número de infecciones de cualquier tipo o, específicamente de gastroenteritis, que el niño ha presentado durante el primer año de vida o en el momento de la introducción del gluten, y el desarrollo de la EC⁴⁰.

3.4.4. Tipo de parto

Los niños nacidos por cesárea presentan una menor concentración de bifidobacterias y un menor número total de bacterias en el intestino que los niños nacidos por parto vaginal, siendo estas diferencias prolongadas en el tiempo. Por otra parte, los niños de parto por cesárea desarrollan una respuesta humoral mayor, en probable relación con una mayor exposición a antígenos a través de una barrera intestinal más vulnerable⁴¹. En un estudio retrospectivo, multicéntrico, de casos y controles se observó que el parto por cesárea confería un riesgo 1,8 veces mayor de EC⁴², pero estos resultados deben ser confirmados por estudios más amplios.

4. PATOGENIA

Tomando como base las investigaciones realizadas en los últimos años, podemos establecer que la EC es un modelo de enfermedad inmunológica compleja, resultado de la interacción de factores genéticos poligénicos y factores ambientales, que tiene como órgano diana la mucosa del intestino delgado.

4.1. Proteínas tóxicas de los cereales

El principal factor desencadenante de la enfermedad es la ingesta de gluten de trigo que contiene dos familias de proteínas, las gliadinas y gluteninas, que reciben el nombre genérico de prolaminas por su alto contenido en prolina (20%) y glutamina (38%)^{43,44}. Estas proteínas contienen fragmentos de aminoácidos tóxicos para el paciente celíaco. Dichos fragmentos están también presentes en las proteínas del centeno (secalinas), cebada (hordeínas) y avena (aveninas). La cantidad de prolaminas de estos cereales oscila entre el 30-69%, excepto en la avena que es del 16%.

4.2. Factores genéticos

La EC está fuertemente asociada a los genes HLA de clase II localizados en la región HLA-DQ del cromosoma 6p21¹². Más del 90% de los pacientes expresan el haplotipo HLA-DQ2.5 codificado por los alelos DQA1*05 y DQB1*02, tanto en posición cis, asociados al DR3 (más frecuente en el centro y norte de Europa) como en posición trans en heterocigotos DR5,DQ7/DR7,DQ2 (más frecuente en los países de la cuenca mediterránea). El resto presenta el haplotipo HLA-DQ8, codificado por los alelos DQA1*03 y DQB1*0302, en cis y asociado al DR4⁴⁵ (Fig. 1). Los pacientes que no presentan el DQ2 ni el DQ8 suelen portar uno de los alelos que componen el HLA-DQ2, siendo extremadamente raro que el paciente celíaco no presente ningún alelo de

riesgo^{46,47}. Entre los individuos portadores del HLA-DQ2, aquellos que poseen una doble dosis de DQB1*02 parecen tener un mayor riesgo de desarrollar la EC^{48,49}.

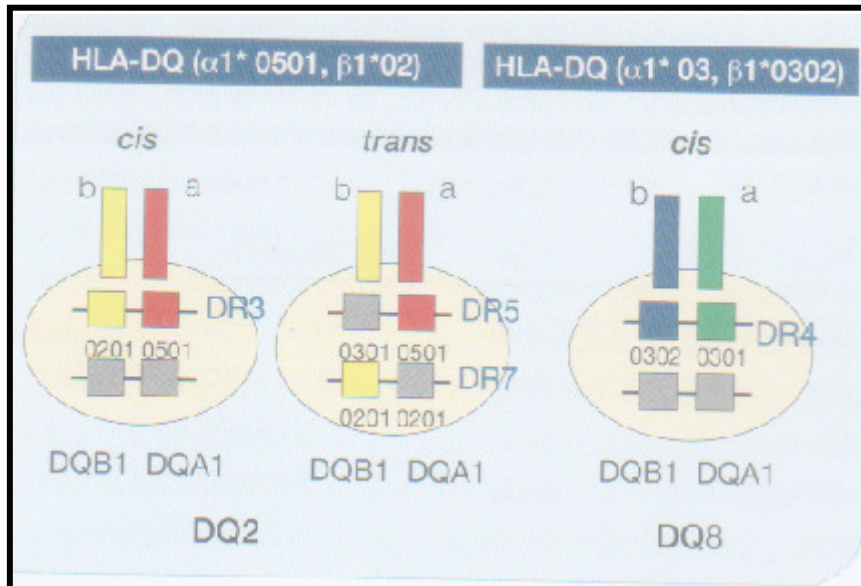


Fig. 1 Alelos de la molécula HLA DQ2 y DQ8.

Tomado de: Eduardo Arranz. *Inmunopatogenia de la enfermedad celiaca. Formas de presentación. Tratamiento y alternativas terapéuticas.* Eduardo Arranz y Carme Farré editores. *Enfermedad Celiaca. Ergon 2008.*

Se estima que los genes HLA son responsables del 36-53% del riesgo genético para la EC⁵⁰. La concordancia de la enfermedad en aproximadamente el 30% de hermanos con HLA idéntico hace pensar que existen genes no HLA⁵¹ que influyen en el desarrollo de la enfermedad y que aportan, cada uno de ellos, un pequeño efecto⁵².

En nuestro país, los estudios de frecuencia de los HLA de riesgo muestran que la mayoría portan el HLA-DQ2 frente al 20-30% de la población general. Sin embargo, la prevalencia del HLA-DQ8 es muy baja y, dependiendo de las series, oscila entre un 0% al 0,75% frente al 14% de la población general^{53,54}.

En un estudio reciente se demuestra el papel de los genes HLA en la bien conocida predominancia de la EC en el género femenino. La presencia de las moléculas HLA-DQ2 o DQ8 es un factor de riesgo más importante en mujeres que en varones, observándose un exceso de estos últimos entre los pacientes que no portan ninguno de los alelos de riesgo. Por otra parte, es el haplotipo DQ2 heredado del padre el que confiere esta predominancia a las hijas⁵⁵.

4.3. Inmunopatogenia

El modelo etiopatogénico más aceptado incluye la activación secuencial y la superposición de las respuestas inmunitarias innata y adaptativa, que conducen a la inflamación de la mucosa intestinal y a la atrofia de las vellosidades intestinales. Debido a su alto contenido en prolina, el gluten es bastante resistente a la digestión por las enzimas gastrointestinales, lo que hace posible que determinados péptidos no digeridos atraviesen la mucosa intestinal^{56,57}. Se han identificado dos tipos de péptidos: *tóxicos*, residuos p31-43/49 de la α -gliadina, que son responsables de la respuesta inflamatoria innata y tienen una acción directa sobre el epitelio que es independiente de los linfocitos T^{58,59} e *inmunogénicos*, como los residuos 57-89 (33mer) de la α -gliadina, que son responsables de la respuesta inflamatoria adaptativa, y estimulan los linfocitos T de los pacientes celíacos con restricción DQ2/DQ8^{13,60,61,62,63}. Estos péptidos van a ser

posteriormente transportados a través del epitelio mediante un proceso de transcitosis cuyo mecanismo no está aún bien aclarado⁶⁴.

4.3.1. Activación de la inmunidad innata

Los péptidos tóxicos pueden dañar directamente el epitelio intestinal al activar los mecanismos de la inmunidad innata, dando lugar a la producción de IL15, tanto en la lámina propia como en el epitelio. A su vez, la IL15 causa una expresión aberrante de las moléculas MICA en los enterocitos y un aumento de la expresión NKG2D en los linfocitos intraepiteliales; estos conducirán a la destrucción de los enterocitos que expresan las moléculas MICA^{59, 65, 66}. Todos estos procesos favorecen la entrada de los péptidos inmunogénicos a la lámina propia y el inicio de la respuesta adaptativa.

4.3.2. Activación de la inmunidad adaptativa

Los péptidos inmunógenos son deaminados por la TG2 que se expresa en el borde en cepillo y en la región subepitelial. Este proceso de deaminación hace que estos péptidos se carguen negativamente, por la conversión de glutamina en ácido glutámico, proceso que aumenta su afinidad por las moléculas DQ2 y DQ8 de las células dendríticas presentadoras de antígeno. Este es el mecanismo indispensable para que los linfocitos T CD4⁺ específicos de la lámina propia les reconozcan y se activen, dando lugar a una respuesta inflamatoria de tipo Th1^{67,68}. Esta respuesta se caracteriza fundamentalmente por la producción de IFN- γ , que induce la liberación y activación de metaloproteasas y miofibroblastos que darán lugar a la lesión de la mucosa intestinal. Los LT CD4⁺ también aumentan la citotoxicidad de los linfocitos intraepiteliales (LIE) y de los LT natural killer (NK) dando lugar a la apoptosis de los enterocitos. El aumento de la

permeabilidad intestinal que induce el gluten puede ser consecuencia del incremento en la expresión de la zonulina ⁶⁹ o un fenómeno causado por el IFN- γ ⁷⁰.

La respuesta adaptativa humoral parece tener una contribución directa menor en la patogenia de la EC. Los LT CD4⁺ reactivos al gluten, a través de la producción de citocinas Th2, dan lugar a la activación y expansión clonal de los linfocitos B. Estos se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos frente al gluten y la transglutaminasa, contribuyendo al daño intestinal ⁷¹ (Fig.2).

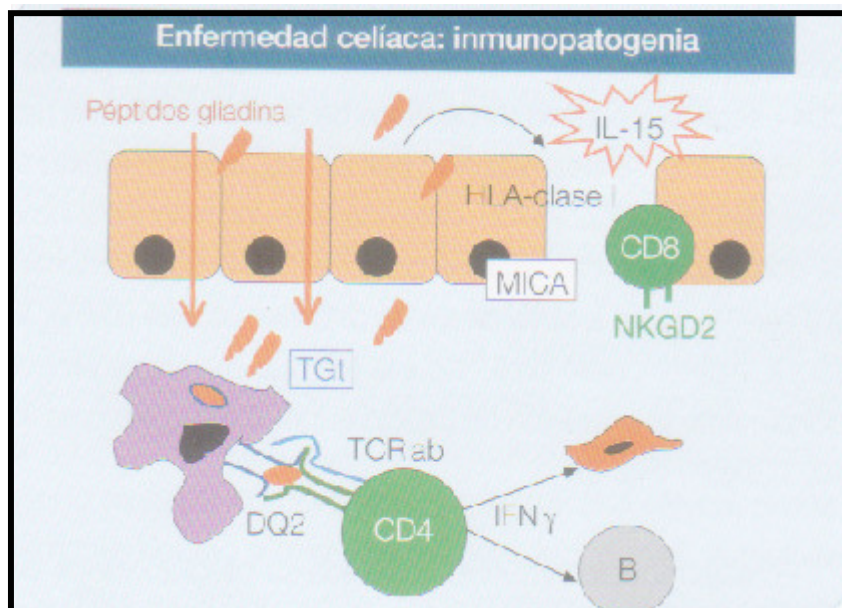


Fig. 2. Activación de inmunidad innata y adaptativa mediada por los péptidos tóxicos e inmunógenos.

Tomado de: Eduardo Arranz. *Inmunopatogenia de la enfermedad celíaca. Formas de presentación. Tratamiento y alternativas terapéuticas.* Eduardo Arranz y Carme Farré editores. *Enfermedad Celíaca. Ergon 2008.*

5. SINTOMAS Y SIGNOS CLÍNICOS

5.1. Manifestaciones clínicas

La expresión de la sensibilidad al gluten se caracteriza por una gran heterogenicidad desde el punto de vista clínico e histopatológico. Tradicionalmente las diferentes formas de presentación de la EC se han clasificado en: clásica, atípica, silente, latente y potencial⁷². En los últimos años se ha asistido a un cambio notable en los síntomas de presentación de la EC^{73,74}. El cuadro clásico de malabsorción es cada vez menos frecuente, mientras se observa un incremento de las manifestaciones atípicas y un aumento en la edad de diagnóstico^{75, 76,77, 78, 79}.

Por este motivo, la ESPGHAN¹⁴ ha efectuado recientemente un cambio en la nomenclatura de las dos primeras formas (clásica y atípica), dejando las definiciones como sigue:

- EC con síntomas y signos gastrointestinales: Diarrea crónica o intermitente, estreñimiento crónico, dolor abdominal, flatulencia, náuseas, vómitos, distensión abdominal.

- EC con síntomas y signos extraintestinales: Fallo de medro, talla baja, retraso en la pubertad, anemia crónica, osteopenia/osteoporosis, defectos del esmalte dentario, irritabilidad, fatiga crónica, neuropatía, artritis/artralgia, amenorrea, elevación de las enzimas hepáticas, dermatitis herpetiforme.

- EC silente: Se caracteriza por la presencia de anticuerpos específicos, haplotipo HLA característico y lesión histológica del intestino delgado compatible con EC. Sin embargo, los pacientes carecen de síntomas y signos que hagan sospechar la enfermedad.

- EC latente: Se caracteriza por la presencia de HLA de riesgo pero sin enteropatía en un paciente que la ha presentado en otro momento de su vida. Puede tener o no síntomas o anticuerpos específicos.

- EC potencial: Se caracteriza por la presencia de anticuerpos específicos y haplotipo HLA compatible pero sin alteraciones histológicas en la biopsia intestinal. Los pacientes pueden tener o no signos o síntomas y pueden o no desarrollar la EC con el tiempo.

Recientemente, un grupo de expertos a nivel internacional, motivados por la falta de unanimidad en las definiciones de la EC, las han revisado y han emitido un documento de consenso con el fin de clarificarlas y crear un lenguaje común⁸⁰. En este documento vuelven a definir la *EC clásica* como la que presenta síntomas y signos de malabsorción intestinal y la *EC no clásica* como aquella que no los presenta. Mantienen la definición de *EC potencial* y se desaconseja el uso del termino *EC latente* para evitar confusiones, dada la semejanza con la definición de EC potencial. Denominan *EC asintomática* la que no presenta síntomas ni signos relacionados con la enfermedad y *EC subclínica* como la que se manifiesta con síntomas menores o alteraciones en los datos analíticos. Incluyen una nueva definición como es la *Autoinmunidad celíaca* caracterizada por la positividad de los anti-TG2 o EMA al menos en dos ocasiones, cuando aún no se sabe si

el paciente presenta lesión intestinal. La situación en la que los anticuerpos sólo se han determinado en una ocasión se define como anti-Tg2 o EMA positivos exclusivamente.

5.2. Grupos de riesgo

Están constituidos por dos grupos de individuos, los familiares de primer grado y los pacientes afectos de las llamadas enfermedades asociadas a la EC¹⁴. En todos ellos la EC es más frecuente de lo esperado en la población general porque comparten una base genética común. Los celíacos que forman parte de los grupos de riesgo suelen presentar síntomas leves o formas de EC asintomática, por lo que el diagnóstico va a depender de una búsqueda activa de la enfermedad en estos individuos. Las enfermedades asociadas se pueden desarrollar en la evolución de la EC, pero es más frecuente que el diagnóstico de EC se realice en el seguimiento de estas patologías.

5.3. Enfermedades asociadas

La frecuencia de EC es variable en cada una de las enfermedades: diabetes mellitus tipo 1 (3–12%), síndrome de Down (5,5%), enfermedad tiroidea autoinmune (3%), síndrome de Turner (6,5%), síndrome de Williams (9,5 %), déficit de IgA (3%), enfermedad hepática autoinmune (13,5%), artritis crónica juvenil (1,5-2,5%) y nefropatía IgA (4%)¹⁴.

5.4. Familiares de primer grado

La frecuencia de EC en este grupo oscila, según las series, entre el 10-20%.

6. DIAGNÓSTICO

Ante la sospecha clínica de EC las herramientas diagnósticas que deben utilizarse son: estudio serológico, histológico y genético. Es fundamental que el paciente esté realizando una dieta normal, puesto que el efecto de la dieta sin gluten sobre la serología e histología es impredecible.

6.1. Estudio serológico

En el suero de los enfermos celíacos se detectan dos tipos de anticuerpos. Unos están dirigidos contra un antígeno alimentario, la gliadina, como son los AGA y los anticuerpos frente a los péptidos deaminados de la gliadina (anti-PDG), y otros frente a la transglutaminasa tisular tipo 2, como son los EMA y anti-TG2. Dada la elevada precisión diagnóstica de algunos de estos anticuerpos, su determinación debe ser la primera herramienta en el estudio de un paciente con sospecha de EC.

El estudio serológico permite identificar a los niños a los que debe realizarse biopsia intestinal, efectuar el seguimiento de los que pertenecen a los grupos de riesgo, facilitar el diagnóstico diferencial, controlar la adherencia a la dieta y llevar a cabo estudios epidemiológicos.

Los anticuerpos utilizados deben ser validados frente al estudio serológico de referencia, los EMA, o la histología. El laboratorio debe informar el valor numérico de los anticuerpos, especificar qué tipo de inmunoglobulina se está midiendo y el valor considerado como el límite alto de la normalidad.

Es importante la cuantificación de la inmunoglobulina A sérica total (IgA), puesto que los anticuerpos más eficaces, y habitualmente utilizados en la detección de esta enfermedad, determinan el isotipo IgA. Si el paciente presenta niveles bajos de esta inmunoglobulina (IgA menor de 20 mg/dl) se realizará la determinación de estos mismos anticuerpos pero de clase IgG^{81,82}.

6.1.1. Anticuerpos antigliadina

Son anticuerpos de clase IgA e IgG, se determinan mediante enzimo-inmunoanálisis (ELISA) y están dirigidos contra determinantes antigénicos de la alfa-gliadina⁸³. Su presencia indica sensibilización al gluten pero no necesariamente lesión intestinal. Estos anticuerpos tienen numerosas limitaciones, ya que son poco sensibles para la detección de pacientes con EC subclínica o asintomática, como los que pertenecen a los grupos de riesgo⁸⁴. Por el contrario, pueden ser positivos en otras enfermedades que cursan con aumento de la permeabilidad intestinal como la enfermedad de Crohn, intolerancias alimentarias, síndromes postenteritis e incluso en sujetos sanos, sobre todo el tipo IgG. Todo ello hace que su sensibilidad y especificidad sean bajas⁸⁵, por lo que en la actualidad no se recomiendan, salvo en niños menores de 2 años en los que parecen ser más sensibles que los EMA y anti-TG2⁸⁶. Sin embargo, incluso en niños pequeños, su sensibilidad es baja, por lo que debe realizarse estudio histológico si presentan una fuerte sospecha clínica aunque los anticuerpos sean negativos^{87,88}.

6.1.2. Anticuerpos antiendomiso

Son anticuerpos frente a la proteína del endomiso, que es el tejido amorfo que rodea las fibras musculares lisas. En realidad son anticuerpos frente a la transglutaminasa extracelular por lo que miden lo mismo que los anti-TG2⁸⁹. Se determinan mediante

inmunofluorescencia indirecta, pudiéndose observar un patrón reticular de fluorescencia a nivel de la muscularis mucosae, si se utiliza como substrato esófago de mono, o en el músculo liso perivascular y fibrilar, en la gelatina de Wharton del cordón umbilical⁹⁰. Los EMA de tipo IgA muestran una elevada especificidad, por lo que se consideran los mejores anticuerpos para la confirmación de la EC^{85,91}. Su presencia guarda relación con la existencia de lesión de la mucosa intestinal. El mayor inconveniente de estos anticuerpos es técnico, puesto que la inmunofluorescencia indirecta es laboriosa, requiere interpretación visual del observador y es, por tanto, subjetiva y necesita de un entrenamiento especial y experiencia. Todo esto condiciona un grado de variación interobservador mayor que con otras técnicas automatizadas.

6.1.3. Anticuerpos antitransglutaminasa

Son anticuerpos dirigidos contra la transglutaminasa tisular o transglutaminasa 2, que ha sido identificada como el principal antígeno de los EMA, con los que presentan una excelente correlación. Se determinan mediante ELISA detectándose anticuerpos de tipo IgA e IgG frente a la transglutaminasa recombinante humana. Los de tipo IgA, debido a su excelente sensibilidad y determinación mediante técnica automatizada, se consideran los anticuerpos de elección en el despistaje de la EC^{14,85,91}. Hay que tener en cuenta que pueden encontrarse valores en rango bajo de estos anticuerpos en otras enfermedades no relacionadas con la EC, como procesos autoinmunes, infecciones, tumores, daño miocárdico, enfermedades hepáticas y psoriasis^{92,93,94}. Sin embargo, las elevadas concentraciones de anti-TG2, especialmente si exceden 10 veces el valor normal, son altamente predictivas de atrofia vellositaria^{95,96,97}.

6.1.4. Anticuerpos anti-péptido deaminado de gliadina

Han sido los últimos anticuerpos descritos y, por tanto, la experiencia con ellos es aún limitada. Son anticuerpos frente a péptidos sintéticos que se corresponden a secuencias de gliadina deaminada⁹⁸. Se determinan mediante ELISA y miden anticuerpos de tipo IgA e IgG. Tienen una sensibilidad y especificidad superiores a los AGA nativos^{99, 100}. Sin embargo, en un meta-análisis en el que sólo se valoraron los anti-PDG IgA no se demostró su superioridad sobre los anti-TG2 IgA¹⁰¹. El mayor aporte de los anti-PDG al diagnóstico de la EC es la determinación de los de tipo IgG que presentan una elevada especificidad, al tiempo que permiten diagnosticar pacientes con déficit de IgA y son válidos en niños menores de 2-3 años^{102,103,104}. Actualmente son considerados test adicionales para ser aplicados a niños con fuerte sospecha clínica de EC pero con anticuerpos negativos, sobre todo si son menores de 2 años¹⁴.

6.1.5. Test inmunocromatográficos de lectura rápida

Otra forma de determinar los anticuerpos de la EC es la utilización de los test inmunocromatográficos. Estos test se realizan en unas gotas de sangre capilar y detectan al mismo tiempo los isotipos IgA e IgG de los anti-TG2, para obviar el problema de los pacientes con déficit de IgA. Es un test semicuantitativo de gran eficacia diagnóstica, cuya sensibilidad y especificidad alcanza el 96,4% y 97,7% respectivamente^{105, 106, 107}. El problema es que la mayoría de los estudios efectuados se han realizado en poblaciones con elevada prevalencia de EC. Si se asume una prevalencia del 5% en niños sintomáticos, el valor predictivo positivo sería del 68,6% y el valor predictivo negativo del 99,8%¹⁰⁸. Aunque son de sencilla interpretación, la experiencia del operador del test tiene importancia en la fiabilidad de los resultados¹⁰⁷. Si son positivos deben siempre confirmarse mediante la determinación de anti-TG2 o EMA en suero.

Los test inmunocromatográficos estarían especialmente indicados en estudios epidemiológicos puesto que son muy sencillos y rápidos, tanto de interpretar como de realizar, y suponen una mínima molestia para el paciente.

Un amplio meta-análisis ha valorado recientemente la sensibilidad, especificidad, razón de verosimilitud (likelihood ratios: LR) y odds ratios diagnóstico (DOR) de los anticuerpos utilizados en el diagnóstico de la EC¹⁰⁸. El resumen de estos datos se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Sensibilidad y especificidad de los anticuerpos utilizados en el diagnóstico de enfermedad celiaca.

Test	Sensibilidad %	Especificidad %	LR+ %	LR- %	DOR
AGA IgA	60,9-96	79,4-93,8	3,6-15,518	0,04-0,44	11-366
AGA IgG	85 (42-100)*	80 (50-94)*			
EMA IgA	82,6-100	94,7-100	10,2-160	0,006-0,18	64-19397
Anti-TG2 IgA	73,9-100	77,8-100	4,3-16083	0,01-0,28	64-19397
Anti-TG2 IgG	12,6-99,3	86,3-100	4,6-21,2	0,007-0,88	5,9-2887
Anti-DPG IgA	80,7-95,1	86,3-93,1	6,9-12,7	0,06-0,21	56-93
Anti-DPG IgG	80,1-98,6	86-96,9	6,8-25,8	0,02-0,21	115-948
Anti-TG2 IgA POC	94,7-98,8	96,6-98,6	29,1-68,7	0,013-0,054	1008-2280

Modificado de Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, et al. *J. Pediatric Gastroenterol Nutr.* 2012; 54: 229-241.*Los datos de AGA IgG se han obtenido de Leffler DA, Shuppan D. *Am J Gastroenterol.* 2010; 105: 2520-2524

En contraste con la excelente eficacia de los test serológicos en el diagnóstico de la EC sintomática, en los estudios de despistaje poblacional realizados en individuos mayoritariamente asintomáticos, el valor predictivo positivo de dichos test es sólo del 70% al 83%¹⁰⁹. Para intentar resolver este problema, y así disminuir en lo posible el número de biopsias intestinales normales en este tipo de estudios, se aconseja repetir los test positivos con un intervalo de algunos meses, confirmar la positividad de los anti-TG2 con la de los EMA y requerir un punto de corte de los anti-TG2 superior que en los casos de EC sintomática¹¹⁰.

6.2. Estudio histológico

El estudio histológico se realiza mediante cápsula de succión o por endoscopia, siendo ésta última la preferida en el momento actual. Aunque la biopsia obtenida por cápsula es de mejor calidad, la endoscópica presenta numerosas ventajas. Permite acortar el tiempo de la prueba y el paciente no se ve sometido a radiación. Pueden tomarse múltiples biopsias, dado que las lesiones pueden tener una distribución parcheada y, ocasionalmente, limitarse al bulbo duodenal^{111,112,113,114,115}. La visión directa permite observar algunos patrones endoscópicos relacionados con la EC como pliegues dentados “scalloping”, patrón en mosaico y disminución de los pliegues duodenales, aunque estas alteraciones parecen relacionarse sólo con grados graves de lesión histológica^{116,117}.

Los expertos recomiendan tomar al menos una biopsia del bulbo duodenal y al menos 4 de la segunda o tercera porción del duodeno¹⁴. Marsh¹¹ describió el patrón de la lesión histológica del paciente celíaco, que se inicia con un aumento del infiltrado linfocitario en el epitelio y que evoluciona a grados variables de atrofia de las

vellosidades intestinales. Estos cambios no son patognomónicos de la EC, ya que pueden encontrarse en otras patologías como hipersensibilidad a las proteínas de la leche de vaca o soja, diarrea intratable de la infancia, infestación por *Giardia lamblia*, inmunodeficiencias, sprue tropical y sobrecrecimiento bacteriano.

Los tipos de la clasificación de Marsh, posteriormente modificados por Oberhuber¹¹⁸ para una mejor adaptación a la práctica clínica son (Fig. 3):

- Tipo 0 (lesión preinfiltrativa): Mucosa con morfología normal.
- Tipo 1 (lesión infiltrativa): Mucosa con arquitectura normal pero con infiltrado de LIE superior a 25 por cada 100 enterocitos.
- Tipo 2 (lesión hiperplásica): Mucosa con aumento de los LIE y con criptas alargadas o hiperplásicas por aumento del número de células en mitosis, pero con altura normal de las vellosidades.
- Tipo 3 (lesión destructiva): Se caracteriza por todo lo anterior y atrofia de las vellosidades con reestructuración del tejido de la mucosa intestinal. La modificación de Oberhuber subclasificó este tipo en 3 grados: atrofia parcial (3 a), subtotal (3 b) o total (3 c).

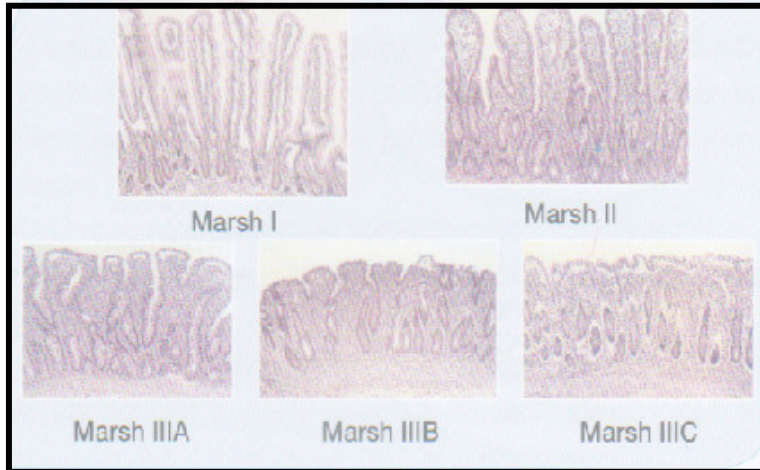


Fig. 3 Grado de lesión histológica en la biopsia intestinal

Tomado de: *Carme Farré. Enfermedad Celiaca. Eduardo Arranz y Carme Farré editores. Enfermedad Celiaca. Ergon 2008.*

Se considera lesión compatible con EC los tipos 2-3 de la clasificación de Marsh.¹⁴ La lesión leve, tipo 1, no es específica y puede presentarse en otras patologías diferentes de la EC. Sólo un 10% de los individuos que presentan esta lesión terminan desarrollando la enfermedad^{119, 120}.

El estudio histológico no sólo permite identificar el grado de lesión, sino también realizar el estudio inmunohistoquímico. Mediante citometría de flujo se pueden cuantificar los LIE y los subtipos TCR $\gamma\delta$ y CD3-/CD7+ o LIEs NK-like que muestran un patrón característico, con aumento de los primeros y disminución de los segundos.¹²¹ Estas poblaciones linfocitarias son útiles en el diagnóstico de pacientes dudosos con sospecha de EC pero sin lesión de las vellosidades intestinales.

6.3. Estudio genético

La determinación del HLA de riesgo en el diagnóstico de la EC presenta una elevada sensibilidad, que se cifra en un 91% si se considera el HLA-DQ2, y que asciende a un 96% cuando se incluye el HLA-DQ8¹⁴. Es muy pequeño el número de pacientes celíacos sin HLA conocido de riesgo¹²². Sin embargo, la especificidad es baja, en torno al 74% para el HLA-DQ2, 80% para el HLA-DQ8 y 54% para la combinación de ambos¹²³. Por tanto, el valor principal del estudio genético es la exclusión de la enfermedad, sobre todo en los individuos que pertenecen a los grupos de riesgo. También es útil en casos de diagnóstico dudoso, como ocurre en niños con cuadro clínico compatible, serología negativa y cambios inflamatorios leves de la mucosa intestinal.

6.4. Evolución de los criterios diagnósticos

En 1969 los miembros de la ESPGHAN establecieron los primeros criterios diagnósticos de EC en Interlaken¹²⁴. En ellos se indicaba la necesidad de realizar tres biopsias intestinales: una al diagnóstico, para evidenciar atrofia intestinal mientras el paciente ingería una dieta normal, una segunda biopsia para valorar la normalidad de la mucosa tras un tiempo sin gluten y la última, tras la prueba de provocación con gluten, para observar si se producía de nuevo el deterioro de la arquitectura vellositaria.

En 1990 la ESPGHAN¹²⁵, basándose en los datos de la literatura y en la práctica clínica de sus miembros, reconsideró los criterios iniciales estableciendo unos nuevos que exigían: 1. Una primera biopsia intestinal que demostrase la lesión de las vellosidades intestinales, absolutamente necesaria para el diagnóstico. 2. La

desaparición de los síntomas y signos clínicos tras una dieta sin gluten. 3. La negativización de los marcadores serológicos tras la exclusión del gluten de la dieta.

Estos nuevos criterios suprimían la necesidad de la provocación o reintroducción del gluten en la dieta del paciente y, por tanto, la realización de nuevas biopsias para la confirmación definitiva del diagnóstico. La provocación con gluten quedaba reservada para pacientes que no cumplían claramente los criterios diagnósticos, como aquellos que tenían una biopsia intestinal inicial dudosa o individuos a los que se les había retirado el gluten de la dieta sin biopsia inicial, niños en los que el diagnóstico se había realizado en los 2 primeros años de vida y adolescentes que se autoprovoan.

En los últimos 20 años, la ESPGHAN no había renovado los criterios diagnósticos publicados en 1990. Sin embargo, durante este tiempo el conocimiento sobre la EC ha cambiado enormemente, con un avance importante de los métodos de diagnóstico serológico y un mayor conocimiento del espectro clínico de la enfermedad. Por este motivo, la ESPGHAN¹⁴ ha establecido unos nuevos criterios diagnósticos y los ha aplicado a dos grupos diferentes de individuos, pacientes con síntomas sugerentes de EC e individuos asintomáticos que pertenecen a los grupos de riesgo:

1) Pacientes con síntomas sugerentes de EC:

En estos pacientes se realizarán, en todos los casos y en primer lugar, los anti-TG2 IgA, si el paciente tiene una IgA normal, o de tipo IgG en pacientes con déficit de IgA.

- Si el resultado de la serología es negativo, la posibilidad de padecer la enfermedad es escasa y se deberían considerar otros diagnósticos. No obstante, habrá que tener en cuenta ciertas situaciones especiales que pueden condicionar

un falso negativo del estudio serológico como son: pacientes menores de 2 años, escasa ingesta de gluten, enteropatía pierde proteínas y tratamiento con inmunosupresores. En niños pequeños pueden utilizarse como test adicionales los anti-PDG IgA e IgG, y si son también negativos, pero existe una alta sospecha de la enfermedad, debe efectuarse una biopsia intestinal.

- Si el resultado de la serología es positivo se establecen dos posibilidades:
 - **El valor de los anti-TG2 es superior a 10 veces** el valor de referencia: Se realizará EMA y estudio genético. Si los EMA son positivos y el estudio genético compatible se podrá diagnosticar la enfermedad **sin necesidad de biopsia intestinal** y se comenzará una dieta exenta de gluten. Debe seguirse un protocolo de seguimiento estricto, para comprobar la desaparición de los síntomas y la negativización de los anticuerpos, y no será necesario realizar una prueba de provocación con gluten. Si los EMA o el estudio genético son negativos será preciso realizar biopsia intestinal para el diagnóstico.
 - **El valor de los anti-TG2 es inferior a 10 veces** el valor de referencia: Se realizará siempre biopsia intestinal de confirmación.
- En los casos en los que los síntomas sean graves, independientemente del resultado de la serología, se realizará biopsia intestinal y estudio de HLA-DQ2/DQ8. Si las biopsias intestinales son compatibles con la enfermedad pero el estudio genético es negativo, debe considerarse otras posibilidades diagnósticas.

2) Pacientes asintomáticos que pertenecen a los grupos de riesgo:

Como primera opción se realizará estudio genético. Si es negativo, la posibilidad de desarrollar la enfermedad es muy pequeña. Sin embargo, si la genética es compatible o no puede realizarse, se procederá a la determinación de los anti-TG2 y la IgA sérica total:

- Si los anti-TG2 son negativos y no existe déficit de IgA, el paciente debe realizar una dieta normal. Se efectuará seguimiento serológico cada 2-3 años ante la posibilidad de que la EC se desarrolle más tarde.
- Si los anti -TG2 son positivos y superiores a 3 veces el valor de referencia se realizará biopsia intestinal, salvo que existan síntomas y signos característicos de la enfermedad, en cuyo caso se seguirá el algoritmo de los pacientes sintomáticos.
- Si los anti -TG2 son positivos pero inferiores a 3 veces el valor de referencia se determinarán los EMA. Si estos son positivos, se realizará biopsia intestinal. Si son negativos y el paciente se mantiene asintomático, se efectuará seguimiento serológico cada 3-6 meses bajo dieta normal hasta que los anticuerpos se negativicen o asciendan a valores en los que está indicada la biopsia.

Por tanto, en los niños asintomáticos de los grupos de riesgo siempre se efectuará biopsia para comprobar el daño de la mucosa intestinal, ya que presentan con mayor frecuencia resultados falsos positivos de los anti-TG2¹²⁶.

7. TRATAMIENTO

El tratamiento de la EC consiste en eliminar los alimentos que contienen gluten de la dieta de manera estricta y de por vida, intentando mantener una alimentación sana y equilibrada, ajustada a las necesidades de cada paciente¹²⁷. La supresión del gluten logra la remisión completa de la clínica, la negativización de la serología y la normalización de la mucosa intestinal. La recuperación histológica completa no se produce de modo inmediato, en los niños puede tardar un año y en los adultos hasta más de dos.

La retirada del gluten de la dieta exige la eliminación completa del trigo, cebada, centeno y avena, siendo el primero una parte importante de la alimentación de los países occidentales. Por tanto, su cumplimiento no es fácil y va a depender de múltiples factores como la edad al diagnóstico, el conocimiento de la enfermedad por parte del enfermo y de su entorno, la facilidad de acceso a los productos sin gluten, la gravedad de los síntomas cuando se realizan transgresiones y a factores económico^{128, 129}. Por otra parte, la contaminación de los productos sin gluten no puede ser evitada completamente. El Codex Alimentario Internacional permite un contenido máximo de 20 ppm (equivalente a 6 mg o 20 mg de gluten/kg) en alimentos naturalmente exentos de gluten y de 200 ppm (equivalente a 60 mg o 200 mg de gluten/kg) en los elaborados con almidón de trigo¹³⁰. No se conoce la cantidad máxima de gluten que el celíaco puede ingerir de forma segura. Algún estudio parece indicar que la ingesta diaria de 50 mg da lugar a lesión intestinal, aunque con una amplia variabilidad individual, por lo que debería mantenerse por debajo de esta cantidad¹³¹.

Para cumplir este objetivo es necesario disponer de un método fiable de cuantificación de la cantidad de gluten que hay en los alimentos. Desde 2006, el Codex Alimentario considera, como método de referencia, el sistema ELISA-R5 creado por el Centro Nacional de Biotecnología del CESIC¹³². Utiliza un anticuerpo monoclonal que detecta por igual las prolaminas de trigo, cebada y centeno, con una sensibilidad de 1,5 ppm. Este método permite, además, la detección de gluten parcialmente hidrolizado así como el análisis de alimentos cocinados.

La avena, por su menor contenido en prolaminas, parece un cereal seguro para la mayoría de los celíacos si se consume con moderación y no contaminado. La alta posibilidad de contaminación con otros cereales durante su procesamiento, junto con el limitado tiempo de seguimiento de los estudios que han incluido la avena en la dieta del celíaco, hace que por el momento se recomiende su exclusión^{133,134, 135}.

Con la intención de informar a los pacientes celíacos sobre los alimentos permitidos para su consumo se constituyeron las Asociaciones de Celíacos, que en nuestro país están integradas en la Federación de Asociaciones de Celiacos de España (FACE). Estas asociaciones proporcionan apoyo e información práctica y son muy positivamente valoradas por los enfermos celíacos¹³⁶.

7.1. Nuevas perspectivas terapéuticas

Las dificultades para realizar una dieta exenta de gluten a causa de los condicionamientos de la vida social, la escasa palatabilidad de algunos de los productos, su elevado coste, los problemas con el etiquetado de los alimentos y las barreras psicológicas para la adherencia a la dieta han llevado a buscar otras alternativas al

tratamiento dietético¹³⁷. Los avances en el conocimiento de las bases moleculares de la enfermedad han permitido desarrollar una serie de líneas de investigación que, aunque prometedoras, no son aún una realidad en la práctica diaria. Sus potenciales efectos adversos serán difíciles de aceptar frente a la seguridad de una dieta sin gluten¹³⁸. Las diferentes opciones que están siendo investigadas son las siguientes:

- Disminución de la exposición al gluten:

- Modificación de los cereales^{139, 140} y uso de polímeros secuestradores de gluten¹⁴¹.
- Degradación enzimática del gluten mediante polil-endopeptidasas¹⁴².

- Inhibición de la permeabilidad intestinal:

- Mediante el uso de antagonistas de la zonulina como el larazótido acetato¹⁴³.

-Modulación de la respuesta inmune:

- Inhibidores de la transglutaminasa tisular^{144, 145}.
- Bloqueantes de la presentación antigénica por el HLA-DQ2 y DQ8¹⁴⁶.
- Tolerancia al gluten mediante vacuna de péptidos de gluten¹⁴⁷.
- Infección con el anquilostoma *Necator americanus*¹⁴⁸.
- Tratamiento con anti-IL 15¹⁴⁹.
- Utilización de glucocorticoides de baja actividad sistémica¹⁵⁰.

La ausencia de un modelo animal hace difícil establecer la seguridad, eficacia y aplicabilidad de estas nuevas terapias, razón por la cual, en el momento actual, el seguimiento de una dieta estricta sin gluten sigue siendo el único tratamiento eficaz y seguro de esta enfermedad.

7.2. Seguimiento serológico de la dieta sin gluten

La principal utilidad de los AGA es el control del seguimiento de la dieta, ya que experimentan un rápido descenso al retirar el gluten y detectan mejor las trasgresiones ocasionales que otros anticuerpos. Los EMA, al tener una estrecha relación con la lesión intestinal, no detectan transgresiones ocasionales y su desaparición tras la retirada del gluten es más lenta que la de los AGA, tardando en general en negativizarse entre 6 a 12 meses. Los anti-TG2 siguen una dinámica similar a la de los EMA durante la dieta sin gluten ²⁷.

En los pacientes con déficit de IgA, el seguimiento serológico de la enfermedad se realizará mediante los anticuerpos de clase IgG. La respuesta de estos anticuerpos a la retirada del gluten suele ser lenta y, aunque presenten un descenso significativo, pueden mantener valores positivos en algunos pacientes, a pesar de que la mucosa se haya normalizado ²⁷.

8. COMPLICACIONES

Se han descrito numerosas complicaciones en pacientes celíacos expuestos al gluten durante largo tiempo, de ahí la importancia del diagnóstico precoz y de la adherencia a la dieta de manera estricta¹⁵¹. No obstante, al igual que en el desarrollo de la enfermedad, parece existir una susceptibilidad individual a padecer complicaciones, y de aparecer éstas en sus fases precoces, habitualmente son reversibles con una dieta sin gluten.

Tanto el retraso en el diagnóstico de la enfermedad como el no cumplimiento de la dieta tienen una elevada morbilidad en la vida adulta. Los pacientes celíacos con un diagnóstico tardío tienen una mayor tasa de osteoporosis y osteopenia y asocian un alto riesgo de fracturas. Tras la instauración de la dieta, y fundamentalmente en el primer año de tratamiento, la densidad mineral ósea aumenta, existiendo, no obstante, una marcada diferencia individual en la respuesta. Otras complicaciones conocidas son los problemas relacionados con la fertilidad así como alteraciones en el embarazo²⁷.

En los celíacos existe un aumento de prevalencia de enfermedades autoinmunes (enfermedades tiroideas, diabetes mellitus tipo 1, enfermedades del tejido conectivo, enfermedad inflamatoria intestinal), relación que parece explicada por un factor genético común. Por tanto, durante el seguimiento, habrá que valorar la presencia de síntomas o signos relacionados con estas patologías¹⁴

El desarrollo de un síndrome linfoproliferativo intestinal está descrito en pacientes con un diagnóstico tardío y que han estado expuestos al gluten durante largos periodos de tiempo. El riesgo de padecer una malignización disminuye enormemente a los 5 años de tratamiento de la enfermedad¹⁵².

Recientemente se han demostrado una serie de alteraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica de enfermos celíacos que ingieren gluten. Tras un año de dieta exenta de gluten los celíacos se equiparan con la población control. Aunque parece un fenómeno reversible, esta inestabilidad genética podría tener que ver con el desarrollo de procesos neoplásicos a nivel intestinal¹⁵³.

Una revisión sistemática y meta-análisis ha demostrado que los pacientes celíacos presentan un aumento de la mortalidad por linfoma no Hodgkin, y en particular por linfoma no Hodgkin de células T, pero no un aumento de riesgo de cualquier enfermedad maligna. La valoración de un subgrupo de individuos diagnosticados exclusivamente por serología positiva mostró, asimismo, un riesgo similar de mortalidad por linfoma no Hodgkin¹⁵⁴.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad celíaca es una patología muy prevalente en la población general. Con el avance de los métodos diagnósticos, especialmente el estudio serológico, la detección de nuevos casos ha aumentado considerablemente en los últimos años, y podemos decir que estamos ante la enfermedad intestinal crónica mas frecuente.

El espectro clínico no siempre es claro, puesto que existe un gran número de formas atípicas o incluso asintomáticas que quedan sin diagnosticar, con posibilidad de desarrollar complicaciones o presentar enfermedades asociadas.

Se considera que la mejor aproximación epidemiológica en el diagnóstico de la EC es un proceso sistemático de búsqueda de casos entre aquellos pacientes que presenten los síntomas y asociaciones características de esta enfermedad y en los familiares de primer grado¹⁵⁵. Por otra parte, se discute la necesidad de un despistaje en la población general¹⁵⁶, ya que cumple gran parte de los criterios requeridos por la OMS (Organización mundial de la salud) para ser una enfermedad susceptible de despistaje masivo: Los métodos diagnósticos son conocidos, útiles y accesibles y existe un tratamiento eficaz¹⁵⁷.

En opinión de la ESPGHAN¹⁴ los niños con riesgo genético y serología negativa deben ser controlados a intervalos regulares, ante la posibilidad de que desarrollen la EC posteriormente. Para ello recomiendan efectuar el estudio serológico cada 2 o 3 años para evitar los efectos negativos de una EC no reconocida sobre el crecimiento y el desarrollo óseo.

La gran mayoría de enfermos celíacos presentan la molécula HLA-DQ2 y, en un escaso porcentaje portan el HLA-DQ8. Por este motivo, se ha sugerido realizar, inicialmente, el estudio genético en la población general, como primer paso del despistaje de EC ya que su negatividad excluiría la enfermedad. En este modelo, el estudio serológico se aplicaría sólo a los individuos con HLA de riesgo. Teniendo en cuenta que la prevalencia de HLA-DQ2 en la población general es del 30% aproximadamente, se omitiría el despistaje en un 70% de los individuos. Hasta el momento, la gran mayoría de los estudios epidemiológicos de despistaje de EC se han llevado a cabo realizando estudio serológico al total de la población diana, como único paso en el cribado de la enfermedad, efectuándose, en los casos positivos, biopsia intestinal para su confirmación.

Nuestro estudio se centra exclusivamente en los pacientes de riesgo y sólo en ellos se realizará el despistaje serológico. Para ello, y como primer paso, se determinará el HLA – DQ2 en sangre del cordón umbilical. Este método, que ya ha sido utilizado en el seguimiento de niños con riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes como diabetes mellitus tipo I¹⁵⁸, posibilita, de una manera sencilla y sin necesidad de extracción sanguínea, la creación, desde el nacimiento, de una cohorte de riesgo para la EC. Sobre esta cohorte se centrará posteriormente el estudio serológico, eliminando del mismo aquellos niños que no van a desarrollarla. Permite, así mismo, el seguimiento de este grupo de riesgo con el fin de diagnosticar la enfermedad en caso de manifestarse de una manera temprana, y valorar los posibles factores epidemiológicos que influyen en el desarrollo final de la misma.

Nuestro estudio permite, además, como otros estudios despistaje, el conocimiento completo del espectro clínico de la EC.

2. OBJETIVOS

• Objetivo general

Estudiar la prevalencia de la EC en una población infantil genéticamente susceptible.

• Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia del HLA-DQ2 característico de la EC en sangre de cordón umbilical en recién nacidos creando una cohorte de riesgo
- Determinar el porcentaje de niños con serología positiva en esta cohorte.
- Determinar el porcentaje de niños con biopsia intestinal compatible con la EC.
- Caracterizar clínicamente a los pacientes diagnosticados de EC.
- Valorar posibles factores de riesgo que pudieran influir en el desarrollo de la EC.

III. PARTICIPANTES Y MÉTODOS

1. PARTICIPANTES

Se incluyeron los niños que nacieron en el Hospital Severo Ochoa de Leganés desde Julio-2004 a Julio-2005. Durante su estancia en la maternidad los padres fueron informados del propósito del estudio e invitados a participar en el mismo. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Severo Ochoa.

2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión

- Recién nacidos vivos entre Julio 2004 y Julio 2005.
- Recién nacidos cuyos padres consintieron en participar en el estudio.

Criterios de exclusión

- Recién nacidos con malformaciones congénitas graves incompatibles con la vida.
- Recién nacidos con una muestra de sangre insuficiente que no permitiera la adecuada extracción del ADN.
- Recién nacidos cuyos padres no consintieron en participar en el estudio.

3. DISEÑO Y FASES DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio prospectivo en el que se valora la prevalencia de la EC en una cohorte de riesgo genético (HLA-DQ2 positivo) y los posibles factores epidemiológicos implicados en su desarrollo.

Las fases del estudio fueron las siguientes:

- Formación de la cohorte de riesgo de EC mediante estudio del HLA-DQ2 en cordón umbilical.
- Estudio serológico de los niños de la cohorte de riesgo.
- Valoración clínica de los niños con serología positiva.
- Estudio histológico de los niños con serología positiva.
- Valoración clínica de los niños celíacos.
- Valoración de factores epidemiológicos relacionados con la EC mediante estudio de casos y controles.

3.1. Formación de la cohorte de riesgo de EC mediante estudio del HLA-DQ2 en sangre de cordón umbilical.

3.1.1. Determinación del HLA-DQ2

Para esta determinación se utilizó parte de la sangre de cordón umbilical que se extrae para la realización del hematocrito de cordón. Como muestra de seguridad, ante la posibilidad de fallo en la extracción del ADN, se empleó el excedente de la sangre de cordón destinada a la determinación del Rh y grupo sanguíneo.

En primer lugar se procedió a la extracción del ADN mediante BioRobot EZ1 (IZASA Laboratorios). Posteriormente se determinó la presencia de los alelos DQA1*05 y DQB1*02 mediante PCR/SSP según técnica descrita por Olerup¹⁵⁹.

Se consideró resultado positivo si ambos alelos DQA1*05 y DQB1*02 eran positivos .

3.1.2. Comunicación de los resultados a la familia

Los padres recibieron un informe en el que se indicaba, si el estudio era negativo, el bajo riesgo de desarrollar la EC. En los casos positivos se informaba sobre la posibilidad de desarrollar la enfermedad y, asimismo, el establecimiento de un contacto futuro, cuando el niño cumpliera los 2 años de edad, para determinar los anticuerpos de la EC.

3.1.3. Definición de los grupos de estudio

- **Grupo de despistaje:** Estará formado por los niños de la cohorte de riesgo genético sobre los que se realizará el estudio serológico de la EC tras cumplir los 2 años de edad.
- **Grupo sintomático:** Estará formado por los niños de la cohorte de riesgo genético cuyo debut de la EC tenga lugar durante los dos primeros años de vida y, por tanto, antes del comienzo del estudio de despistaje.

3.2. Estudio serológico de la cohorte de niños de riesgo (HLA-DQ2 positivos).

3.2.1. Grupo de despistaje

Cuando los niños cumplieron los dos años de edad, se efectuó contacto telefónico con las familias en el que se programó una cita para la realización del estudio serológico.

Dicho estudio se efectuó en dos fases:

1ª Fase: Determinación de anticuerpos anti-TG2 mediante test inmunocromatográfico.

El estudio inicial consistió en la determinación de anticuerpos anti-TG2 IgA/IgG/IgM mediante un test inmunocromatográfico (Operon-Tec-Laim S.A.). En este test los anti-TG2 presentes en la sangre de los pacientes celíacos reaccionan con partículas de látex conjugada con transglutaminasa humana recombinante. Estos complejos de partículas coloidales-transglutaminasa-Ac antitransglutaminasa migran por un proceso cromatográfico hacia la zona de reacción. En esta zona se ha depositado transglutaminasa humana recombinante que reaccionará con dicho complejo originando una línea roja/rosa (Fig. 4).

Para realizar esta prueba se debe obtener unas gotas de sangre capilar, mediante punción con lanceta del dedo pulgar, con las que se llena una micropipeta de 20µl. Esta sangre se deposita en el pocillo del dispositivo y, tras 30-60 segundos, se aplican dos gotas de un tampón de dilución. En primer lugar aparece una línea azul transversal en el centro del dispositivo y, si el test es positivo, una segunda línea rosa/roja a la derecha de la primera. El resultado se obtiene en 10 minutos.



Fig. 4 Imagen del test inmunocromatográfico. En la imagen superior se visualiza un resultado positivo con una línea rosa que no aparece en el test situado debajo.

2ª Fase: Confirmación de los resultados positivos del test inmunocromatográfico mediante determinación de los anticuerpos de la EC en suero

A los pacientes con test inmunocromatográfico positivo se les efectuó una extracción de sangre venosa en la que se determinó: Ig A mediante nefelometría (BN II, Siemens), EMA IgA y anti-TG2 IgA. Los EMA se estudiaron mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando como sustrato esófago de mono (BioSystems, Atom), y se consideraron positivos los títulos $\geq 1:5$. Los anti-TG2 se realizaron mediante ELISA (Celikey IgA. ImmunoCap250 Phadia) y se consideraron positivos los títulos > 8 U/ml. En aquellos niños con déficit de IgA (valor inferior a 20 mg/dl) se efectuaron los mismos anticuerpos de clase IgG.

Al mismo tiempo se realizó hemograma con valor de referencia (VR) de hemoglobina de 11,5-13,5 gr/dl, pruebas de coagulación y bioquímica general con determinación de los siguientes parámetros: glucosa (VR: 76-110 mg/dl), creatinina (VR: 0,39-0,73 mg/dl), proteínas totales (VR: 6-8 g/dl), albúmina (VR 4,3-5 gr/dl), transaminasas: [(VR: AST (20-39 U/L), ALT (0-40 U/L), GGT (11-49 U/L)] y ferritina (VR : 20-200 ng/ml).

Se efectuó una segunda confirmación de la positividad de los anticuerpos mediante su determinación en suero pasados 3-4 meses.

3.2.2. Grupo sintomático

Dado que el Hospital Severo Ochoa tiene un área de atención bien definida, cuando un niño de esta zona presenta síntomas sugerentes de EC el Pediatra de Atención Primaria realiza el despistaje serológico y, si éste es positivo, envía al paciente a la Consulta de Gastroenterología Infantil para completar el diagnóstico. En nuestro hospital, en el momento en el que se realizó el estudio, no se determinaban los anti-TG2 como primer paso en el cribado de la EC, sino los EMA. En los pacientes de este grupo se estudiarán las mismas variables clínicas y demográficas que en el grupo de despistaje.

3.3. Valoración clínica de los niños con serología positiva.

El seguimiento de los niños con serología positiva se efectuó en la consulta de Gastroenterología Infantil del Hospital Severo Ochoa. A todos los niños se les realizó una historia clínica y exploración física completas.

Se consideraron síntomas y signos de la EC ¹⁴ : Diarrea crónica o intermitente, estreñimiento crónico, dolor abdominal, náuseas o vómitos, distensión abdominal, fallo de medro, anemia ferropénica, irritabilidad, elevación de las enzimas hepáticas, aftas orales recurrentes.

El peso y la talla se expresaron utilizando la puntuación Z que se calculó restando el dato obtenido de la mediana y dividiéndolo por la desviación estándar. Se utilizaron como referencia las tablas de crecimiento de la OMS¹⁶⁰.

3.4. Estudio histológico de los niños con serología positiva.

La biopsia intestinal se realizó mediante endoscopia digestiva alta. Se tomaron 4 biopsias de la segunda porción de duodeno y 1-2 de bulbo duodenal para descartar la afectación parcheada de la enfermedad. La lesión intestinal se valoró siguiendo la clasificación de Marsh ¹¹ modificada por Oberhuber ¹¹⁸ en: Normal, Grado I, Grado II, Grado IIIa, IIIb y IIIc.

Se consideró EC si el niño presentaba una lesión intestinal grado II y III, definición que ha sido ratificada por el consenso actual sobre el diagnóstico de la EC ¹⁴.

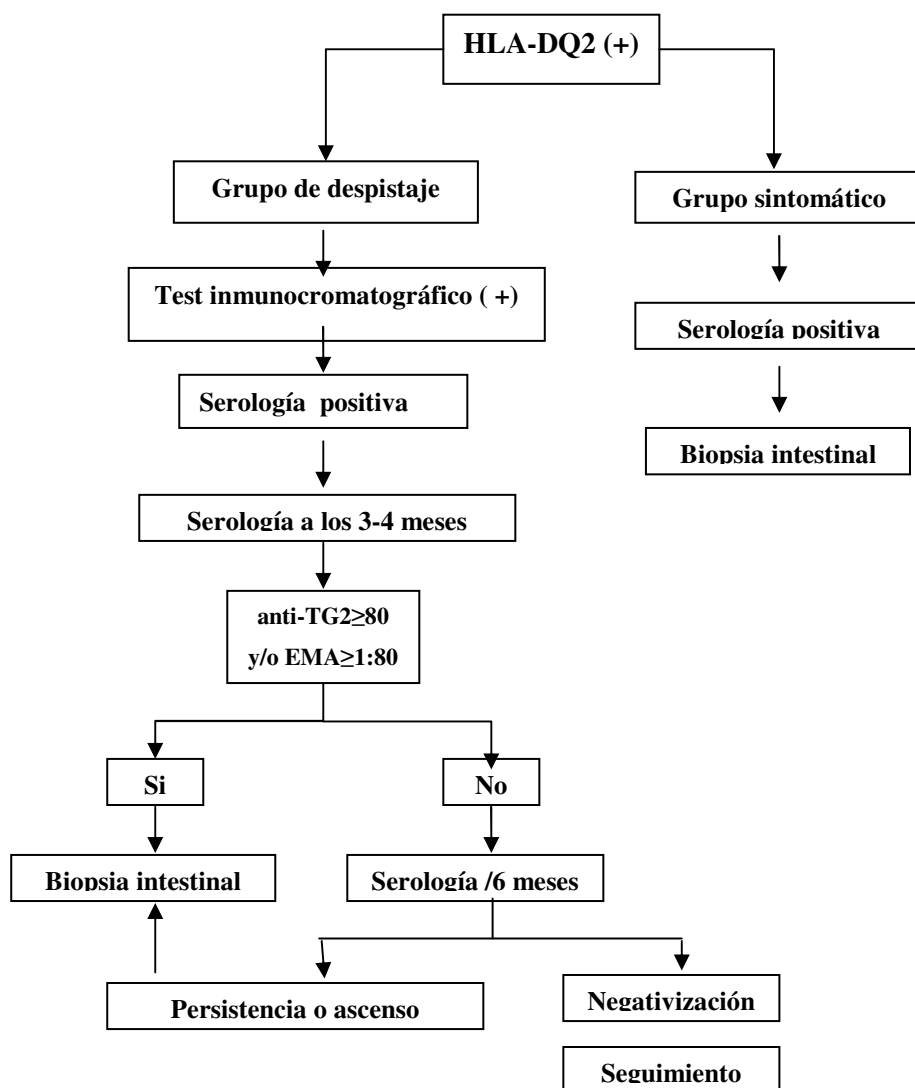
3.4.1. Grupo de despistaje

La biopsia intestinal se realizó en los niños con títulos de anti-TG2 ≥ 80 ¹⁶¹ y/o EMA $\geq 1/80$ ¹⁰². Si los niveles de ambos anticuerpos eran inferiores a estas cifras y el paciente se mantenía asintomático, se repitió la serología a intervalos de 6 meses para valorar el ascenso, persistencia o negativización de los títulos.

3.4.2. Grupo sintomático

En estos pacientes se realizó biopsia intestinal tras valorar los niveles de anticuerpos y comprobar la presencia de síntomas compatibles con la EC.

Fig. 5 Esquema de actuación en la cohorte de niños del grupo de riesgo



3.5. Valoración de factores epidemiológicos relacionados con la EC mediante estudio de casos y controles.

Para el estudio de posibles factores epidemiológicos relacionados con el desarrollo de la EC, a todos los niños se les efectuó un cuestionario en la primera visita, coincidiendo con la determinación serológica inicial. Las variables estudiadas fueron:

- Edad en meses
- Género
- Tipo de parto: Vaginal o cesárea
- Antecedentes familiares de EC en familiares de 1º grado.
- Asistencia a guardería
- Alimentación con lactancia materna o fórmula infantil: Se considera lactancia materna si es superior a 15 días.
- Duración de la lactancia materna en meses
- Edad de introducción del gluten en meses

Se consideraron **casos** a los pacientes de la cohorte de riesgo con serología positiva y biopsia intestinal compatible con EC. Los **controles** fueron todos los niños de la cohorte de riesgo con serología negativa para la EC.

4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO.

Se realizó un análisis descriptivo de las variables iniciales para conocer las características generales de la población de estudio. Los datos se presentaron utilizando estadísticos de tendencia central y de dispersión. Media, desviación típica y valores extremos en las variables cuantitativas y valor absoluto y % en las cualitativas. Las medidas de frecuencia asociadas a las variables HLA-DQ2, serología positiva y niños celíacos se estimaron mediante el cálculo de sus intervalos de confianza del 95% (IC95%). La comparación de peso y talla se realizó mediante el contraste de la t de student no apareado en las variables continuas. Para valorar los cambios de peso y talla en el tiempo se realizó el contraste t de student para datos apareados.

En el estudio de casos y controles la comparación de porcentajes de los factores de riesgo se realizó con la prueba χ^2 corregido por continuidad. La magnitud de la asociación de las variables significativas entre casos y controles se evaluó con la *odds ratio* (OR) calculada mediante regresión logística por el método de máxima verosimilitud condicional. Las OR se presentaron con los intervalos de confianza del 95%. Todas las pruebas se realizaron en contraste bilateral. El análisis se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 14.0 (SPSS Inc.Chicago IL, USA) y los valores de p inferiores a 0,05 se consideraron significativos.

IV. RESULTADOS

1. ESTUDIO DEL HLA-DQ2 EN CORDÓN UMBILICAL. FORMACIÓN DE LA COHORTE DE RIESGO.

Desde Julio de 2004 hasta Julio de 2005 nacieron en nuestra maternidad un total de 1716 niños, de los cuales **1291** cumplieron los criterios de inclusión (620 niñas y 671 niños), lo que supuso un **75,2% del total**. No se pudo contactar con 13,1% de los padres debido a altas precoces y de fin de semana de la maternidad. De los padres contactados, 11,7 % no dieron su consentimiento en relación, fundamentalmente, por problemas lingüísticos.

En estos 1291 niños se realizó el estudio del HLA-DQ2 en cordón umbilical obteniendo los siguientes resultados:

- HLA-DQ2 positivo en 362 niños que corresponde al **28% (IC 95% 25-30) de la población estudiada**. De ellos 161 (44,5%) eran mujeres y 201 (55,5 %) varones
- HLA-DQ2 negativo en 929 niños. **72% de la población estudiada**. De ellos 459 (49,4%) eran mujeres y 470 (50,6 %) varones.

2. ESTUDIO SEROLÓGICO DE LA COHORTE DE NIÑOS DE RIESGO (HLA-DQ2 POSITIVOS). RESULTADOS DE OTROS PARÁMETROS ANALÍTICOS.

2.1. Estudio serológico

De los 362 niños con HLA-DQ2 positivo se pudo contactar con 262 familias (72,3%) para proceder al estudio serológico. El **grupo de despistaje** estuvo constituido por 255 niños y 7 pertenecían al **grupo sintomático**.

2.1.1. Grupo de despistaje

El test rápido inmunocromatográfico fue positivo en 20 de 255. Se confirmó la positividad mediante determinación de anticuerpos en suero en 19 de los 20 niños. El paciente en el que no se confirmó había presentado un test inmunocromatográfico débilmente positivo. Todos los niños tuvieron ambos anticuerpos, anti-TG2 y EMA, positivos. Por tanto el **7,4% (IC 95% 4.0-10.9)** (13 mujeres y 6 varones) del total de este grupo presentó una serología positiva. Una segunda determinación de los anticuerpos en suero confirmó la positividad en los 19 niños. Los títulos se muestran en la Tabla 2.

2.1.2. Grupo sintomático

En la Tabla 3 se muestran los valores de los anticuerpos de los 7 pacientes que fueron remitidos a la Consulta de Gastroenterología del hospital por sospecha clínica y serológica de EC, antes del inicio del despistaje.

Tomando ambos grupos en conjunto, el total de niños con serología positiva de esta cohorte de riesgo fue de 26 de 262: 9,9% (IC 95% 6,1-13,7) (18 niñas: 69,2%).

2.2. Resultados de otros parámetros analíticos

- Ningún paciente presentó déficit de IgA. Todos tuvieron unos niveles normales de transaminasas, glucosa, creatinina, proteínas totales y albumina.

- 10 de los 26 pacientes (38,5%) presentaban ferropenia, aunque sólo 5 (19,2%) tenían una anemia ferropénica, 2 del grupo de despistaje y 3 del sintomático.

3. VALORACIÓN CLÍNICA DE LOS NIÑOS CON SEROLOGÍA POSITIVA.

3.1. Grupo de despistaje

Cinco de los 19 niños con serología positiva presentaban algún síntoma digestivo (casos 2, 7, 8, 9, 10) y un caso, asintomático, era familiar de primer grado de un enfermo celíaco (caso 14). Los signos y síntomas clínicos se describen en la Tabla 2.

Los 13 niños restantes se encontraban asintomáticos y no pertenecían a grupos de riesgo. Dos niños (casos 5 y 18) presentaban ferropenia sin anemia, por lo que no se consideraron sintomáticos.

La edad media de realización de la serología fue de 29,3 meses (24-38 meses)

3.2. Grupo sintomático

Los 7 pacientes presentaban síntomas y signos de la EC, 5 diarrea crónica o intermitente, distensión abdominal y pérdida de peso (3 de los cuales mostraban,

asimismo, una anemia ferropénica) y 2 estacionamiento ponderal. Los signos y síntomas clínicos se describen en la Tabla 3.

La edad media de realización de la serología en este grupo fue de 20,7 meses (16-26 meses).

Tabla 2. Grupo de despistaje:

Género, valores de los anticuerpos y síntomas y signos clínicos.

Pacientes	Género	Serología		Síntomas y signos clínicos
		anti-TG2	EMA	
1	Varón	24	1:40	Asintomático
2	Mujer	>100	1:80	Distensión abdominal Anemia ferropénica
3	Mujer	>100	1:320	Asintomática
4	Varón	41	1:20	Asintomático
5	Mujer	>100	1:80	Asintomático Ferropenia
6	Mujer	19	1:160	Asintomática
7	Mujer	>100	1:80	Distensión abdominal Ferropenia
8	Mujer	>100	1:40	Anorexia Ferropenia
9	Varón	>100	1:160	Distensión abdominal Anemia ferropénica
10	Mujer	>100	1:80	Diarrea intermitente Distensión abdominal
11	Mujer	35	1:20	Asintomática
12	Mujer	>100	1:320	Asintomática
13	Varón	18	1:5	Asintomático
14	Mujer	>100	1:160	Asintomática Hija de madre celíaca
15	Mujer	>100	1:160	Asintomática
16	Varón	>100	1:80	Asintomático
17	Mujer	>100	1:40	Asintomática
18	Mujer	>100	1:80	Asintomática Ferropenia
19	Varón	22	1:20	Asintomático

Tabla 3. Grupo sintomático:**Género, valores de los anticuerpos y síntomas y signos clínicos.**

Pacientes	Género	Serología EMA	Síntomas y signos
20	Varón	1/80	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal Anemia ferropénica
21	Mujer	1/80	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal
22	Mujer	1/80	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal Anemia ferropénica
23	Varón	1/10	Estacionamiento ponderal
24	Mujer	1/160	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal Anemia ferropénica
25*	Mujer	1/40*	Estacionamiento ponderal
26	Mujer	1/160	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal

***Paciente 25: Anti-TG2: 40 U/ml**

4. ESTUDIO HISTOLÓGICO.

4.1. Grupo de despistaje

Se realizó biopsia intestinal a 14 de los 19 niños y 9 (7 niñas: 77,7%) presentaron lesión compatible con EC. Los resultados observados se muestran en la Tabla 4.

En 5 niños (casos 1, 4, 11, 13, 19) no se realizó biopsia intestinal puesto que los títulos serológicos eran inferiores a los considerados como elevados y no presentaban síntomas (Tabla 4).

4.2. Grupo sintomático

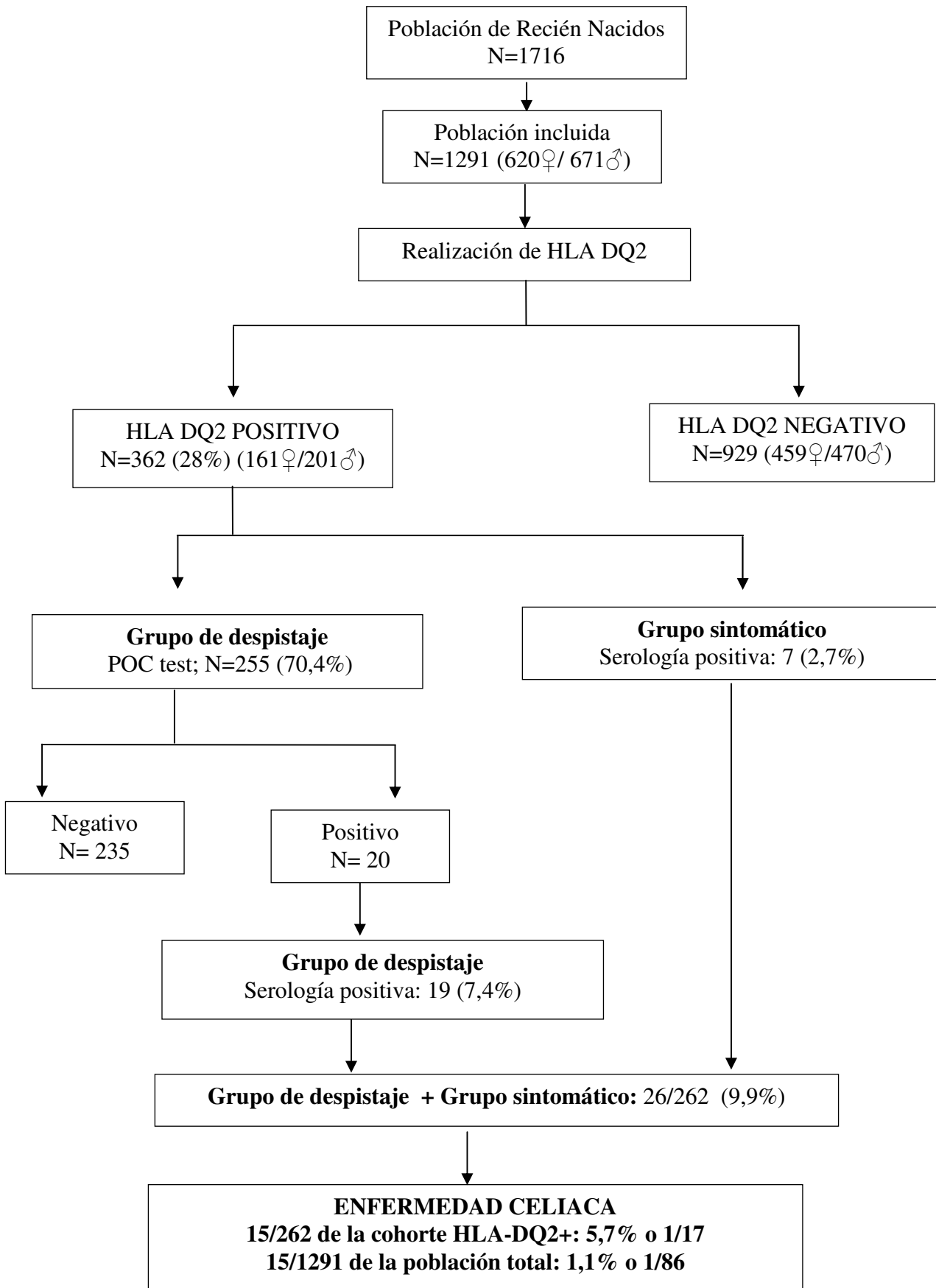
Se realizó biopsia intestinal a 6 de los 7 pacientes y los 6 niños (5 niñas: 83,3%) presentaron lesión intestinal compatible con la EC. No se realizó biopsia intestinal en el caso 23 por presentar un título de anticuerpos límite que fue negativo en el siguiente control (Tabla 4).

Tabla 4. Grupo de despistaje y grupo sintomático: Género, serología, clínica y lesión histológica.

Pacientes	Género	Serología		Síntomas y signos clínicos	Lesión histológica
		anti-TG2	EMA		
1	Varón	24	1:40	Asintomático	Biopsia no realizada
2	Mujer	>100	1:80	Distensión abdominal. Anemia ferropénica	IIIc
3	Mujer	>100	1:320	Asintomática	IIIc
4	Varón	41	1:20	Asintomático	Biopsia no realizada
5	Mujer	>100	1:80	Asintomático. Ferropenia	II
6	Mujer	19	1:160	Asintomática	Normal
7	Mujer	>100	1:80	Distensión abdominal. Ferropenia	IIIa
8	Mujer	>100	1:40	Anorexia. Ferropenia	Normal
9	Varón	>100	1:160	Distensión abdominal. Anemia ferropénica	IIIa
10	Mujer	>100	1:80	Diarrea intermitente. Distensión abdominal	IIIa
11	Mujer	35	1:20	Asintomática	Biopsia no realizada
12	Mujer	>100	1:320	Asintomática	Normal
13	Varón	18	1:5	Asintomático	Biopsia no realizada
14	Mujer	>100	1:160	Asintomática. Hija de madre celiaca	IIIa
15	Mujer	>100	1:160	Asintomática	II
16	Varón	>100	1:80	Asintomático	IIIa
17	Mujer	>100	1:40	Asintomática	Normal
18	Mujer	>100	1:80	Asintomática. Ferropenia	Normal
19	Varón	22	1:20	Asintomático	Biopsia no realizada
20	Varón	N. D.	1:80	Diarrea crónica. Pérdida de peso. Distensión abdominal. Anemia ferropénica	IIIc
21	Mujer	N. D.	1:80	Diarrea crónica. Pérdida de peso. Distensión abdominal	IIIc
22	Mujer	N. D.	1:80	Diarrea crónica. Pérdida de peso. Distensión abdominal. Anemia ferropénica	IIIc
23	Varón	N. D.	1:10	Estacionamiento ponderal	Biopsia no realizada
24	Mujer	N. D.	1:160	Diarrea crónica. Pérdida de peso. Distensión abdominal. Anemia ferropénica	IIIa
25	Mujer	40	1:40	Estacionamiento ponderal	IIIb
26	Mujer	N. D.	1:160	Diarrea crónica. Pérdida de peso. Distensión abdominal	IIIc

N.D.: No determinado

Fig. 6. Resumen de los resultados



Resumen de los resultados obtenidos:

- 1. El número de niños celíacos diagnosticados en esta cohorte fue de 15 (12 niñas: 80%).*
- 2. Si se considera la cohorte de riesgo estudiada, el diagnóstico de 15 pacientes celíacos supone una prevalencia de 5,7% (IC 95% 2.7-8.7) o 1/17.*
- 3. Si se considera la población total a la que se realizó tipaje del HLA-DQ2, la prevalencia de EC fue de 1/86 niños o 1,1% (IC 95% 0.03-6.3).*
- 4. La relación entre el grupo sintomático y el grupo despistaje fue de 1/1,5.*

5. EVOLUCIÓN DE LOS ANTICUERPOS DE LOS NIÑOS CON EC POTENCIAL Y CON AUTOINMUNIDAD CELÍACA

Durante el seguimiento, los anticuerpos se negativizaron en los 10 niños del **grupo de despistaje** con EC potencial y con autoinmunidad celíaca (52,6%) y en 1 del **grupo sintomático**, lo que supone una negativización del 42,3% del total de niños con serología positiva. En la Tabla 5 se muestran la evolución de los títulos de los anticuerpos de estos niños a lo largo del seguimiento.

El tiempo medio de negativización de los anticuerpos fue de 14,5 meses (4-22 meses) existiendo diferencias, no significativas, entre el grupo con EC potencial (19,2 meses) y el grupo con autoinmunidad celíaca (10,6 meses). Tras un seguimiento de 6 años, estos niños tienen en la actualidad entre 7 y 8 años y todos ellos se mantienen asintomáticos y con serología negativa.

Tabla 5. Evolución de las cifras de anticuerpos en niños con EC potencial y con autoinmunidad celíaca

Pacientes	Género	Biopsia Intestinal	Anti-TG2		EMA	
			Determinaciones Primera	Siguientes	Determinaciones Primera	Siguientes
Grupo de despistaje						
6	M	Normal ¹	19	Negativo	1:160	Negativo
8	M	Normal ¹	>100	60 19 20 8 Negativo	1:40	1:20 1:10 1:10 1:20 Negativo
12	M	Normal ¹	>100	>100 70 12 Negativo	1:320	1:80 1:40 1:20 Negativo
17	M	Normal ¹	>100	>100 27 19 Negativo	1:40	1:80 1:80 1:20 Negativo
18	M	Normal ¹	>100	ND ND 15 12	1:80	1:160 1:80 1:20 Negativo
1	V	No realizada ²	24	24 Negativo	1:40	1:20 Negativo
4	V	No realizada ²	41	10 ND 13 Negativo Negativo	1:20	1:20 1:10 1:5 1:10 Negativo
11	M	No realizada ²	35	Negativo Negativo	1:20	Negativo Negativo
13	V	No realizada ²	18	Negativo Negativo	1:5	Negativo Negativo
19	V	No realizada ²	22	Negativo Negativo	1:20	Negativo Negativo
Grupo sintomático						
23	V	No realizada ²	ND	Negativo	1:10	Negativo

¹ Enfermedad celíaca potencial; ² Autoinmunidad celíaca

6. ESPECTRO CLÍNICO DE LA EC EN LA POBLACIÓN HLA-DQ2 POSITIVA.

6.1. Signos y síntomas

6.1.1. Grupo de despistaje:

El 56% era asintomático o presentaba ferropenia sin anemia, 33% tenía distensión abdominal exclusivamente con o sin anemia ferropénica y 11% presentaba síntomas digestivos con o sin anemia ferropénica (Tabla 6 y Figura 7).

Tabla 6. Sintomatología y somatometría en el grupo de despistaje

Pacientes	Género	Síntomas y/o Signos	Somatometría	
			Peso	Talla
2	Mujer	Distensión abdominal Anemia ferropénica	+0,57	-0,48
3	Mujer	Asintomática	+ 0,71	+ 2,15
5	Mujer	Ferropenia	+ 1,21	+ 0,11
7	Mujer	Distensión abdominal Ferropenia	+ 0,11	-0,14
9	Varón	Distensión abdominal Anemia ferropénica	+1,16	-0,047
10	Mujer	Diarrea intermitente Distensión abdominal	+ 0,29	+0,90
14	Mujer	Asintomática Hija de madre celíaca	-0,36	-0,39
15	Mujer	Asintomática	- 0,29	-1,4
16	Varón	Asintomático	- 0,48	-1,12

6.1.2. Grupo sintomático

El 83% presentaban síntomas digestivos con o sin anemia ferropénica y 17% estacionamiento ponderal (Tabla 7 y Figura 7).

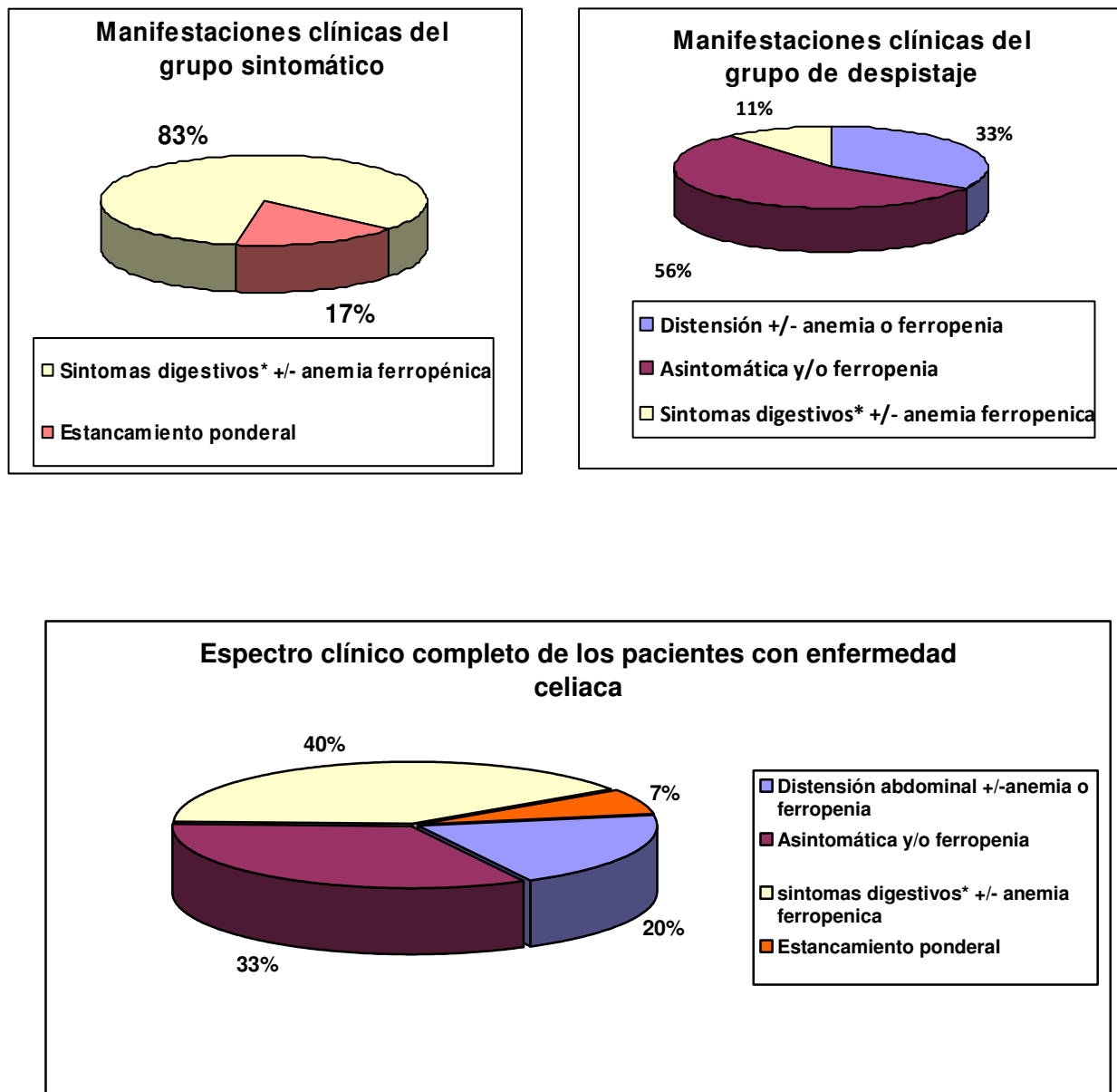
Tabla 7. Sintomatología y somatometría en el grupo sintomático

Paciente	Género	Síntomas y/o signos	Somatometría	
			Peso	Talla
20	Varón	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal Anemia ferropénica	+ 1,06	+0,69
21	Mujer	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal	- 0,92	-0,91
22	Mujer	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal Anemia ferropénica	- 0,28	-0,57
24	Mujer	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal Anemia ferropénica	- 0,46	+0,14
25	Mujer	Estacionamiento ponderal	- 0,05	- 0,029
26	Mujer	Diarrea crónica Pérdida de peso Distensión abdominal	- 0,34	-0,88

6.1.3. Grupo de despistaje y grupo sintomático

El espectro clínico completo de la EC en estos pacientes HLA-DQ2 positivos fue: 40% síntomas digestivos con o sin anemia ferropénica, 20% distensión abdominal con o sin ferropenia o anemia ferropénica, 7% estacionamiento ponderal y 33% asintomáticos con o sin ferropenia.

Fig. 7. Manifestaciones clínicas de los pacientes celíacos



*Síntomas digestivos: Diarrea crónica, pérdida ponderal y distensión abdominal.

6.2. Somatometría

El peso y la talla de los niños celíacos diagnosticados en este estudio, tanto del grupo de despistaje como del grupo sintomático, estuvieron dentro de valores normales (Tablas 6 y 7). Comparando ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas en el Z score de peso ni en el de la talla:

Z score de peso: despistaje: $+0,32 \pm 0,63$; sintomático: $-0,16 \pm 0,66$ ($p= 0,175$).

Z score de talla: despistaje: $-0,04 \pm 1,06$; sintomático: $-0,25 \pm 0,63$ ($p= 0,668$).

6.3. Evolución clínica tras la retirada del gluten

6.3.1. Somatometría

En la Figura 8 y 9 se muestran los datos de la evolución del peso y la talla de los niños celíacos al diagnóstico y al año de la retirada del gluten de la dieta. En el **grupo total** de niños celíacos se produjo un aumento significativo del Z score de peso que ascendió de $+0,06 \pm 0,60$ a $+0,39 \pm 0,59$ ($p < 0,004$). Sin embargo, la talla no presentó un aumento significativo, pasando de $-0,13 \pm 0,89$ a $+0,03 \pm 0,85$ ($p=0,96$).

Si se valora por separado el **grupo de despistaje** se observó, asimismo, un aumento significativo del peso que ascendió de $+0,21 \pm 0,55$ a $+0,54 \pm 0,65$ ($p < 0,004$). Tampoco se observó un aumento significativo de la talla que pasó de $-0,04 \pm 1,06$ a $+0,08 \pm 0,97$ ($p=0,24$).

El Z score de peso y de talla del **grupo sintomático** ascendió sin alcanzar el nivel de significación. El peso pasó de $-0,16 \pm 0,66$ a $+0,18 \pm 0,47$ ($p=0,06$) y la talla de $-0,26 \pm 0,63$ a $-0,04 \pm 0,72$ ($p=0,29$).

6.3.2. Clínica

Al año de realizar la dieta sin gluten, todos los pacientes con síntomas previos se encontraban asintomáticos y con normalización del metabolismo del hierro y de los valores de hemoglobina.

Fig. 8. Z score de peso y talla al diagnóstico de la enfermedad celiaca y al año de la dieta sin gluten.

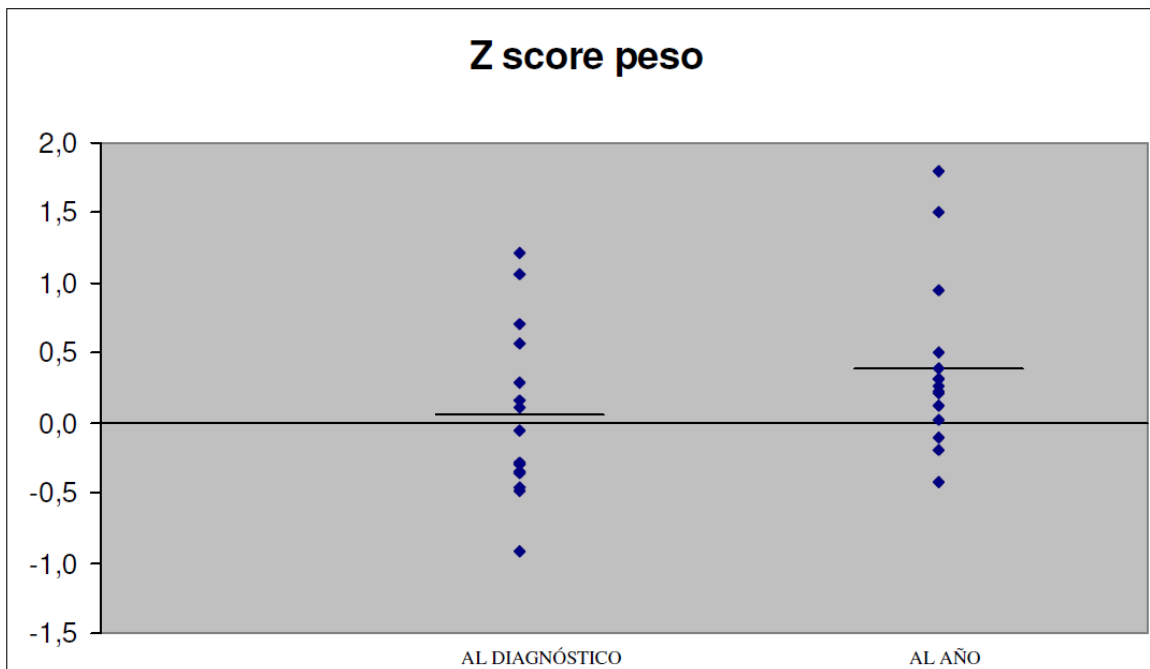
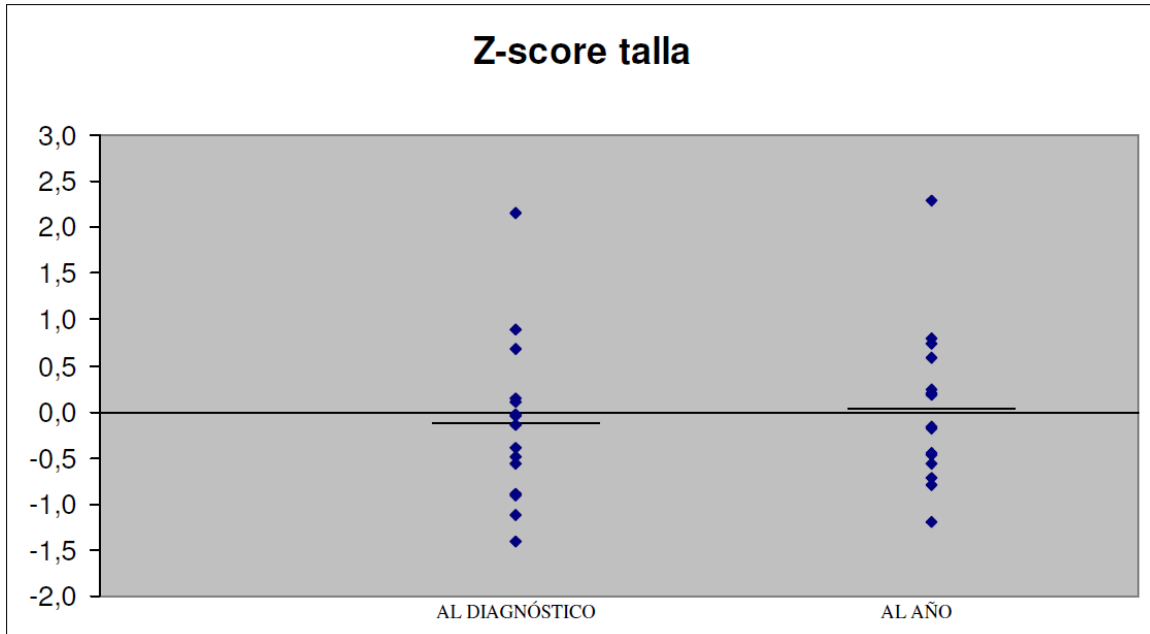
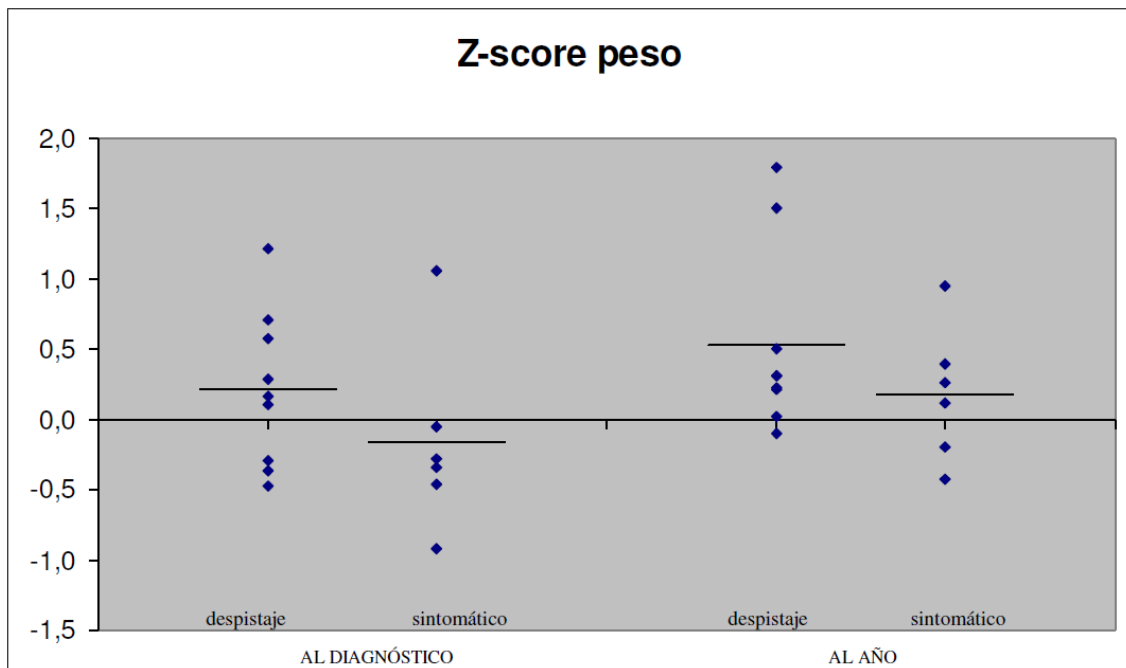
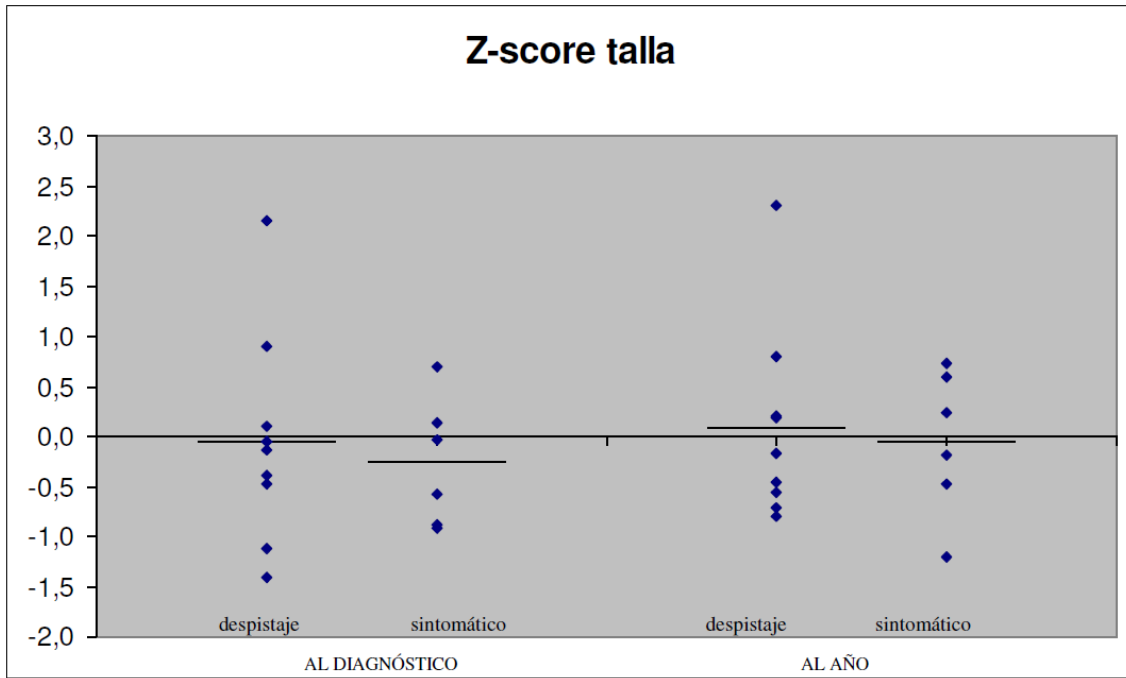


Fig. 9. Z score de peso y talla. Comparativa entre grupo de despistaje y grupo sintomático.



7. VALORACIÓN DE POSIBLES FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DE LA EC.

Se compararon las variables estudiadas entre el grupo de celíacos (**casos**) y el grupo de los niños de la cohorte de riesgo con serología negativa (**controles**). Se obtuvieron datos completos de 220 niños del grupo control.

En la Tabla 8 y 9 se exponen los resultados del análisis univariante y multivariante de los factores estudiados. Sólo el género femenino y la coincidencia de la introducción del gluten durante la lactancia materna resultaron significativamente diferentes entre ambos grupos.

Tabla 8. Estudio de los posibles factores relacionados con la EC. Análisis univariante

	Celíacos(%)	Controles (%)	OR	IC 95%
Género (Niñas)	12 /15 (80)	92/220 (41,8)	5,46	(1,49-19,9)*
Cesárea	5/15 (33,3)	33/220 (15)	2,8	(0,9-8,8)
A. Familiares EC	2/15 (13,1)	16/220 (7,2)	1,8	(0,3-9,1)
Asistencia guardería	9/15 (60)	96/220 (43,6)	1,2	(0,4-3,4)
Lactancia materna	14/15 (93,3)	178/220 (80,9)	3,3	(0,4-25,6)
Coincidencia lactancia materna con gluten	1/15 (6,6)	87/220 (39,5)	0,1	(0,01-0,8)*

*p<0,05

Tabla 9 . Análisis multivariante.

	OR	IC 95%
Género (Niñas)	5,7	(1,5-20,9)
Coincidencia lactancia materna con gluten	0,11	(0,01-0,8)

Aunque la duración de la lactancia materna en el grupo control fue superior ($6,5 \pm 6,7$ meses) al del grupo de celíacos ($4,8 \pm 6$ meses), la diferencia no llegó a ser significativa ($p= 0,81$).

En el grupo de niños celíacos se observó un porcentaje significativamente mayor del género femenino y de los niños que introducían el gluten tras la retirada de la lactancia materna.

V. DISCUSIÓN

1. Prevalencia de EC en la cohorte de riesgo

La mayoría de los estudios epidemiológicos de despistaje de EC se han efectuado en población general, y son escasos en individuos genéticamente predispuestos. Nuestro estudio es el primero realizado en España de detección de EC en población genéticamente susceptible, determinando el HLA-DQ2 como primer paso en el despistaje de la enfermedad. La fuerte asociación existente entre el HLA DQ2 y la EC permite excluir aquellos pacientes que no pertenecen al grupo de riesgo, y por tanto, reducir significativamente la población a estudiar¹⁶².

Como cribado inicial se determinaron los alelos DQA1*05 y DQB1*02 en sangre del cordón umbilical. Esta muestra es de gran interés para estudios de despistaje, ya que al no suponer una agresión al neonato, se consigue un alto nivel de participación que en nuestro caso ascendió al 75%. El estudio genético en sangre de cordón ya ha sido utilizado en el seguimiento de cohortes de riesgo de diabetes mellitus tipo 1. En estos estudios, los alelos que comparte esta enfermedad con la EC han sido aprovechados para valorar la prevalencia de la celiacua en dichas cohortes^{31, 32, 33}. Sin embargo, como reconocen algunos autores, en este tipo de diseño pueden producirse sesgos de inclusión, con una mayor representación de algunos genotipos de riesgo³².

En nuestro caso, el objetivo primario ha sido la detección de EC y se han incluido todos los niños HLA-DQ2 positivos. En nuestra población, el 28 % fue portador del haplotipo HLA-DQ2. Este resultado es similar al encontrado en la literatura¹² y ligeramente superior a lo descrito en nuestro medio, que se sitúa en torno al 22%^{48,54}.

Tras formar esta cohorte de riesgo, el despistaje de la EC se efectuó mediante estudio serológico a los niños HLA-DQ2 positivos entre los 2 y 3 años de edad. Se decidió realizar la serología cuando hubieran cumplido los dos años para evitar la posibilidad de resultados falsos negativos de los anti-TG2 y EMA en niños de menor edad^{86,163,164,165,166}. Por otra parte, si se realizaba en edades posteriores implicaba el riesgo de tener un mayor número de pérdidas en el seguimiento.

Dada la corta edad de nuestra población, y con el propósito de obtener la mayor participación posible, se eligió un test inmunocromatográfico rápido y poco invasivo que consistió en la determinación de anticuerpos antitransglutaminasa en una gota de sangre capilar obtenida mediante punción del dedo pulgar. El test utilizado determina anticuerpos de la clase IgA e IgG, por lo que se excluye la posibilidad de falsos negativos en los déficits de IgA. Los test inmunocromatográficos han demostrado ser una herramienta diagnóstica válida en estudios de despistaje poblacional de EC^{107, 167}. Así lo muestra un reciente meta-análisis publicado por Giersiepen y cols¹⁰⁸ sobre el valor de la serología en el diagnóstico de la enfermedad, en el que la sensibilidad y especificidad de estos tests alcanza el 96,4% y 97,7% respectivamente, con una concordancia superior al 95% con la serología en sangre venosa.

En nuestro estudio, tras realizar el cribado serológico, el resultado fue positivo en 20 casos en el grupo de despistaje. En todos, excepto en uno, se confirmó la positividad para ambos anticuerpos, anti-TG2 y EMA, por serología en sangre venosa.

Este único caso había presentado un valor débilmente positivo en el estudio inmunocromatográfico. En una segunda determinación se confirmó la positividad de los 19 niños.

Por tanto, finalmente el 7,4% del grupo de despistaje presentó autoinmunidad celíaca. En un estudio diseñado originariamente para la detección precoz de diabetes mellitus, Björck y cols.³² realizaron un despistaje de EC en portadores de los haplotipos de riesgo HLA-DQ2/DQ8. El porcentaje de niños con autoinmunidad celíaca fue del 4,5%, cifra algo inferior a la nuestra. La posible razón de esta diferencia podría radicar en el hecho de no haber valorado niños portadores del haplotipo HLA-DQ8. Este haplotipo lo presentan aproximadamente el 5% de los celíacos y, en nuestro país, escasamente supera el 2%, mientras que es más frecuente en la población general. Si hubiéramos incluido en nuestro estudio a los niños portadores del HLA-DQ8 habíamos aumentado la población a realizar el despistaje con un escaso aumento del número de celíacos encontrados en este grupo, por lo que el porcentaje final habría sido inferior.

Antes del inicio del despistaje, los pediatras de atención primaria remitieron a la consulta de gastroenterología de nuestro hospital 7 pacientes pertenecientes a la cohorte de riesgo con sospecha de EC por clínica compatible y serología positiva (grupo sintomático). La edad media de diagnóstico de estos pacientes fue de 21 meses y tan sólo dos de ellos debutaron tras el segundo año de vida. En el estudio de despistaje de Simell en niños finlandeses portadores del alelo DQB1*02³³, aunque la edad media a la que aparecieron los anti-TG2 fue de 3 años, la edad más temprana de seroconversión fue 1,3 años. Hoffenberg y cols³¹, con el fin de valorar la incidencia de la EC en la población infantil de Denver, efectuaron un seguimiento de una cohorte de niños HLA-DQ2 positivos durante 7 años con determinaciones seriadas de anti-TG2; ningún niño

de esta cohorte presentó autoinmunidad antes de los 2,6 años de edad. Aparte de las diferencias de la ingesta de gluten y presentación clínica entre países, los niños de nuestra serie seguían la recomendación de introducción tardía y no necesariamente progresiva del gluten que se efectuaba en ese momento en nuestro país, por lo que su exposición al mismo podría justificar la aparición temprana de los anticuerpos en nuestra serie.

En total, en nuestra población seleccionada por riesgo genético el 9,9% presentaron autoinmunidad celíaca. Se efectuó biopsia intestinal a 20 niños, 14 del grupo de despistaje y 6 del grupo sintomático, todos ellos con títulos elevados de anti-TG2 y EMA, confirmándose la EC en el 5,7% de la cohorte. Es difícil comparar nuestros resultados con los publicados en estudios similares debido a diferencias en el diseño. Bjorck y cols.³², en su cohorte de niños HLA-DQ2/DQ8 positivos, encontraron un 3,5% de nuevos celíacos detectados por cribado, ascendiendo esta cifra al 4,8% cuando incluyeron los celíacos previamente diagnosticados pertenecientes a esta población. Sin embargo, 6 de los casos mostraban lesión grado I de Marsh, no considerada como suficiente por la ESPGHAN para el diagnóstico de la EC por lo que el porcentaje final sería menor. En el año 2003, Maki y cols¹⁸ realizaron un estudio de despistaje en población escolar general y la prevalencia de celíacos en el grupo de los niños HLA-DQ2 positivos fue de 4,5%, cifra también inferior a la de nuestra serie.

Nuestra prevalencia, extrapolada a la población total estudiada, es de 1,1% (1/86), resultado similar a los de otros estudios de despistaje efectuados en población general de diversos países como Finlandia (1/99)¹⁸, Suecia (1/76)¹⁹ y Hungría (1/85)²⁰. Asimismo, es semejante al 1% publicado en el estudio epidemiológico multicéntrico

europeo más amplio que se ha efectuado hasta el momento, con una participación muy amplia de niños y adultos²², en el que consideraron los nuevos casos de EC detectados por despistaje y los previamente diagnosticados en esta población. Es interesante reseñar que observaron una importante variabilidad en la prevalencia entre los países participantes, que fue 8 veces superior en Finlandia que en Alemania, país que muestra la cifra menor. Estas diferencias, aunque posiblemente relacionadas con factores genéticos y del medio ambiente, como la nutrición en la infancia, quedan por el momento sin una clara explicación. Cuando comparamos nuestros datos con los de otros estudios efectuados en nuestro país, nuestra prevalencia es ligeramente superior a la observada por Castaño y cols²⁴ en niños de 3 años de edad (1/118) en 2004 y claramente superior al efectuado por nuestro grupo en niños de 10-12 años (1/220) en el año 2000²³. En este último hay que reseñar que se determinaron los EMA como primer paso en el despistaje, que aunque son anticuerpos de notable especificidad, presentan una sensibilidad inferior a los anti-TG2¹⁶⁸, por lo que es probable que esta cifra de prevalencia esté infravalorada. No obstante, a tenor de los resultados, no se puede descartar que exista un aumento real de la prevalencia de la EC en los últimos años, hecho que se está observando a nivel mundial, incluidos países con baja prevalencia de EC reconocida como USA^{169,170,171}. La relación encontrada entre el grupo sintomático y el grupo de despistaje fue de 1:1,5, mientras que la publicada en el estudio de Bjorck y cols³² era de 1:2,4. Valores más próximos al nuestro los ha mostrado un estudio de reciente publicación de despistaje en población general de niños italianos de 5 a 8 años de edad cuya cifra asciende a 1:1,7¹⁷².

Si exploramos el tamaño del “iceberg celíaco” en nuestra población dividiendo el número de casos previamente diagnosticados de EC entre la prevalencia de la

enfermedad (casos previamente diagnosticados más casos detectados por despistaje), el cociente es de 0,40. Este resultado es similar al del estudio italiano previamente mencionado que es de 0,36 y superior a lo descrito en Finlandia²² y Suecia³² que se sitúa en 0,24 y 0,29 respectivamente. En nuestro caso, esta menor diferencia entre ambos grupos podría justificarse por el conocimiento que los pediatras españoles de atención primaria tienen de la enfermedad y su fácil accesibilidad al estudio serológico, aunque no se puede descartar que también pueda haber influido el conocimiento, por parte del pediatra, del riesgo genético de estos pacientes.

2. Manifestaciones clínicas

En el grupo de celíacos detectados por despistaje de nuestra serie, más de la mitad de los casos fueron asintomáticos y entre los que presentaban algún síntoma, una tercera parte mostraba únicamente distensión abdominal con o sin anemia ferropénica. En concreto, de los 9 pacientes, 5 eran asintomáticos y en sólo uno de ellos se detectó ferropenia sin anemia. Los 4 restantes presentaron distensión abdominal, en 2 de ellos se asociaba anemia ferropénica, en uno sólo ferropenia y en el cuarto paciente diarrea intermitente. Al año de la retirada del gluten desaparecieron los signos y síntomas relacionados con la enfermedad celíaca y todo el grupo experimentó un ascenso significativo del peso pero no de la talla. Estos resultados son similares a los observados por Castaño y cols²⁴. En su serie de 7 pacientes diagnosticados por despistaje, un niño manifestó síntomas clásicos de EC y fue remitido para estudio desde atención primaria antes de que el despistaje concluyera, dos manifestaron síntomas leves consistentes en anorexia y deposiciones blandas frecuentes, uno ferropenia y el resto eran asintomáticos y con estado nutricional normal. Tras la retirada del gluten, los síntomas desaparecieron en todos los pacientes y en dos de ellos se observó un aumento significativo del peso. En el estudio de despistaje de Carlsson y cols.¹⁹, efectuado en niños de tres años de edad, de los 8 nuevos celíacos diagnosticados, 4 presentaban síntomas (dolor abdominal, diarrea e irritabilidad nocturna) que desaparecieron tras la dieta sin gluten, mejorando tanto el peso como la talla. De los niños asintomáticos, tres aumentaron en peso y uno en peso y talla. Hoffenberg y cols¹⁷³ valoraron clínicamente a 18 niños con serología persistentemente positiva, frente a 100 con serología negativa de la misma cohorte portadora del haplotipo HLA-DQ2. De punto de partida, los celíacos presentaron un menor peso para la talla y un menor índice de masa corporal que los niños con serología negativa. Tras la retirada del gluten se produjo un aumento del peso

para la talla y del índice de masa corporal, pero no del peso y la talla para la edad. Los autores realizaron un modelo de regresión logística encontrando que la escasa ganancia ponderal, la irritabilidad y la distensión abdominal fueron los tres síntomas independientemente asociados a la positividad de los anti-TG2.

La distensión abdominal se perfila como un síntoma destacado en todos los estudios de despistaje y en todas las edades^{174, 172}. En nuestra serie la presentaban 4 de los 9 celíacos detectados por cribado. En este tipo de estudios, cuando se realiza una encuesta detallada de síntomas, se observa que algunos pacientes no son realmente asintomáticos sino que presentan una EC subclínica caracterizada por síntomas leves que responden a la dieta sin gluten.

Si consideramos el total de niños celíacos diagnosticados en nuestra cohorte de riesgo, incluyendo a los pacientes del grupo sintomático y a los detectados por despistaje, más de la mitad presentaron síntomas digestivos con o sin anemia ferropénica, el 7% estancamiento ponderal sin síntomas digestivos y una tercera parte fue asintomática. En el estudio realizado por Nenna y cols en niños escolares italianos, de los 42 nuevos celíacos diagnosticado por despistaje, 40 eran asintomáticos y dos presentaban síntomas de EC no clásica; en todos, excepto en uno, el desarrollo ponderal era normal. En sus datos, a pesar de que consideran la distensión abdominal un síntoma destacado en los pacientes diagnosticados por despistaje, no lo tienen en cuenta en el porcentaje final de niños sintomáticos. En este estudio incluyeron 23 celíacos diagnosticados antes del despistaje, lo que permitió a los autores valorar el espectro clínico de la EC en forma de “iceberg”. De estos 23 celíacos, en 18 la forma de presentación fue de EC típica, 1 de EC atípica y 4 eran asintomáticos detectados por

cribado en grupos de riesgo. En esta serie, en la base del “iceberg” se encontró un 64% de EC asintomática y un 1% de EC potencial. En la parte visible se observó un 28% de EC típica y un 7% de EC atípica.¹⁷² En nuestro estudio, aun siendo de menor tamaño, los resultados son similares puesto que el 60% constituyó la base del “iceberg” y en la parte visible se situó un 33% de formas clásicas y un 7% de formas no clásicas.

3. Seguimiento de los niños con EC potencial y con autoinmunidad celíaca

Se efectuó seguimiento de los niños con EC potencial, es decir con serología positiva y biopsia intestinal normal, y de los niños con autoinmunidad celíaca caracterizada por serología positiva repetida no biopsiados. Observamos, en todos ellos, una negativización espontánea de los anticuerpos sin haber realizado cambios en la dieta. El descenso de ambos anticuerpos, en algunos casos precedido de un ascenso transitorio, fue progresivo a lo largo del tiempo, lo que excluye la posibilidad de error en la técnica de determinación, como se ha comprobado en otros estudios¹⁰². En nuestra cohorte se produjo una seronegativización en el 52,6% del grupo de despistaje y en el 42,3% del total de la cohorte de riesgo. Este elevado porcentaje es similar al descrito por Simell y cols³³, aunque en este caso los autores destacan que los niños que experimentaron esta negativización presentaban elevaciones moderadas de anti-TG2. En el estudio de Lionetti y cols¹⁷⁴, realizado en niños con EC potencial, hermanos de pacientes celíacos, el 86% perdió de forma espontánea la autoinmunidad a los dos años de seguimiento. En sus resultados, los niveles de anti-TG2 de los niños con EC potencial eran significativamente inferiores a los de aquellos que tuvieron lesión en la biopsia intestinal. Nuestros pacientes negativizaron la serología en un tiempo máximo de 22 meses. Los niños con EC potencial precisaron un periodo más largo que los niños con autoinmunidad celíaca, en probable relación con los niveles de anticuerpos más elevados del primer grupo. Sandstrom y cols¹⁷⁵ han publicado recientemente un estudio de despistaje de EC en población general de niños de 12 años de edad. Observaron que todos los participantes con cifras de TG2-IgA superiores a 10 veces el valor de referencia presentaron lesión en la biopsia intestinal. Sin embargo, en nuestra serie, 4 de los 11 niños con seronegativización habían presentado niveles de anti-TG2 superiores a 10 veces el límite de la normalidad. Además, en todos ellos los EMA eran positivos,

anticuerpos muy específicos y considerados de confirmación en el diagnóstico, al menos en pacientes sintomáticos. Aggarth y cols.¹⁰² valoraron la evolución de los anticuerpos de la EC en niños detectados por despistaje y concluyeron que títulos de EMA iguales o superiores a 1:80 tendían a persistir. Sin embargo, en nuestros resultados 3 de los 5 niños con EC potencial y posterior negativización de los anticuerpos presentaron valores de EMA iguales o superiores a esta cifra. Por tanto, en nuestro estudio los niveles de anticuerpos no nos permitieron identificar con seguridad a todos los niños con lesión intestinal. Sin embargo, de nuestros datos se desprende, que si hubiéramos endurecido los criterios serológicos para la realización de la biopsia intestinal, exigiendo la positividad de ambos anticuerpos a títulos elevados, se hubieran evitado tres biopsias normales, sin haber perdido ningún diagnóstico de EC. Por otra parte, la determinación de los EMA con sus diluciones correspondientes requiere personal experimentado por la dificultad en su interpretación. Por este motivo, y dado que son pacientes mayoritariamente asintomáticos, algunos autores recomiendan repetir la serología con un intervalo de 6 meses antes de proceder a realizar la biopsia intestinal, con el fin de evitar biopsias innecesarias¹⁷⁶

En el estudio previo de despistaje que realizó nuestro grupo en población escolar, sólo 1 de los 15 niños con serología positiva tuvo una biopsia intestinal normal.²³ En el efectuado en Finlandia¹⁸, 7 de los 43 niños (16%) en edad escolar con serología positiva habían perdido los autoanticuerpos cuando fueron revalorados 7 años después. Aunque esta autoinmunidad transitoria dependiente de los alelos de riesgo puede aparecer a cualquier edad, parece un fenómeno más marcado en el niño pequeño. Por ello, los estudios de prevalencia, sobre todo los efectuados en edades tempranas, deberían basarse en la constatación de lesión en la biopsia intestinal puesto que, de lo contrario, los resultados pueden estar sobreestimados.

A diferencia de otros estudios de despistaje en población de riesgo, hemos efectuado un seguimiento a largo plazo de los niños que perdieron la autoinmunidad celíaca constatando que, tras 6 años, se mantienen asintomáticos y con serología persistentemente negativa.

4. Factores epidemiológicos relacionados con el desarrollo de la EC

La pérdida de tolerancia al gluten que define a la EC se produce por una interacción desfavorable entre genes de predisposición y factores ambientales que desencadena una respuesta inmune inadecuada en la mucosa del intestino delgado¹⁷⁷. En la actualidad se están estudiando diversos factores ambientales, diferentes a la ingesta de gluten, con el fin de poder establecer, si fuera posible, estrategias de prevención de esta enfermedad. Ha sido también objetivo de nuestro estudio la valoración de posibles factores epidemiológicos implicados en el desarrollo de la EC en una cohorte que comparte una genética de riesgo común. Observamos que el género femenino y la introducción del gluten tras la retirada de la lactancia materna aumentan el riesgo en nuestra serie.

Exceptuando el estudio de despistaje multicéntrico europeo de Mustalathi²² en el que no se observa predominio de género, en la mayoría de los efectuados el porcentaje del género femenino se sitúa entre el 60%¹⁹ y el 70%³¹. El predominio del género femenino en nuestra serie, que alcanzó el 80%, ya fue evidente en el grupo con serología positiva. En los pacientes con EC confirmada, el riesgo de las niñas fue 5,7 veces mayor. Hoffenberg y cols también valoraron este factor y el riesgo en su caso fue 3,3 veces superior. Como ocurre en la mayoría de las enfermedades autoinmunes, la prevalencia de la EC es mayor en el género femenino, aunque no existen razones claras que justifiquen esta diferencia. Se piensa que las niñas podrían ser genéticamente más vulnerables que los varones a los factores ambientales que influyen en los procesos

inmunológicos que conducen a la enfermedad.¹⁷⁸ En un estudio reciente se ha podido observar que la frecuencia de los haplotipos de riesgo era mayor en las mujeres, mientras que la mayoría de los celíacos no portadores de estos haplotipos eran varones¹⁷⁹. Este hecho, aunque en discusión¹⁸⁰, si se confirmara podría justificar el gran predominio de niñas observado en nuestro estudio por haber incluido sólo niños con una base genética de predisposición a la EC.

En los últimos años ha aumentado el interés por la valoración de posibles factores ambientales en el desarrollo de la EC y, en particular, a raíz del estudio de Ivarsson y cols.³⁴ El aumento dramático en el número de casos diagnosticados en Suecia en niños menores de 2 años, la llamada “epidemia sueca”, que se inició a mediados de los años 80, fue relacionada con cambios en la alimentación del lactante, en concreto con un retraso en la introducción del gluten de los 4 a los 6 meses y un aumento en la ingesta del mismo. En 1996 se emitieron en ese país nuevas recomendaciones estableciéndose que la introducción del gluten se efectuaría de forma progresiva entre los 4 a los 6 meses y, preferiblemente, mientras el niño estuviera con lactancia materna. Tras la puesta en marcha de estas medidas se observó una disminución rápida en el número de diagnósticos de EC. La valoración de los factores epidemiológicos implicados en estos hechos concluyó que el 45% de los casos de EC se hubieran prevenido si se hubiera introducido el gluten en pequeñas cantidades mientras el niño aún estaba lactando³⁵. Revisiones sistemáticas posteriores de los estudios sobre el papel de la alimentación del lactante en el desarrollo de la EC^{36, 181} apoyan el papel protector de la lactancia materna durante la introducción del gluten, aunque aún no está completamente aclarado si se trata de una protección permanente o sólo de un retraso en el inicio de los síntomas. Además, se desconocen los mecanismos a través de los cuales

se desarrolla esta protección. Recientemente se ha estudiado de forma secuencial la microbiota intestinal en lactantes genéticamente predispuestos a la EC en los primeros 4 meses de vida para valorar su composición en relación con el tipo de lactancia y el HLA-DQ¹⁸². Los resultados sugieren que el genotipo HLA-DQ influye en el patrón de colonización independientemente del tipo de lactancia, pudiendo ser un factor adicional en el desarrollo de la EC. Se observó un menor número de *Bifidobacterium spp* en los lactantes con predisposición genética y en los lactados con fórmula. Por el contrario, en los niños alimentados con lactancia materna el contaje de estas bacterias saprofitas fue superior. Se concluye que la leche materna, con el aporte de estas bifidobacterias, modificaría la microbiota de los lactantes con riesgo genético y que este hecho podría explicar, al menos en parte, el papel protector de la lactancia materna en el desarrollo de la EC.

La mayoría de los estudios que valoran el efecto de la lactancia materna sobre la EC se han llevado a cabo en poblaciones no seleccionadas por riesgo. El seguimiento de nuestra cohorte ofrece la oportunidad de valorar posibles factores de riesgo que pudieran influir en el desarrollo de la misma. Los niños celíacos pueden ser comparados con niños que comparten una genética común pero con serología negativa, de la misma localización geográfica, que han nacido en el mismo hospital y son atendidos por pediatras que utilizan protocolos similares para la promoción de la lactancia materna y la introducción de la alimentación complementaria.

En nuestra serie la frecuencia de la lactancia materna fue similar en casos y controles. La duración de la misma, aunque superior en los controles, no alcanzó el nivel de significación, en probable relación con el pequeño tamaño de la muestra. Sin

embargo, los niños en los que se introdujo el gluten mientras se alimentaban con lactancia materna presentaron un menor riesgo de desarrollar la enfermedad. Este hecho, encontrado en estudios retrospectivos realizados en enfermos celíacos³⁵, no se ha observado en los dos estudios efectuados en cohortes con riesgo genético en los que se ha valorado prospectivamente la introducción de gluten en la dieta^{37, 183}. En ellos no se encontraron diferencias significativas en la duración de la lactancia materna y/o coincidencia de la misma con la introducción del gluten. Archer y cols¹⁸³ valoraron 8 hermanos de pacientes celíacos por lo que el escaso tamaño de la muestra podría influir sobre las conclusiones finales. Norris y cols³⁷ incluyeron en su estudio, además de los niños con riesgo genético, niños con un hermano, padre o madre con diabetes tipo 1, independientemente de su genotipo HLA. Por tanto, existe la posibilidad de haber incluido niños sin riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad. Además, algunos pacientes fueron diagnosticados por serología positiva sin biopsia intestinal, por lo que no hay seguridad de que todos los pacientes valorados fueran realmente celíacos.

Otro de los factores epidemiológicos estudiados ha sido el tipo de parto. Recientemente se ha relacionado el parto por cesárea con un aumento en el riesgo de desarrollar la EC⁴². Los niños nacidos por cesárea presentan un menor número de bifidobacterias, así como un menor número total de bacterias en la composición de su microbiota intestinal cuando los comparamos con los niños nacidos por parto vaginal. Esta alteración de la composición y actividad metabólica de la microbiota parece influir en la respuesta inmune del huésped. Se ha observado que estos niños muestran una inmunorespuesta humoral no específica más intensa y se especula que esto tendría relación con la existencia de una barrera intestinal más vulnerable que permitiría una excesiva exposición antigénica.⁴¹ En nuestra cohorte, el parto por cesárea fue más

frecuente en los niños celíacos, pero no alcanzó el nivel de significación. En un amplio estudio prospectivo en el que se valoró el tipo de parto en 11.749 celíacos, se encontró una relación positiva con la cesárea electiva pero no con la cesárea urgente ni con el parto por cesárea globalmente considerado. La relación hallada, aunque significativa, fue modesta (OR: 1,5)¹⁸⁴. Al contrario de lo que ocurre en la cesárea urgente, en la electiva, que tiene lugar antes del comienzo del parto y, por consiguiente, previa a la ruptura de la bolsa amniótica, el niño no tiene contacto con el canal del parto ni con la flora vaginal materna. Esta situación podría favorecer el desarrollo de un patrón inicial de colonización intestinal atípico en el niño, que sustentaría la base de una futura respuesta anómala a los estímulos antigénicos.

5. Controversias en el despistaje poblacional de la EC

La conveniencia de efectuar un despistaje universal de la EC sigue siendo un tema polémico en la actualidad.^{185,186,187,188} Los autores a favor consideran que los individuos con formas de EC asintomáticas y subclínicas, que permanecen sin diagnosticar, están en riesgo de desarrollar complicaciones a largo plazo como enfermedades autoinmunes, infertilidad, osteoporosis y enfermedades malignas intestinales. El diagnóstico de estos pacientes no sólo mejoraría su calidad de vida si no que favorecería la prevención de las complicaciones¹⁸⁶. Además, es una enfermedad que cumple los criterios de la OMS para estudios de despistaje poblacional: 1) en muchos casos es difícil de detectar la enfermedad de manera temprana por la clínica; 2) es una enfermedad común en el mundo; 3) los test de despistaje son muy sensibles y específicos de manera que la serología junto con el estudio genético HLA DQ2/DQ8 llegan prácticamente al 100% de sensibilidad y especificidad en población de riesgo y al 70-75% en población general; 4) se dispone de un tratamiento efectivo y 5) en pacientes no tratados pueden aparecer las complicaciones anteriormente citadas¹⁸⁹.

Los autores en contra consideran que se desconoce si todos estos efectos negativos se producen realmente en individuos con EC subclínica, y si pueden ser modificados mediante la dieta sin gluten. Otras razones serían el escaso conocimiento sobre la historia natural de la enfermedad, la pobre adherencia a la dieta en estos pacientes, el elevado coste de la dieta sin gluten y el efecto psicológicamente adverso de haber sido diagnosticado de una “enfermedad”. Por todo ello, recomiendan la búsqueda activa de casos frente al despistaje poblacional. Sin embargo, en contra de este razonamiento se encuentra el hecho de que el cribado de EC en los grupos conocidos de riesgo no parece contribuir de forma significativa a sacar a flote el “iceberg celíaco”¹⁹⁰.

Por otra parte, la calidad de vida de los adolescentes celíacos detectados en estudios epidemiológicos de despistaje parece ser similar a la de la población general de la misma edad ^{191, 192}.

Aunque en el momento actual existen unos test serológicos altamente eficaces en el diagnóstico de EC, hay cuestiones aún no resueltas cuando se aplican a un despistaje poblacional. No hay un test único o combinación de varios que identifique de forma certera a todos los celíacos y evite la realización de biopsias innecesarias. Aunque en algunos estudios los valores elevados de anti-TG2 identificaron a todos los niños con lesión intestinal ¹⁷⁵, en el nuestro, efectuado en niños de menor edad no fue así, incluso presentando al mismo tiempo EMA positivos. Tampoco existe consenso sobre la edad en la que debe tener lugar el despistaje, dado que es una enfermedad evolutiva que puede aparecer en cualquier momento de la vida. Si se realiza en edades tempranas se efectuarán probablemente biopsias innecesarias, ya que en un elevado porcentaje de niños pequeños la serología tiende a fluctuar y a negativizarse. Si se realiza más tarde, es probable que el niño escolar tenga más dificultades en el seguimiento de la dieta ¹⁹³, aunque otros autores encuentran un seguimiento mayoritario en estos niños ¹⁹¹.

A pesar de las cuestiones aun no resueltas, nadie duda, en el momento actual, que el despistaje de EC debe ser efectuado en pacientes de riesgo, como son los familiares de primer grado de enfermos celíacos. Estos niños, al igual que la mayoría de los individuos valorados en los estudios de despistaje, son mayoritariamente asintomáticos y también se desconoce en ellos la historia natural de la enfermedad.

6. Limitaciones del estudio

No fue posible la determinación del HLA DQ8 por limitaciones de personal y presupuesto, por lo que las cifras obtenidas estiman la mínima frecuencia de EC en la población estudiada. Sin embargo, pensamos que la inclusión de este haplotipo no habría modificado de forma sustancial los resultados finales. En nuestro país, el porcentaje de celíacos que portan exclusivamente el HLA-DQ8 en series publicadas de diferentes localizaciones geográficas es inferior al 1%^{53,54}. En un registro reciente efectuado en 2006, a nivel nacional, sobre una amplia muestra de niños celíacos españoles, la frecuencia de portadores del HLA-DQ8 fue del 2.3% (en prensa), cifra similar a la encontrada en un estudio realizado en la década de los 90⁴⁶.

Por otra parte, el escaso tamaño de la muestra, debido al inesperado elevado porcentaje de seronegativización en el grupo de despistaje, ha restado poder estadístico al estudio de los factores de riesgo, por lo que estos resultados deben ser tomados con cautela.

VI. CONCLUSIONES

1. En nuestra serie, el 10% de los niños de 2 a 3 años de edad portadores del haplotipo HLA-DQ2 presentaron autoinmunidad celíaca. La prevalencia de enfermedad celíaca confirmada en esta cohorte de riesgo fue de 5,7%. La prevalencia estimada en la población general estudiada fue de 1,1%.
2. El espectro clínico completo de la EC se caracterizó por síntomas digestivos con o sin anemia ferropénica en más de mitad de los pacientes, escasa ganancia ponderal sin síntomas digestivos en el 7% y fueron asintomáticos la tercera parte. En el grupo de despistaje, una tercera parte presentó distensión abdominal con o sin anemia ferropénica como signos y síntomas a considerar en esta población mayoritariamente asintomática.
3. El aumento significativo del Z score de peso al año del tratamiento en el grupo de despistaje podría indicar que estos niños, a pesar de la ausencia de síntomas, se benefician de la retirada del gluten de su dieta.
4. Debido al elevado porcentaje de autoinmunidad celíaca transitoria en nuestros pacientes podemos concluir que el estudio de despistaje de EC entre los 2 y 3 años de edad puede llevar a la realización de biopsias intestinales normales.
5. La utilización de criterios más estrictos que requieran la positividad de ambos anticuerpos a títulos altos podría disminuir el número de biopsias normales en este tipo de estudio.

6. Tras 6 años de seguimiento, los niños que presentaron tanto EC potencial como autoinmunidad celíaca se mantienen asintomáticos y con serología persistentemente negativa.

7. Como en la mayoría de los estudios de despistaje, se constata, en nuestra serie, un mayor riesgo de EC en el género femenino.

8. En nuestra cohorte, la coincidencia de la lactancia materna con la introducción del gluten parece conferir un efecto protector en el desarrollo de la enfermedad.

VII. BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Adams F. The extant Works of Aretaeus, the Cappaodocian. Lodon : Sydenham Society; 1856.
 - ² Gee J. On the coeliac affection. St. Bartholomew`s Hospital Report 1888; 24:1724:17-20.
 - ³ Dicke WK. Coeliac disease. Investigation of the harmful effects of certain types of cereal on patients with coeliac disease. Thesis, Utrecht 1950.
 - ⁴ Anderson CM, Frazer AC, French JM, Gerrand JW, Sammons HG, Smellie JM. Coeliac disease: gastrointestinal studies and the effect of dietary wheat flour. Lancet. 1952; 1: 836-42.
 - ⁵ Dicke WM, Weijers HA, Van de Kamer JK. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. Acta Pediatr. 1953; 42: 34-42.
 - ⁶ Paulley JW. Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhoea: jejunal and lymph-node biopsies. BMJ. 1954; 2: 1318-21.
 - ⁷ Crosby WH, Kugler HW. Intraluminal biopsy of the small intestine: the intestinal biopsy capsule. Am J Dig Dis. 1957; 2: 236-41.
 - ⁸ Unsworth DJ, Johnson GD, Haffenden G, Fry L, Holborow EJ Binding of wheat gliadin in vitro to reticulum in normal and dermatitis herpetiformis skin. J Invest Dermatol. 1981;76:88-93.
 - ⁹ Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. Br J Dermatol. 1984;111:395-402.

-
- ¹⁰ 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.
- ¹¹ Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology.* 1992;102:330-54.
- ¹² Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *J. Exp Med.* 1989;169:345-50.
- ¹³ Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science.* 2002; 297:2275-79.
- ¹⁴ Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. The ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis. ESPGHAN guidelines for the diagnosis of coeliac disease in children and adolescents. An evidence-based approach. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012; 54:136-60.
- ¹⁵ Polanco I. Celiac Disease. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 2008; 47: S3-S6.
- ¹⁶ Catassi C, Räscht IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, et al. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet.* 1994; 343: 200-3.
- ¹⁷ Catassi C, Räscht IM, Fabiani E, Ricci S, Bordicchia F, Pierdomenico R, et al. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in 5280 italian students screened by antigliadin antibodies. *Acta Paediatr.* 1995; 84: 672-6.

-
- ¹⁸ Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, Ilonen J, Laurila K, Dahlbom I, Hansson T, Höpfl P, Knip M. Prevalence of celiac Disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003; 348:2517-24.
- ¹⁹ Carlsson AK, Axelsson IE, Borulf SK, Bredberg AC, Ivarsson SA. Serological screening for celiac disease in healthy 2.5-year-old children in Sweden. *Pediatrics*. 2001;107:42-5.
- ²⁰ Korponay-Szabó IR, Kovács JB, Czinner A, Gorácz G, Vámos A, Szabó T. High prevalence of silent celiac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999;28:26-30.
- ²¹ Dubé C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garrity C et al. The prevalence of celiac disease in average-risk and at risk Western European populations: a systematic review. *Gastroenterology*. 2005; 128 (Suppl. 1): S57-S67.
- ²² Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med*. 2010; 42: 587-95.
- ²³ Cilleruelo ML, Román E, Jiménez J, Rivero MJ, Barrio J, Castaño A, Campelo O, Fernández A. Silent celiac disease: exploring the iceberg in School children population. *An Esp Pediatr*. 2002 ; 57:321-6.
- ²⁴ Castaño L, Blarduni E, Ortiz L, Núñez J, Bilbao JR, Rica I, Martul P, Vitoria JC. Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004;39:80-4.

-
- ²⁵ Catassi C, Rätsch IM, Gandolfi L, Pratesi R, Fabiani E, El Asmar R, et al. Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara?. *Lancet*. 1999; 354: 647–8.
- ²⁶ Catassi C, Alarida K. Another brick in the (great) wall: celiac disease in Chinese children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011; 53:359-60.
- ²⁷ Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*. 2001;120:636–51.
- ²⁸ Steens RFR, Csizmadia CGDS, George EK, Ninaber M, Sing R, Mearin ML et al. A national prospective study on childhood celiac disease in The Netherlands 1993-2000: An increasing recognition and a changing clinical picture. *J Pediatr*. 2005; 147: 239-243.
- ²⁹ Greco L, Mäki M, Di Donato F, Visakorpi JK. Epidemiology of celiac disease in Europe and the Mediaterranean Area. A Summary Report on the multicenter study by the European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. In Auricchio S, Visakorpi JK ed. *Common food intolerances I: Epidemiology of celiac disease*. *Dyn Nutr Res*. Basel. Karger. 1992; 2:25-44.
- ³⁰ Vitoria JC, Sojo A, Martín Bejarano E, Zuazo E, Corera M, Escudero F. Incidencia de la enfermedad celíaca en Vizcaya. *An Esp Pediatr*. 1991; 35: 251-53.
- ³¹ Hoffenberg EJ, MacKenzie T, Barriga KJ, Eisenbarth GS, Bao F, Haas JE et al. A prospective study of the incidence of childhood celiac disease. *J Pediatr* 2003; 143: 308-14.
- ³² Bjöck S, Brundin S, Lörinc E, Lynch KF, Agardh D. Screening detects a high proportion of celiac disease in young HLA-genotyped children. *JPGN*. 2010; 50: 49-53.

-
- ³³ Simell S, Pupila A, Hoppu S, Hekkala A, Simell T, Stahlberg MR et al. Natural history of transglutaminase autoantibodies and mucosal changes in children carrying HLA-conferred celiac disease susceptibility. *Scand J Gastroenterol.* 2005; 40: 1182-91.
- ³⁴ Ivarsson A, Persson LA, Nyström L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr.* 2000; 89: 165-71.
- ³⁵ Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75: 914-21.
- ³⁶ Akonberg AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child.* 2006; 91:39-43.
- ³⁷ Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Has JE, et al. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet in infants at increased risk of disease. *JAMA.* 2005; 293:2343-51.
- ³⁸ Agostoni C, Decsi T, Fewtrell M, Goulet O, Kolacek S, Koletzko B, et al. ESPGHAN Committee on Nutrition: Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008; 46:99-110.
- ³⁹ Plot L, Amital H. Infectious associations of Celiac disease. *Autoimmun Rev.* 2009;8:316-19.
- ⁴⁰ Welander A, Tjernberg AR, Montgomery SM, Ludvigsson J, Ludvigsson JF. Infectious disease and risk of later celiac disease in childhood. *Pediatrics.* 2010; 125: e530-e6.
- ⁴¹ Huurre A, Kalliomäki M, Rautava S, Rinne M, Salmien S, Isolauri E. Mode of delivery-effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology.* 2008; 93: 236-40.

-
- ⁴² Decker E, Engelmann G, Findeisen A, Gerner P, Laab M, Ney D, et al. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. *Pediatrics*. 2010; 125: e1433-e40.
- ⁴³ Sturges RP, Ellis HJ, Ciclitira PJ. Cereal chemistry, molecular biology and toxicity in celiac disease. *Gut*. 1991; 32: 1055-60.
- ⁴⁴ Shewry PR, Halford NG. Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in the grain utilization. *J Exp Bot*. 2003; 53: 943-95.
- ⁴⁵ Spurkland A, Ingvarsson G, Flak ES, Knutsen I, Sollid LM, Thorsby E. Dermatitis herpetiformis and celiac disease are both primarily associated with the HLA-DQ (alpha 1*0501, beta 1*02) or the HLA-DQ (alpha 1*03, beta 1*0302) heterodimers. *Tissue Antigens*. 1997; 49: 29-34.
- ⁴⁶ Polvi A, Arranz E, Fernández-Arquero M, Collin P, Maki M, Sanz A et al. HLA-DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol*. 1998; 59: 169-75.
- ⁴⁷ Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetic Cluster on celiac disease. *Hum Immunol*. 2003; 64:469-77.
- ⁴⁸ Arranz E, Tellería JJ, Sanz A, Martín JF, Alonso M, Clavo C et al. HLA-DQA1*0501 and HLA-DQB1*02 homozygosity and disease susceptibility in Spanish coeliac patients. *Exp Clin Immunogenet*. 1997; 14:286-90.
- ⁴⁹ Bourgey M, Calcagno G, Tinto N, Gennarelli D, Margaritte-Jeanin P, Greco L et al. HLA related genetic risk for coeliac disease. *Gut*. 2007; 56:1054-59.

-
- ⁵⁰ Petronzelli F, Bonamico M, Ferrante P, Grillo R, Mora B, Mariani P, et al. Genetic contribution of the HLA region to the familial clustering of coeliac disease. *Ann Hum Genet.* 1997; 61:307-17.
- ⁵¹ Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut.* 2002; 50: 624-28.
- ⁵² Buboys PC, van Heel DA. Translational mini-review series on the immunogenetics of gut disease: immunogenetics of celiac disease. *Clin Exp Immunol.* 2008; 153: 162-73.
- ⁵³ Zubillaga P, Vidales MC, Zubillaga I, Ormaechea V, García N, Vitoria JC. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 genetic markers and clinical presentation in celiac disease. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 2002; 34: 548-54.
- ⁵⁴ Peña L, Torres MJ, Déniz MC, Ortigosa L, Ramos JC, Calvo F et al. Assessment of the DQ heterodimer test in the diagnosis of celiac disease in the Canary Islands (Spain). *J Ped Gastroenterol Nutr.* 2003; 37: 604-8.
- ⁵⁵ Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Montuori M, Viola F, et al. HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: Evidence for gender differences and parent-of-origin effects. *Am J Gastroenterol.* 2008; 103; 997-1003.
- ⁵⁶ Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science.* 2002; 297: 2275-9.
- ⁵⁷ Shan L, Qiao SW, Arentz-Hansen H, Molberg O, Gray GM, Sollid LM, et al. Identification and analysis of multivalent proteolytically resistant peptides from gluten: implications for celiac sprue. *J Proteome Res.* 2005; 4: 1732-41.
- ⁵⁸ Jabri B, Sollid LM. Mechanisms of disease: Immunopathogenesis of celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2006; 3: 516-25.

-
- ⁵⁹ Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S et al. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet*. 2003; 362: 30-7.
- ⁶⁰ Kagnoff MF. Celiac disease: Pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest*. 2007; 117: 41-9.
- ⁶¹ Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewel DP, Hill AV. In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nat Med*. 2000; 6: 337-42.
- ⁶² Arentz-Hansen H, McAdam SN, Molberg O, Fleckenstein B, Lundin KE, Jorgensen TJ, et al. Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline residues. *Gastroenterology*. 2002; 123: 803-9.
- ⁶³ Vader W, Kooy Y, Van Veelen P, De Ru A, Harris D, Benckhijzen W, et al. The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology*. 2002; 122: 1729-37.
- ⁶⁴ Merese B, Ripoche J, Heyman M, Cerf-Bensussan N. Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosal Immunol*. 2009; 2: 8-23.
- ⁶⁵ Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J, et al. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity*. 2004; 21: 367-77.
- ⁶⁶ Matysiak-Budnik T, Candalh C, Dugave C, Namane A, Cellier C, Cerf-Bensussan N, et al. Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology*. 2003;125:696-707.

-
- ⁶⁷ Fleckenstein B, Qiao SW, Larsen MR, Jung G, Roepstorff P, Sollid LM. Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides. *J Biol Chem.* 2004;279:17607-16.
- ⁶⁸ Molberg O, McAdam SN, Corner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med.* 1998;4:713-7.
- ⁶⁹ Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti T, Tommasini A et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet.* 2000; 358: 1518-9
- ⁷⁰ Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid M et al. Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferón gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology.* 1998; 115; 551-63.
- ⁷¹ Sollid LM, Molberg O, McAdam S, Lundin KE. Autoantibodies in coeliac disease: Tissue transglutaminase-guilt by association?. *Gut.* 1997; 41:851-2.
- ⁷² Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease--active, silent, latent, potential. *Gut.* 1993;34:150-1.
- ⁷³ Telega G, Bennet T, Werlin S. Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2008; 162: 164-8.
- ⁷⁴ Savilahti E, Kolho KL, Westerholm-Ormio M, Verkasalo M. Clinics of coeliac disease in children in the 2000s. *Acta Pædiatr.* 2010; 99:1026–30.
- ⁷⁵ Ravikumara M, Tuthill DP, Jenkins HR. The changing clinical presentation of coeliac disease. *Arch Dis Child.* 2006; 91:969–71.

-
- ⁷⁶ Garampazzi A, Rapa A, Mura S, Capelli A, Valori A, Boldorini R, et al. Clinical pattern of Celiac Disease is still changing. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 2007; 45:611–4.
- ⁷⁷ Lurz E, Scheidegger U, Spalinger J et al. Clinical presentation of celiac disease and the diagnostic accuracy of serologic markers in children. *Eur J Pediatr.* 2009; 168: 839-45.
- ⁷⁸ McGowan KE, Castiglione DA, Butzner JD. The changing face of childhood celiac disease in North America: Impact of serological testing. *Pediatrics.* 2009; 124: 1572-8.
- ⁷⁹ Roma E, Panayiotou J, Karantana H, Constantinidou C, Siakavellas SI, Krini M, Syriopoulou VP, Bamias G. Changing Pattern in the Clinical Presentation of Pediatric Celiac Disease: A 30-Year Study. *Digestión.* 2009; 80:185–91.
- ⁸⁰ Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut.* 2013;62:43-52.
- ⁸¹ Korponay-Szabó IR, Dahlbom I, Laurila K, Koskinen S, Woolley N, Partanen J, et al. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. *Gut.* 2003;52:1567-71.
- ⁸² Cataldo F, Lio D, Marino V, Picarelli A, Ventura A, Corazza GR. IgG(1) antiendomysium and IgG antitissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. Working Groups on Celiac Disease of SIGEP and Club del Tenue. *Gut.* 2000;47:366-9.
- ⁸³ O'Farrelly C, Kelly J, Hekkens W, Bradley B, Thompson A, Feighery C, et al. Alpha-gliadin antibody levels: a serological test for coeliac disease. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1983; 286: 2007-10.

-
- ⁸⁴ Farré C, Humbert P, Vilar P, Varea V, Aldeguer X, Carnicer J, et al. Serological markers and HLA-DQ2 haplotype among first-degree relatives of celiac patients. *Dig Dis Sci.* 1999; 44: 2344-9.
- ⁸⁵ Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. The diagnostic accuracy of serologic test for celiac disease: A systematic review. *Gastroenterology.* 2005; 128: S38-S46.
- ⁸⁶ Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T, Jidell E, Juto P, Olcén P, et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47:428-35.
- ⁸⁷ Koskinen O, Collin P, Korponay-Szabo I, Salmi T, Iltanen S, Haimila K, et al. Gluten dependent small bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits in overt and mild enteropathy coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47:436-42.
- ⁸⁸ Koskinen O, Collin P, Lindfors K, Laurila K, Maki M, Kaukinen K. Usefulness of small bowel mucosal transglutaminase-2 specific autoantibody deposits in the diagnosis and follow-up of celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2010;44:483-8.
- ⁸⁹ Korponay-Szabo IR, Halttunen T, Szalai Z, Laurila K, Kiraly R, Kovacs JB, et al. In vivo targeting of intestinal and extraintestinal transglutaminase 2 by coeliac autoantibodies. *Gut.* 2004;53:641-8.
- ⁹⁰ Ladinszer B, Rossipal E, Pittschieler K. Endomysium antibodies in celiac disease: an improved method. *Gut.* 1994; 35: 776-8.

-
- ⁹¹ Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24:47-54.
- ⁹² Bizzaro N, Tampoia M, Villalta D, Platzgummer S, Liguori M, Tozzoli R, et al. Low specificity of anti-tissue transglutaminase antibodies in patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Lab Anal.* 2006;20:184-99.
- ⁹³ Ferrara F, Quaglia S, Caputo I, Esposito C, Lepretti M, Pastore S, et al. Antitransglutaminase antibodies in non-coeliac children suffering from infectious diseases. *Clin Exp Immunol.* 2010;159:217-23.
- ⁹⁴ Villalta D, Bizzaro N, Tonutti E, Tozzoli R. IgG anti-transglutaminase autoantibodies in systemic lupus erythematosus and Sjogren syndrome. *Clin Chem.* 2002;48:1133.
- ⁹⁵ Dahlbom I, Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Szalai Z, Maki M, Hansson T. Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;50:140-6.
- ⁹⁶ Hill PG, Holmes GK. Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;27: 572-7.
- ⁹⁷ Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S, Arias L, Fuentes D, Alvarez N, et al. Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody titers are present. *World J Gastroenterol.* 2009;15:4775-80.
- ⁹⁸ Osman AA, Günnel T, Dietl A, Uhlig HH, Amin M, Fleckenstein B, et al. B cell epitopes of gliadin. *Clin Exp Immunol.* 2000; 121: 248-54.

-
- ⁹⁹ Schwertz E, Kahlenberg F, Sack U, Richter T, Stern M, Conrad K, et al. Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. *Clin Chem.* 2004;50:2370-5.
- ¹⁰⁰ Prause C, Ritter M, Probst C, Daehnrich C, Schlumberger W, Komorowski L, et al. Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;49:52-8.
- ¹⁰¹ Lewis NR, Scott BB. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31:73-81.
- ¹⁰² Agardh D. Using radioligand-binding assays to measure tissue transglutaminase autoantibodies in young children. *Acta Paediatr* 2004; 93: 1046-1051.
- ¹⁰³ Liu E, Li M, Emery L, Taki I, Barriga K, Tiberti C, et al. Natural history of antibodies to deamidated gliadin peptides and transglutaminase in early childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;45:293-300.
- ¹⁰⁴ Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, et al. IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. *Clin Chem.* 2010; 56: 464-8.
- ¹⁰⁵ Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, Laurila K, Collin P, Kovacs JB, et al. Self transglutaminase-based rapid coeliac disease antibody detection by a lateral flow method. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24:147-54.
- ¹⁰⁶ Baviera LC, Aliaga ED, Ortigosa L, Litwin N, Pena-Quintana L, Mendez V, et al. Celiac disease screening by immunochromatographic visual assays: results of a multicenter study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;45: 546-50.

¹⁰⁷ Korponay-Szabo IR, Szabados K, Pusztai J, Uhrin K, Ludmany E, Nemes E, et al. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *BMJ*. 2007; 335:1244-7.

¹⁰⁸ Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, et al. Accuracy of diagnostic antibody for coeliac disease in children: Summary of an evidence report. *Test. J. Pediatric Gastroenterol Nutr*. 2012; 54: 229-41.

¹⁰⁹ Hoffenberg EJ, Bao F, Eisenbarth GR, Uhlhorn C, Hoas JE, Sokol RJ et al. Transglutaminase antibodies in children with a genetic risk for celiac disease. *J. Pediatr*. 2000; 137: 356-60.

¹¹⁰ Hoffenberg EJ. Should all children be screened for celiac disease?. *Gastroenterology*. 2005; 128: S98-S103.

¹¹¹ Ravelli AM, Bolognini S, Gambarotti M, Villanacci V. Variability of histologic lesions in relation to biopsy site in gluten-sensitive enteropathy. *Am J Gastroenterol* 2005; 100:177-85.

¹¹² Bonamico M, Thanasi E, Mariani P, Nenna R, Luparia RP, Barbera C, et al. Duodenal bulb biopsies in celiac disease: a multicenter study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;47:618-22.

¹¹³ Rashid M, MacDonald A. Importance of duodenal bulb biopsies in children for diagnosis of celiac disease in clinical practice. *BMC Gastroenterol*. 2009;9:78.

¹¹⁴ Weir DC, Glickman JN, Roiff T, Valim C, Leichtner AM. Variability of histopathological changes in childhood celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2010;105:207-12.

-
- ¹¹⁵ Ravelli A, Villanacci V, Monfredini C, Martinazzi S, Grassi V, Manenti S. How Patchy Is Patchy Villous Atrophy?: Distribution Pattern of Histological Lesions in the Duodenum of Children With Celiac Disease. *Am J Gastroenterol*. 2010; 2103-10.
- ¹¹⁶ Corazza GR, Caletti GC, Lazzari R, Collina A, Brocchi E, Di Sario A, et al. Scalloped duodenal folds in childhood celiac disease. *Gastrointestinal Endosc*. 1993; 39: 543-5.
- ¹¹⁷ Ravelli AM, Tobanelli P, Minelli L, Villanacci V, Cestari R, et al. Endoscopic features of celiac disease in children. *Gastrointestinal Endosc*. 2001; 54: 736-42.
- ¹¹⁸ Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1999;11:1185-94.
- ¹¹⁹ Biagi F, Bianchi PI, Campanella J, Badulli C, Martinetti M, Klersy C, et al. The prevalence and the causes of minimal intestinal lesions in patients complaining of symptoms suggestive of enteropathy: a follow-up study. *J Clin Pathol*. 2008;6:1116-8.
- ¹²⁰ Kakar S, Nehra V, Murray JA, Dayharsh GA, Burgart LJ. Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosal architecture. *Am J Gastroenterol*. 2003;98:2027-33.
- ¹²¹ Eiras P, Roldan E, Camarero C, Olivares F, Bootello A, Roy G. Flow cytometry description of a novel CD3-/CD7+ intraepithelial lymphocyte subset in human duodenal biopsies: potencial diagnostic value in coeliac disease. *Cytometry*. 1998; 34:95-102.
- ¹²² Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol*. 2003; 64: 469-77.

-
- ¹²³ Richtlijn Coeliakie en Dermatitis Herpetiformis. Kwaliteitsinstituut voor de Gezondheidszorg CBO. Haarlem, The Netherlands: Nederlandse Vereniging van Maag-Darm. Leverartsen; 2008.
- ¹²⁴ Meeuwisse G.W. Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Paediatr Scand.* 1969; 59: 461-3.
- ¹²⁵ Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, et al. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child.* 1990; 65: 909-11.
- ¹²⁶ Vecsei A, Arenz T, Heilig G, S, Bufler P, Koletzko S. Influence of age and genetic risk on anti-tissue transglutaminase IgA titers. *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 48; 544-9.
- ¹²⁷ Kupper c. Dietary Guidelines and Implementation for Celiac Disease. *Gastroenterology* 2005;128 (4 Suppl 1):S121-7.
- ¹²⁸ Pietzak MM. Follow-up of Patients with celiac disease: Achieving Compliance with Treatment. *Gastroenterology* 2005;128:S135-S141.
- ¹²⁹ Hörnell A. Living well with celiac disease?. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 2008; 47: 544-6.
- ¹³⁰ The Gluten-Free Certification Organization. <http://www.gfco.org>. Ultimo acceso Junio 2013.
- ¹³¹ Catassi C, Fabiani E, Ianono G, D'Agate C, Francavilla R, Biagi F et al. A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2007; 85: 160-6.

-
- ¹³² Mendez E, Vela C, Immer U, Janssen FW. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005; 17:1053-63.
- ¹³³ Holm K, Mäki M, Vuolteenaho N, Mustalahti K, Ashorn M, Ruuska T, Kaukinen K. Oats in the treatment of childhood coeliac disease: a 2-year controlled trial and a long-term clinical follow-up study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 23:1463-72.
- ¹³⁴ Hoberg L, Laurin P, Faith-Magnusson K, Grant C, Grodzinsky E, Jansson G, et al. Oats to children with newly diagnosed coeliac disease: A randomised double blind study. *Gut.* 2004;53:649-654.
- ¹³⁵ Hollen E, Holmgren Peterson K, Sunqvist T, Grodzinsky E, Hogberg L, Laurin P, et al. Coeliac children on a gluten-free diet with or without oats display equal anti-avenin antibody titres. *Scand J Gastroenterol.* 2006;41: 42-7.
- ¹³⁶ Rashid M, Cranney A, Zarkadas M, et al. Celiac disease: evaluation of the diagnosis and dietary compliance in Canadian children. *Pediatrics.* 2005;116:e754-9.
- ¹³⁷ Hall NJ, Rubin G, Charnock A. Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 30: 315-30.
- ¹³⁸ Tack GJ, Verbeek WHM, Schreurs MWJ, Mulder CJJ. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 7: 204-13.
- ¹³⁹ Rizzello C G, De Angelis M, Di Cagno R, Camarca A, Silano M, Losito I et al. Highly efficient gluten degradation by lactobacilli and fungal proteases during food processing: new perspectives for celiac disease. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73: 4499–507.

-
- ¹⁴⁰ Gianfrani C, Siciliano RA, Facchiano AM, Camarca A, Mazzeo MF, Costantini S, et al. Transamidation of wheat flour inhibits the response to gliadin of intestinal T cells in celiac disease. *Gastroenterology*. 2007; 133: 780–9.
- ¹⁴¹ Pinier N, Verdu EF, Nasser-Eddine M, David CS, Vézina A, Rivard N, et al. Polymeric binders suppress gliadin-induced toxicity in the intestinal epithelium. *Gastroenterology*. 2009; 136: 288–98.
- ¹⁴² Mitea C, Havenaar R, Drijfhout JW, Edens L, Dekking L, Koning F. Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastrointestinal model: implications for coeliac disease. *Gut*. 2008; 57:25-32.
- ¹⁴³ Paterson BM, Lammers KM, Arrieta C, Fasano A, Meddings JB. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007; 26: 757-66.
- ¹⁴⁴ Molberg O, McAdam S, Lundin KE, Kristiansen C, Arentz-Hansen H, Kett K, et al. T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase. *Eur. J. Immunol*. 2001; 31:1317–23.
- ¹⁴⁵ Choi K, Siegel M, Piper JL, Yuan L, Cho E, Strnad P, et al. Chemistry and biology of dihydroisoxazole derivatives: selective inhibitors of human transglutaminase 2. *Chem Biol*. 2005; 12: 469-75.
- ¹⁴⁶ Xia J, Bergseng E, Fleckenstein E, Siegel M, Kim CY, Khosla C, et al. Cyclic and dimeric gluten peptide analogues inhibiting DQ2-mediated antigen presentation in celiac disease. *Bioorg. Med.Chem*. 2007; 15: 6565–73.
- ¹⁴⁷ Keech CL, Dromey J, Chen Z, Anderson R P, McCluskey J. P. Immune tolerance induced by peptide immunotherapy in an HLA DQ2-dependent mouse model of gluten immunity [abstract 355]. *Gastroenterology*. 2009; 136 (Suppl. 1), A-57.

-
- ¹⁴⁸ Summers R W, Elliott D E, Urban J F Jr, Thompson R, Weinstock JV. *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut*. 2005; 54:87–90.
- ¹⁴⁹ Yokohama S, Watanabe N, Sato N, Perera PY, Filkoski L, Tanaka T et al. Antibody-mediated blockade of IL-15 reverses the autoimmune intestinal damage in transgenic mice that overexpress IL-15 in enterocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106: 15849-54.
- ¹⁵⁰ Ciacci C, Maiuri L, Russo I, Tortora R, Bucci C, Cappello C, et al. Efficacy of budesonide therapy in the phase of treatment of adult coeliac disease patients with malabsorption: an in vivo/in Vitro pilot study. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009; 36: 1170-6.
- ¹⁵¹ Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F et al. . Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology*. 2009; 137:88-93.
- ¹⁵² Garrido A, Luque A, Vázquez A, Hernández JM, Alcántara F, Márquez JL. Primary small bowel neoplasms as a complication of celiac disease. *Gastroenterol Hepatol*. 2009; 32: 618-21.
- ¹⁵³ Kolacek S, Jadresin O, Petković I, Misak Z, Sonicki Z, Booth IW. Gluten-free diet has a beneficial effect on chromosome instability in lymphocytes of children with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004; 38:177-80.
- ¹⁵⁴ Tio M, Cox MR, Eslick GD. Meta-analysis: coeliac disease and the risk of all-cause mortality, any malignancy and lymphoid malignancy. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 540–51.

-
- ¹⁵⁵ Hin H, Bird G, Fisher P. Coeliac disease in primary care: case finding study. *BMJ*. 1999; 318:164-7.
- ¹⁵⁶ Fasano A. European and North American populations should be screening for coeliac disease. *Gut*. 2003; 52: 168-9.
- ¹⁵⁷ WHO mass screening recommendations: <http://www.who.int/en/>. Último acceso Septiembre 2013.
- ¹⁵⁸ Rewers M, Bugawan TL, Norris JM, Blair A, Beaty B, Hoffman M et al. Newborn screening for HLA markers associates with IDDM: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetologia*. 1996; 39: 807-12.
- ¹⁵⁹ Olerup O, Aldener A, Fogdell A. HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens*. 1993;41:119-34.
- ¹⁶⁰ WHO multicentre growth reference study group. The WHO child growth standards, length/height-for-age, weight-for-age, weight-for length, weight for height, body mass index-for-age: Methods and development. Genève: World Health Organization; 2006.
- ¹⁶¹ Hill PG, Holmes GK. Coeliac Disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27: 572-7.
- ¹⁶² Csizmadia CG, Mearin ML, Oren A. Accuracy and cost-effectiveness of a new strategy to screen for celiac disease in children with Down syndrome. *J Pediatr*. 2000;137:756-61.
- ¹⁶³ Burgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic et al. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child*. 1991; 66: 941-7.

-
- ¹⁶⁴ Mankai A, Sakly W, Landolsi H et al. Tissue tansglutaminase antibodies in celiac disease, comparison of an enzyme linked immunosorbent assay and a dot blot assay. *Pathol Biol.* 2005; 53: 204-9.
- ¹⁶⁵ Fabiani E, Catassi C. The serum IgA class anti-tissue tansglutaminase antibodies in the diagnosis and follow up of coeliac disease. Results of an international multi-centre study. International Working Group on Eu-tTG. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001; 13: 659-65.
- ¹⁶⁶ Maglio M, Tosco A, Paparo F et al. Sewrum and intestinal celiac disease-associated antibodies in children with celiac disease younger than 2 years of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010; 50:43-48.
- ¹⁶⁷ Karagiozoglou-Lampoudi T, Zellos A, Vlahavas G . Screening for coeliac disease in preschool Greek children: the feasibility study of a community-based project. *Acta Paediatr.* 2013;102:749-54.
- ¹⁶⁸ Bao F, Yu L, Babu S, Wang T, Hoffenberg EJ, Rewers M et al. One third of HLA-DQ2 homozygous patients with type 1 diabetes express celiac disease –associated transglutaminase autoantibodies. *J Autoimmun.* 1999; 13: 143-8.
- ¹⁶⁹ Ress K, Luts K, Rägo T, Pisarev H, Uibo O. Nationwide study of childhood celiac disease incidence over a 35-year period in Estonia. *Eur J Pediatr* 2012; 171: 1823-8.
- ¹⁷⁰ White LE, Merrick VM, Bannerman E, Russell RK, Basude D, Henderson P, et al. The rising incidence of celiac disease in Scotland. *Pediatrics* 2013; 132: e924-e31
- ¹⁷¹ Ludvigsson JF, Rubio-Tapia A, van Dyke CT, Melton LJ, Zinsmeister AR, Lhar BD et al. Increasing incidence of celiac disease in a North American population. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 818-24
- ¹⁷² Nenna R, Tiberti C, Petrarca L, Lucantoni F, Mennini M, Luparia RP et al. The celiac iceberg: characterization of the disease in primary schoolchildren. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013; 56:416-21

-
- ¹⁷³ Hoffenberg EJ, Emery LM, Barriga KJ. et al. Clinical features of children with screening-identified evidence of celiac disease. *Pediatrics*. 2004;113:1254-9.
- ¹⁷⁴ Lionetti E, Castellaneta S, Pulvirenti A et al. Prevalence and natural history of potential celiac disease in at-family-risk infants prospectively investigated from birth. *J Pediatr*. 2012;161:908-14.
- ¹⁷⁵ Sandström O, Rosén A, Lagerqvist C et al. Transglutaminase IgA antibodies in a celiac disease mass screening and the role of HLA-DQ genotyping and endomysial antibodies in sequential testing. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;57:472-6.
- ¹⁷⁶ Hogen Esch CE, Csizmadia GDS, Van Hoogstraten IMW, Schreurs MWJ, Mearin ML, Von Blomberg BME. Childhood coeliac disease: towards an improved serological mass screening strategy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 31: 760-6.
- ¹⁷⁷ Jabri B, Kasarda DD, Green PH et al. Innate and adaptive immunity: the yin and yang of celiac disease. *Immunol Rev*. 2005; 206: 219-231.
- ¹⁷⁸ Ivarsson A, Persson LA, Nyström L, Hernell O. The Swedish coeliac disease epidemic with a prevailing twofold higher risk in girls compared to boys may reflect gender specific risk factors. *Eur J Epidemiol*. 2003; 18:677-84.
- ¹⁷⁹ Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Montuori M, Viola F. et al. HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: evidence for gender differences and parent-of-origin effects. *Am J Gastroenterol*. 2008 ;103: 997-1003.
- ¹⁸⁰ Dubois P, Hunt K, van Heel D. Sex differences in HLA DQ in celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2009;104:784.

¹⁸¹ Szajewska H, Chmielewska A, Pieścik-Lech M, et al. PREVENTCD Study Group. Systematic review: early infant feeding and the prevention of coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;36:607-18.

¹⁸² Palma GD, Capilla A, Nova E, et al. Influence of milk-feeding type and genetic risk of developing coeliac disease on intestinal microbiota of infants: the PROFICEL study. *PLoS One.* 2012;7:e30791.

¹⁸³ Ascher H, Krantz I, Rydberg L, et al. Influence of infant feeding and gluten intake on coeliac disease. *Arch Dis Child.* 1997;76:113-7.

¹⁸⁴ Mårild K, Stephansson O, Montgomery S, et al. Pregnancy outcome and risk of celiac disease in offspring: a nationwide case-control study. *Gastroenterology.* 2012; 42:39-45.

¹⁸⁵ Evans KE, McAllister R, Sanders DS. Should we screen for celiac disease? No. *BMJ.* 2009; 339:b3674.

¹⁸⁶ Fasano A. Should we screen for celiac disease? Yes. *BMJ.* 2009; 339: b3592.

¹⁸⁷ Hill ID. Screening for celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57:414-5.

¹⁸⁸ Catassi C, Lionetti E. Case finding for celiac disease is okay, but is it enough? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57:415-7.

¹⁸⁹ Wilson JM, Jungner YG. Principles and practice of mass screening for disease. *Public Health Papers Geneva: WHO,* 1968:34.

¹⁹⁰ Størdal K, Bakken IJ, Surén P, Stene LC. Epidemiology of coeliac disease and comorbidity in Norwegian children. *J Pediatric Gastroenterol Nutr.* 2013; 57:467-71.

¹⁹¹ Van Koppen EJ, Schweizer JJ, Csizmadia CGDS, Krom Y, Hylkema HB, Van Geel AM et al. Long-term health and quality-of-life consequences of mass screening for childhood celiac disease: a 10-year follow-up study. *Pediatrics*. 2009; 123:e582-8.

¹⁹² Nordyke K, Norström F, Lindholm L, Stenlund H, Rosén A, Ivarsson A. health-related quality of life in adolescents with screening-detected celiac disease, before and one year after diagnosis and initiation of gluten-free diet, a prospective nested case-referent study. *BMC Public Health*. 2013; 13:142.

¹⁹³ Fabiani E, Catassi C, Villari A, Gismondi P, Pierdomenico R, Räscht IM et al. Dietary compliance in screening-detected coeliac disease adolescents. *Acta Paediatr Suppl*. 1996; 412:65-7.