



UNIVERSIDAD DE LEÓN

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

“RESPUESTA CLÍNICA A LA INGESTA CONTROLADA DE GLUTEN EN FAMILIARES DE PRIMER GRADO DE PACIENTES CELÍACOS EN FUNCIÓN DE LA CARGA GENÉTICA”



Memoria presentada por el licenciado Luis Manuel Vaquero Ayala
para la obtención del grado de doctor por la Universidad de León

León, 2014

AGRADECIMIENTOS

Han pasado casi cinco años y todavía recuerdo como fueron mis inicios en el mundo de la investigación. Al principio tenías una gran dependencia para realizar tareas tan básicas como buscar bibliografía, pensar hipótesis de posibles temas de investigación e incluso adquirir un criterio objetivo al leer un artículo científico. Al presentar una sesión clínica los nervios te poseían, querías aportar los últimos avances y que resultara atractiva, sin embargo mis “pólipos gástricos” resultaron un verdadero desastre. Y los nervios derivados de la presentación impedían que el mensaje fuera captado. Sin embargo, con el tiempo, perseverancia y muchas horas “viviendo en el hospital con los familiares de celíacos” llegué a finalizar la tesis. Muchas son las personas que han participado en este proyecto, con su esfuerzo y confianza. A todas ellas les quiero agradecer su colaboración.

En primer lugar a Santiago Vivas, mi tutor, mi espejo en el que me gustaría reflejarme, pero sobre todo mi amigo. Me ha iniciado en el mundo de la investigación, picándome con el gusanillo de tener un pensamiento crítico, buscar respuesta a posibles hipótesis utilizando los medios que utilizamos día a día, establecer mis bases estadísticas en el sistema spss e incentivar mis ansias de conocimiento. Admiro su capacidad de trabajar siempre con buen humor incluso en los malos momentos, su dedicación docente por los que queremos empezar en este mundo enseñándonos a valorar críticamente cualquier artículo y su paciencia para enseñarnos a escribir textos científicos, en algún caso con poco éxito (como en el mío). A él le debo en gran medida los logros que he conseguido como médico. Muchas gracias por todo Santi, por darme la oportunidad de introducirme en el mundo de la celíaca, por tus consejos, ideas y tus esquemas que me han facilitado mucho el trabajo y sobre todo por tus lecciones de futuro.

En segundo lugar quiero agradecerle este trabajo a José Luis Olcoz, alias “el jefe”. Él ha sido como un padre a lo largo de estos cinco años para todos nosotros. Nos ha permitido aprovechar todas las opciones del servicio y no nos ha puesto límites a la hora de investigar. Desde el primer día nos buscó las diferentes opciones para poder realizar un trabajo de investigación.

También quiero agradecerle este trabajo a Francisco Jorquera por todo lo que me han enseñado a lo largo de estos años. A Fernando Muñoz por contagiarnos su capacidad de devorar artículos científicos y metanálisis, a su lado siempre se aprende algo nuevo y útil. A Ana Domínguez, María José Gundín, Daniel López-Cuesta, Jesús Espinel, Pedro Linares y Patricia Suarez, por su paciencia y correcciones.

A Rafael Villanueva le quiero agradecer su dedicación. Todas esas horas haciendo ecografías y las noches que pasamos en vela, recorriendo el hospital empujando una cama para hacer una endoscopia urgente en un paciente “chocado” espero que no hayan sido en balde. Y todavía cada vez que tengo un paciente complicado estás ahí para aportar soluciones. Muchas gracias por enseñarme a ser buen profesional y mejor persona.

A Rubén Díez, le quiero agradecer la ayuda con la estadística y su interés en ayudarnos con cualquier problema médico o trabajo de investigación, él ha sido una referencia para todos los residentes “pequeños”. También esta tesis se la quiero agradecer a Gabriela, María, Laura, Aleida, Marta, Laura, Diana, Nereida por compartir buenos y malos momentos durante nuestros años en formación... Una mención especial merece Begoña y Roberto, mi “resi

pequeña” y mi amigo por cuidar de mi durante estos años y apoyarme en mis decisiones, a ellos les debo en gran medida haber podido finalizar la tesis y no abandonarla en el intento. Muchas gracias por todo lo que habéis hecho por mí.

Dedicación especial merecen Alex y Alberto, mis compañeros de fatigas de mis peripecias en el mundo de la investigación. Gracias por recoger las muestras que obteníamos en motilidad, procesarlas y analizarlas independientemente la hora o el día de la semana. También merece mi agradecimiento Mercedes Hernando, “mi anatomopatóloga”, gracias por analizar las muestras duodenales y gástricas imprescindibles para realizar la tesis, perder tiempo para explicarme muestras histológicas y demostrarme que la histología es imprescindible. Y a Xavi Casqueiro y José María Ruiz de Morales por su interés en la enfermedad celíaca. A Alicia, María y Alfonso por su capacidad de emocionar y de trabajar en el mundo de la investigación, forman un verdadero equipo. A Angel, Josefina, Emma, Evelia, Rubén, Luisa, Rosa, Leti, Desi, Camino, Mariluz, Eva, Mariaje, Marta, Goreti Marisa, Maria Jose y todas las compañeras del hospital por permitirme trabajar en un ambiente muy cómodo, aunque en ocasiones les acarree un exceso de trabajo.

También quiero dedicar esta tesis a Jorge, Bea, Rubéns, Raquel, Dani, Danito, Josito, Iván, Raúl, Laura, Alberto, Leire, Edgar, Bruno, Raquel, Pablo... por todos estos años de amistad y apoyo incluso en los momentos difíciles, gracias por estar ahí. Cualquier excusa es buena para reunirse con los buenos amigos y disfrutar de vuestras anécdotas que tanto solicita Iván, espero que a lo largo de los años nunca falten. Siento si en algún momento me olvidado de alguno.

Especial dedicación merece mi familia. A mi hermana Idoia gracias por el apoyo incondicional que me has dado a lo largo de los años, gracias por cuidar de tu hermano pequeño, llevando a cabo cualquier favor casi sin pedírtelo. A mi padre, José Manuel, por enseñarme a trabajar duro, por procurar por todos los medios una buena educación y darme las claves de cómo aprovecharla, nunca te olvidaré. A Elisa, no tengo palabras para agradecerte por todo lo que me has dado, gracias por cuidar de mi incluso desde la distancia espero que os sintáis orgullosos. A Tere, José Luis, Charo, Judit y Tania, gracias por el cariño demostrado durante estos años.

Para finalizar quiero dedicar esta tesis a Mónica, gracias por aguantarme durante todos estos años (y como todos dicen tiene verdadero mérito). Por todas las horas que compartimos en San Nicolás y el Aulario, gracias por el apoyo incondicional en los buenos momentos pero sobre todo en las horas bajas. Gracias por enseñarme que hay vida después de la medicina, a enseñarme a perseguir mis sueños, a estar en los momentos de soledad y sobre todo a tu amor incondicional. Gracias por tu alegría, cariño y por hacerme tan feliz. Siento que hayas aprendido tanta medicina, pero sin ti esto no hubiese sido posible.

Esta tesis es para todos vosotros, espero que os guste, muchas gracias...

ABREVIATURAS

AAG: Anticuerpos antigliadina

AC: Antes de cristo

ACh: Acetilcolina

ACECALE: Asociación de Enfermedad Celíaca Castellano-Leonesa

AEM: Anticuerpos antiendomiso

AGD: Anticuerpos antigliadina deaminada

AINES: Antiinflamatorios no esteroideos

ATF: Actividad trípica fecal

ATG: Anticuerpos antitransglutaminasa

BE: Bienestar emocional

C: Cadera

CBP: Cirrosis biliar primaria

CD: Cúmulo de diferenciación

CEP: Colangitis esclerosante primaria

CL: Cadera lumbar

CMH: Complejo mayor de la histocompatibilidad

CPAs: Células presentadoras de antígenos

CSI: Índice de síntomas relacionados con la enfermedad celíaca

CTLA-4: Antígeno de linfocitos T citotóxicos 4

CVRS: calidad de vida relacionado con la salud

D: Dolor

DEXA: Densitometría ósea con absorciometría de energía dual con rayos-X

DEP: Deposiciones

DF: Dispepsia funcional

DM: Diabetes mellitus

DSG: Dieta sin gluten

EAI: Enfermedades autoinmunes

EALT: Enteropatía asociada a linfoma de células T

EC: Enfermedad celíaca

ECR: Enfermedad celíaca refractaria

EDA: Endoscopia digestiva alta

EF: Estado funcional

ELISA: Enzimoimmunoanálisis

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ERGE: Enfermedad por reflujo gastroesofágico

ESPGHAN: Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica

FF: Función física

FS: Función social

G: gramos

GHQ-12: Cuestionario de Salud General de Goldberg

GSRS: Escala de valoración de síntomas gastrointestinales

HAI: Hepatitis autoinmune

HE: Hematoxilina-eosina

HLA: Antígeno leucocitario humano

HP: *Helicobacter pylori*

IBS-SSS: Síndrome intestino irritable – escala de severidad de síntomas

IBS-GIS: Síndrome intestino irritable – escala de mejoría global

IC: Intervalo de confianza

IFC: Inmunofluorescencia

IFN- γ : Interferón γ

IG: Inmunoglobulina

IHQ: Inmunohistoquímica

IL: Interleucina

IMC: Índice de masa corporal

INOS: Óxido nítrico sintetasa

kDa: KiloDaltons

LIEs: linfocitos intraepiteliales

LRPF: Limitaciones del rol por problemas físicos

LRPE: Limitaciones del rol por problemas emocionales

PAS: Ácido periódico reactivo de Schiff

PCE: Perfil de las Consecuencias de la Enfermedad

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PGS: Percepción general de salud

PGWBI: Índice de bienestar psicológico

RAST: Radio Allergo Sorbent Test

RNAM: Ácido ribonucleico mensajero

SEM: Semana

SERT: Transportador recaptador de serotonina

SG: Sensibilidad al gluten

SGNC: Sensibilidad al gluten no celiaca

SM: Salud mental

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SII: Síndrome intestino irritable

TTG: Transglutaminasa

TGF- β : Factor de crecimiento transformante β

TNF- α : : Factor de necrosis tumoral α

V: Vitalidad

VAS: Escala Analógica Visual

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	25
1. LA ENFERMEDAD CELÍACA.....	27
1.1 DEFINICIÓN	27
1.2 EPIDEMIOLOGÍA	27
1.3 EVOLUCIÓN HISTÓRICA	29
1.4 ETIOLOGÍA	30
1.4.1 FACTORES GENÉTICOS.....	31
1.4.2 FACTORES AMBIENTALES	32
1.5 PATOGENIA: RESPUESTA INMUNE.....	34
1.5.1 RESPUESTA INMUNE INNATA.....	34
1.5.2 RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA.....	34
1.6 CLÍNICA	36
1.7 DIAGNÓSTICO	38
1.7.1 DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO.....	38
1.7.2 BIOPSIA INTESTINAL.....	39
1.7.3 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS GENERALES.....	42
1.8 TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO.....	45
1.9 COMPLICACIONES	49
1.10 GRUPOS DE RIESGO DE LA EC	51
2. FAMILIARES DE PRIMER GRADO	54
3. ENTERITIS LINFOCÍTICA.....	55
4. HELICOBACTER PYLORI	57
5. MINERALIZACIÓN ÓSEA EN LA EC	58
6. SENSIBILIDAD AL GLUTEN (SG)	59
HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	65
OBJETIVOS	69
PACIENTES Y MÉTODOS	73
1. DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	75
2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	75
3. METODOLOGÍA	76
3.1 FASE INICIAL	76
3.2 MODIFICACIÓN DIETÉTICA	77
4. VARIABLES CLÍNICAS	78
5. VARIABLES RESPUESTAS	80
5.1 SF-36v2.....	80
5.2 ÍNDICE DE BIENESTAR PSICOLÓGICO (PGWBI).....	82
5.3 ESCALA DE VALORACIÓN DE SÍNTOMAS GASTROINTESTINALES (GRSR)	83
5.4 ÍNDICE DE SÍNTOMAS ESPECÍFICOS DE LA EC EN ADULTOS (CSI)	84
5.5 CARACTERÍSTICAS Y NÚMERO DE DEPOSICIONES SEMANALES	85
6. BIOPSIA DUODENAL	86
7. DENSITOMETRÍA ÓSEA	87
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	88

RESULTADOS	89
1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO	91
2. FACTORES ASOCIADOS CON LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS	97
3. ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE VIDA	103
3.1 PGWBI	103
3.2 SF36-V2	108
4. ANÁLISIS DE LA MINERALIZACIÓN ÓSEA	113
5. INFLUENCIA DE LA GENÉTICA	120
6. HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	125
7. MODIFICACIÓN DIETÉTICA	131
7.1 EVALUACIÓN SEGÚN LA SINTOMATOLOGÍA INICIAL	135
7.1.1 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS ASINTOMÁTICOS	135
7.1.2 ANÁLISIS DEL GRUPO DE FAMILIARES SINTOMÁTICOS	139
7.2 EVALUACIÓN SEGÚN EL RIESGO GENÉTICO	142
7.2.1 ANÁLISIS DEL GRUPO DE FAMILIARES CON AUSENCIA DE RIESGO GENÉTICO	142
7.2.2 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS CON BAJO RIESGO GENÉTICO	145
7.2.3 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS CON ALTO RIESGO GENÉTICO	148
7.3 EVALUACIÓN SEGÚN LA HISTOLOGÍA	150
7.3.1 ANÁLISIS DEL GRUPO DE FAMILIARES CON AUSENCIA DE ALTERACIONES HISTOLÓGICAS	150
7.3.2 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS CON PRESENCIA DE ALTERACIONES HISTOLÓGICAS	153
7.4 DIFERENCIAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS TRAS REALIZACIÓN DE LA DSG	156
7.5 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA A LA DSG MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE LOS CUESTIONARIOS CLÍNICOS	158
7.5.1 CSI	158
7.5.2 GSRS	165
8. ANÁLISIS MULTIVARIANTE	171
8.1 FACTORES ASOCIADOS A LA SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA	171
8.2 ALTERACIONES HISTOLÓGICAS	171
8.3 RESPUESTA A LA DSG SUPERIOR AL 20% (CSI)	172
8.4 RESPUESTA A LA DSG SUPERIOR AL 20% (GSRS)	172
8.5 ALTERACIONES EN LA MINERALIZACIÓN ÓSEA LUMBAR EVALUADA MEDIANTE EL T-SCORE... 173	
DISCUSIÓN	175
1. ASPECTOS GENERALES DEL ESTUDIO	177
2. LESIONES HISTOLÓGICAS	180
2.1 DETECCIÓN DE LESIONES HISTOLÓGICAS	180
2.2 ENTERITIS LINFOCÍTICA	181
3. CLÍNICA ASOCIADA Y RESPUESTA A LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA	183
3.1 CLÍNICA ASOCIADA Y SENSIBILIDAD AL GLUTEN	183
3.2 ¿CÚAL ES EL MECANISMO POR EL QUE LA INGESTA DE GLUTEN ORIGINA LA CLÍNICA DIGESTIVA?	186
3.3 INFLUENCIA CLÍNICA DE LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA	188
3.3.1 EFECTO PLACEBO	188
3.3.2 RELACIÓN MÉDICO - PACIENTE	189
3.3.3 MEDICIÓN DE LA RESPUESTA DURANTE LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA	189
3.3.4 RESPUESTA A LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA	191
3.3.5 PRINCIPALES DEBILIDADES DE LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA	193
4. CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD	195
4.1 ¿QUE ES LA CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD?	195

4.2 CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD EN LOS FAMILIARES DE PRIMER GRADO DE LOS PACIENTES CELÍACOS.....	196
4.2.1 SF36v2.....	196
4.2.2 PGWBI.....	199
5. SIGNOS INDIRECTOS DE MALABSORCIÓN	201
5.1 INFLUENCIA EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO	201
5.2 INFLUENCIA SOBRE EL METABOLISMO DEL HIERRO Y LA ANEMIA	202
6. ¿DEBE REALIZARSE LA BIOPSIA DUODENAL A TODOS LOS FAMILIARES CON LA PREDISPOSICIÓN GENÉTICA?	203
6.1 RESULTADO DE LAS DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE CRIBADO	203
6.2 PRINCIPALES LIMITACIONES PARA LA GENERALIZAR EL ESTUDIO DE LA BIOPSIA DUODENAL EN SUJETOS CON PREDISPOSICIÓN GENÉTICA.	205
CONCLUSIONES	207
BIBLIOGRAFÍA.....	211

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferencias en las biopsias intestinales entre un individuo celiaco (a) y otro sano (b).....	27
Figura 2. Prevalencia mundial de la enfermedad celíaca (EC).	28
Figura 3. Respuesta inmune innata y adaptativa de la enfermedad celíaca que originan un circuito que perpetúa la inflamación y atrofia con un aumento de la permeabilidad al paso de más péptidos de gliadina.	35
Figura 4. Diversidad de los hallazgos histológicos estadificados según la clasificación de Marsh.....	40
Figura 5. Algoritmo diagnóstico en la enfermedad celíaca en el adulto según el Ministerio de Sanidad.....	44
Figura 6. Algoritmo de manejo de la EC en el adulto.	49
Figura 7. Espectro de SG (sensibilidad al gluten) que incluye sujetos con predisposición genética y sensibilidad al gluten y sus complicaciones.	61
Figura 8. Representación de la metodología aplicada durante las diferentes fases de la modificación dietética.....	78
Figura 9. Escala de Bristol sobre las características de las heces	86
Figura 10. Biopsia duodenal con incremento de los linfocitos intraepiteliales CD3 marcados mediante IHQ. Biopsia gástrica con presencia del <i>Helicobacter pylori</i>	87
Figura 11. Distribución de los familiares por sexo.....	91
Figura 12. Grado de parentesco de los familiares con el caso índice.	91
Figura 13. Principales alteraciones autoinmunes detectadas en familiares de celíacos.	92
Figura 14. Sintomatología clínica inicial de los familiares.....	92
Figura 15. Características de las heces basales según la escala de Bristol.	94
Figura 16. Hallazgos detectados en la gastroscopia de los participantes del estudio.	95
Figura 17. Alteraciones histológicas duodenales detectadas según la clasificación de Marsh.....	95
Figura 18. Medias obtenidas en las distintas dimensiones y áreas exploradas por el SF36-V2.	96
Figura 19. Grado de bienestar psicológico obtenidos a través del cuestionario PGWBI en los familiares de primer grado.	97

Figura 20. Relación entre la clínica presente y el sexo de los familiares de primer grado de los celíacos.....	98
Figura 21. Influencia de las EAI (enfermedades autoinmunes) en la aparición de sintomatología en los familiares.	98
Figura 22. Relación entre la sintomatología y las alteraciones endoscópicas encontradas en los familiares que accedieron a la realización de la EDA.	99
Figura 23. Presencia de manifestaciones clínicas según los hallazgos histológicos. ...	99
Figura 24. Influencia del HP en el desarrollo de manifestaciones clínicas.	100
Figura 25. Aparición de las manifestaciones clínicas según el riesgo genético.....	100
Figura 26. Relación de la clínica y las características de las heces previo al estudio.	100
Figura 27. Relación entre el título de los métodos serológicos para el diagnóstico de la EC (enfermedad celíaca) y la presencia de clínica asociada.....	102
Figura 28. Resultados de los cuestionarios estratificados según la clínica existente.	102
Figura 29. Resultados del PGWBI según el sexo.	103
Figura 30. Relación entre las EAI y el PGWBI.	103
Figura 31. Puntuaciones PGWBI según la existencia de sintomatología acompañante.	104
Figura 32. Alteración de la calidad de vida de los distintos síntomas.	104
Figura 33. Resultados del cuestionario PGWBI según la consistencia de las heces. .	105
Figura 34. Influencia del Helicobacter pylori en la calidad de vida medida por el PGWBI.....	106
Figura 35. Modificación en PGWBI según las alteraciones histológicas.....	106
Figura 36. Influencia del genotipado HLA en el nivel de calidad de vida.	107
Figura 37. Relación entre la calidad de vida y la clínica existente evaluada con el CSI.	107
Figura 38. Relación entre la calidad de vida y la clínica existente evaluada con el GSRS.....	107
Figura 39. Diferencias en el cuestionario SF36V2 según el sexo.....	108
Figura 40. Resultados del cuestionario SF36V2 según la presencia de EAI.	109
Figura 41. Puntuaciones medias obtenidas según la presencia de clínica asociada.	109
Figura 42. Influencia en la calidad de vida de la consistencia de las heces.	110

Figura 43. Calidad de vida evaluada por el SF36V2 según la presencia de HP.	111
Figura 44. Resultados del test SF36V2 según las alteraciones histológicas detectadas.	111
Figura 45. Relación entre el haplotipo HLA y la calidad de vida (SF36V2).....	112
Figura 46. Modificación de la calidad de vida según el CSI	112
Figura 47. Variación de la calidad de vida evaluada por el cuestionario SF36v2 según los resultados del GSRS.....	113
Figura 48. Lesiones histológicas detectadas en los familiares que realizaron DEXA.	114
Figura 49. Distribución del componente genético HLA entre los sujetos que realizaron la DEXA.	114
Figura 50. Alteraciones óseas detectadas en la cadera y columna lumbar en la densitometría.....	115
Figura 51. Influencia del componente genético en la densidad mineral ósea de la columna lumbar, según el T-score.....	115
Figura 52. Hallazgos densitométricos en la columna lumbar evaluados mediante el Z-score según el riesgo genético.....	116
Figura 53. Asociación entre el riesgo genético y la mineralización ósea de la cadera según el T-score.....	116
Figura 54. Lesiones óseas en la cadera, detectadas mediante el Z-score, según el riesgo genético.	117
Figura 55. Grado de afectación ósea lumbar evaluada por el T-score según la presencia del Helicobacter Pylori.	118
Figura 56. Alteraciones en la mineralización ósea lumbar determinadas mediante el Z-score según la presencia del Helicobacter Pylori.	119
Figura 57. Relación entre la presencia del HP y las alteraciones óseas a nivel de la cadera detectadas mediante el T-score.....	119
Figura 58. Afectación ósea determinada mediante el Z-score según la afectación por Helicobacter Pylori.....	120
Figura 59. Relación entre el sexo y el componente genético de los familiares de primer grado de pacientes celíacos.....	120
Figura 60. Influencia entre la genética de riesgo de la EC (enfermedad celiaca) y las EAI (enfermedades autoinmunes).....	121
Figura 61. Presencia de la enteritis linfocítica según el riesgo genético.....	121

Figura 62. Relación entre el HP (Helicobacter Pylori) y el riesgo genético detectado.	122
Figura 63. Características de las deposiciones según el componente genético de los familiares.....	122
Figura 64. Influencia de la genética en el título de anticuerpos antitransglutaminasa y Antigliadina deaminada.....	123
Figura 65. Diagrama de flujo que representa las alteraciones histológicas detectadas en los participante del estudio según el haplotipo genético.	125
Figura 66. Alteraciones histológicas detectadas según el sexo de los participantes.	126
Figura 67. Influencia de hallazgos histológicos observados en el desarrollo de las enfermedades autoinmunes (EAI).....	126
Figura 68. Influencia de la edad en la detección de las alteraciones histológicas. ...	127
Figura 69. Detección del HP (Helicobacter Pylori) según los hallazgos histológicos duodenales.....	127
Figura 70. Modificación de la consistencia de las deposiciones según los hallazgos histológicos duodenales.	128
Figura 71. Distribución de las alteraciones histológicas según la genética presente.	128
Figura 72. Relación entre hallazgos histológicos duodenales y la sintomatología evaluada mediante el cuestionario GSRS.	129
Figura 73. Influencia de las alteraciones anatomopatológicas en la clínica asociada evaluada mediante el test CSI.	129
Figura 74. Modificación de los principales métodos serológicos para el diagnóstico de la EC según la presencia de alteraciones histológicas en las biopsias duodenales. ..	130
Figura 75. Trasgresiones dietéticas realizadas durante el seguimiento de la DSG. ..	132
Figura 76. Modificación de las características de las deposiciones según la cantidad de gluten de la dieta.	133
Figura 77. Número de deposiciones a la semana durante la modificación dietética.	133
Figura 78. Respuestas al cuestionario GSRS a las distintas modalidades dietéticas del estudio.....	134
Figura 79. Puntuación del cuestionario CSI en las distintas fases dietéticas del estudio.....	135
Figura 80. Transgresiones dietéticas durante la DSG en los familiares sin sintomatología previa.....	136

Figura 81. Consistencias de las deposiciones durante las diferentes fases de la modificación dietética según la clasificación de Bristol.	136
Figura 82. Número medio de deposiciones semanales durante la modificación dietética.....	137
Figura 83. Resultados del cuestionario GSRS tras las diferentes fases dietéticas.....	138
Figura 84. Resultados obtenidos con el cuestionario CSI en las diferentes fases dietéticas.	138
Figura 85. Transgresiones dietéticas de los familiares con clínica asociada durante la DSG.	139
Figura 86. Consistencia de las deposiciones según la clasificación de Bristol durante las diferentes fases dietéticas.	140
Figura 87. Modificación del número medio de deposiciones semanales según la dieta realizada.	140
Figura 88. Resultados obtenidos en el cuestionario GSRS durante la modificación dietética.....	141
Figura 89. Modificaciones en los resultados obtenidos en el cuestionario CSI en las diferentes fases dietéticas.	141
Figura 90. Transgresiones dietéticas realizadas por los familiares con ausencia de riesgo genético durante la dieta sin gluten.....	142
Figura 91. Consistencia de las deposiciones según la clasificación de Bristol en los familiares sin riesgo genético.	143
Figura 92. Número medio de deposiciones semanales en los familiares sin riesgo genético a lo largo del estudio.	143
Figura 93. Resultados del cuestionario GSRS en los familiares sin riesgo genético durante la modificación dietética.	144
Figura 94. Valores obtenidos en el cuestionario CSI en los familiares sin genética de riesgo en las diferentes fases del estudio.	144
Figura 95. Transgresiones realizadas por los familiares con bajo riesgo genético durante la DSG.	145
Figura 96. Influencia de la modificación dietética en las características de las deposiciones en los familiares heterocigotos.....	146
Figura 97. Número medio de deposiciones semanales en los familiares con bajo riesgo.	146
Figura 98. Resultados del cuestionario GSRS durante la modificación dietética en los familiares con bajo riesgo genético.....	147

Figura 99. Evaluación mediante el cuestionario CSI de la respuesta clínica durante la modificación dietética en los familiares heterocigotos.	147
Figura 100. Características de las deposiciones en los familiares con alto riesgo genético durante la modificación de la dieta.	148
Figura 101. Número medio de deposiciones semanales a lo largo del estudio en los familiares con alto riesgo genético.	149
Figura 102. Respuesta clínica, evaluada mediante el cuestionario GSRS, a las diferentes fases de la modificación dietética en los familiares con alto riesgo genético.....	149
Figura 103. Resultados del cuestionario CSI en los familiares con alto riesgo genético durante la modificación dietética.	150
Figura 104. Transgresiones dietéticas efectuadas por los familiares sin alteraciones histológicas.....	151
Figura 105. Características de las deposiciones durante la modificación dietética en los familiares sin alteraciones histológicas.	151
Figura 106. Número de deposiciones semanales en los familiares sin alteraciones anatomopatológicas.	152
Figura 107. Resultados del cuestionario GSRS en los familiares sin alteraciones histológicas en las diferentes fases dietéticas.	152
Figura 108. Variaciones clínicas, objetivadas mediante el cuestionario CSI, durante la modificación dietética, en los familiares que no tenían alteraciones histológicas..	153
Figura 109. Transgresiones dietéticas de los familiares con alteraciones histológicas.	154
Figura 110. Variación en las características de las heces durante la modificación dietética en los participantes con alteraciones anatomopatológicas.	154
Figura 111. Cuantificación de las deposiciones semanales en los familiares con alteraciones histológicas.....	155
Figura 112. Resultados del test GSRS durante la modificación dietética en los participantes con alteraciones histológicas.	155
Figura 113. Impacto clínico de las diferentes modalidades dietéticas en los familiares con alteraciones microscópicas, evaluado mediante el cuestionario CSI.	156
Figura 114. Diferencia en las puntuaciones de los cuestionarios GSRS y CSI tras la realización de la DSG entre los sujetos con síntomas y los asintomáticos.....	157
Figura 115. Mejoría clínica tras la DSG según el genotipado HLA evaluada mediante los cuestionarios clínicos (GSRS y CSI).....	157

Figura 116. Influencia de la DSG en la sintomatología de los familiares de primer grado de los pacientes celíacos evaluadas mediante los cuestionarios GSRS y CSI según los hallazgos histológicos detectados.....	158
Figura 117. Proporción de familiares que presentaron una respuesta a la DSG superior al 20%, determinada mediante el cuestionario CSI.	159
Figura 118. Diferencias en cuanto al sexo de la respuesta superior al 20% en el cuestionario CSI.....	159
Figura 119. Modificación de la respuesta a la DSG (dieta sin gluten) según la presencia de EAI (enfermedades autoinmunes).....	160
Figura 120. Influencia de la edad en la respuesta a la DSG, evaluada mediante el cuestionario CSI.....	160
Figura 121. Evaluación a la DSG mediante el CSI según la presencia del HP (<i>Helicobacter pylori</i>).....	161
Figura 122. Modificación de la respuesta a la DSG según los hallazgos histológico detectados.....	162
Figura 123. Número medio de deposiciones semanales según el grado de respuesta a la DSG.	162
Figura 124. Consistencia de las deposiciones iniciales según el grado de respuesta a la DSG (dieta sin gluten).	163
Figura 125. Influencia de la carga genética sobre la respuesta a la DSG, según el cuestionario CSI.....	163
Figura 126. Modificación de la respuesta a la DSG en los familiares que presentaban una genética de riesgo y alteraciones histológicas evaluada mediante el cuestionario CSI.	164
Figura 127. Serología celíaca al inicio del estudio según la respuesta a la DSG evaluada mediante el test CSI.	164
Figura 128. Porcentaje de familiares que mostraron una respuesta clínica superior al 20%, según el cuestionario GSRS.....	165
Figura 129. Influencia del sexo en la respuesta clínica a la DSG, según el cuestionario GSRS.....	165
Figura 130. Diferencias clínicas a la DSG (dieta sin gluten) según la presencia de EAI (enfermedades autoinmunes).....	166
Figura 131. Influencia de la edad en la respuesta a la DSG, evaluada a través del cuestionario GSRS.	166

Figura 132. Modificaciones clínicas ocasionadas por la presencias de HP (<i>Helicobacter pylori</i>), según el GSRS.	167
Figura 133. Modificación en la respuesta clínica determinada mediante el test GSRS, según la presencia de alteraciones histológicas.....	168
Figura 134. Número medio de deposiciones semanales según la respuesta a la DSG evaluada mediante el cuestionario GSRS.	168
Figura 135. Consistencia de las deposiciones basales según la respuesta a la DSG evaluada mediante el cuestionario GSRS.	169
Figura 136. Influencia del genotipado HLA en el grado de respuesta a la DSG.....	169
Figura 137. Respuesta a la DSG determinada mediante el cuestionario GSRS en los familiares con presencia de alteraciones genéticas e histológicas.	170
Figura 138. Evaluación de la serología celíaca según el grado de respuesta a la DSG.	170

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sintomatología típica y atípica de la enfermedad celíaca y principales enfermedades asociadas.	37
Tabla 2. Principales patologías que pueden provocar atrofia vellositaria diferentes a la EC.	42
Tabla 3. Principales causas que provocan una pobre adherencia a la DSG.....	46
Tabla 4. Causas principales de fracaso a la DSG	48
Tabla 5. Diagnóstico diferencial de la enteritis linfocítica.....	56
Tabla 6. Distribución de los distintos haplotipos del HLA.	93
Tabla 7. Resultados de las principales determinaciones analíticas basales.	94
Tabla 8. Valores medios obtenidos con los cuestionarios CSI y GSRS basales.	97
Tabla 9. Relación de la clínica con las diferentes variables analíticas estudiadas. ...	101
Tabla 10. Influencia en calidad de vida (PGWBI) de la presencia de alteraciones en la EDA.	105
Tabla 11. Relación entre los hallazgos histológicos encontrados y la densidad mineral de la Columna lumbar, evaluada mediante el T-score y el Z-score.	117
Tabla 12. Influencia de las alteraciones anatomopatológicas, determinadas a través del T-score y la mineralización ósea de la cadera.....	118
Tabla 13. Modificación de las variables analíticas según el riesgo genético.....	124
Tabla 14. Variaciones de las constantes analíticas según los hallazgos histológicos encontrados.	131
Tabla 15. Mejoría sintomática evidenciada a través del cuestionario CSI según la detección de lesiones en la EDA (endoscopia digestiva alta).....	161
Tabla 16. Influencia de los hallazgos endoscópicos en la respuesta clínica a la DSG, según el cuestionario GSRS.....	167
Tabla 17. Variables asociadas independientemente con la clínica asociada.	171
Tabla 18. Variables asociadas independientemente con las alteraciones histológicas observadas.	172
Tabla 19. Factores asociados de forma independiente con la respuesta a la DSG superior al 20% determinada mediante el cuestionario CSI.	172

Tabla 20. Variables asociadas independientemente con una respuesta superior al 20% evaluada a través del cuestionario GSRS.....	173
Tabla 21. Principales variables que se asocian de forma independientemente con las alteraciones óseas en la columna lumbar.....	174

INTRODUCCIÓN

1. LA ENFERMEDAD CELÍACA

1.1 DEFINICIÓN

La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía de base inmune, que afecta a sujetos genéticamente predispuestos debida a una intolerancia permanente al gluten contenido en la dieta¹⁻⁴.

Otras definiciones actuales la orientan no solo como una enfermedad con base intestinal sino como una enfermedad sistémica que puede afectar a otros órganos fuera del intestino delgado que es la diana principal⁵⁻⁷.

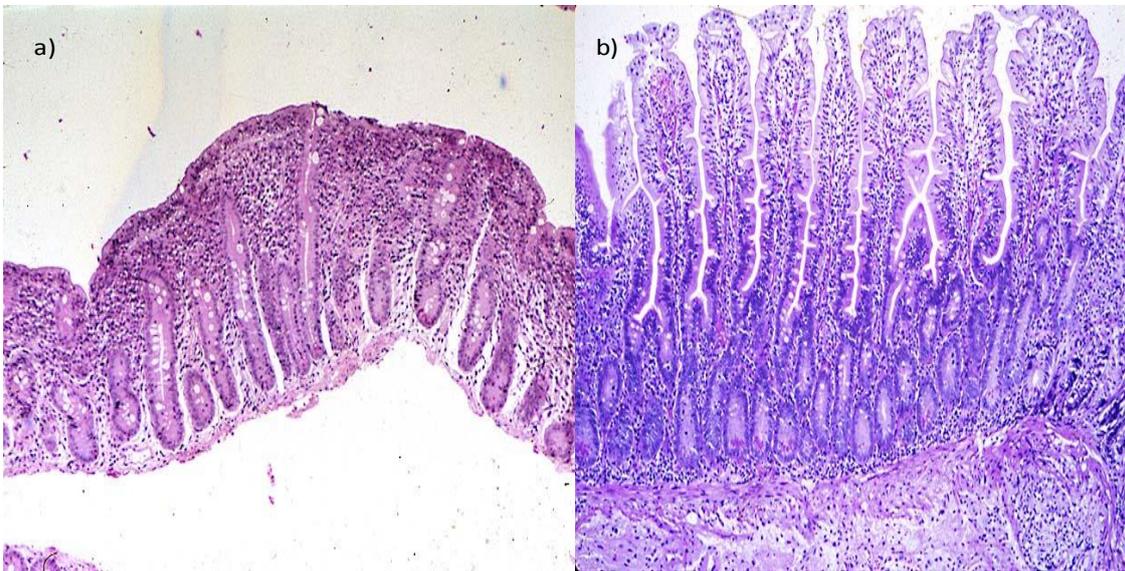


Figura 1. Diferencias en las biopsias intestinales entre un individuo celiaco (a) y otro sano (b).

1.2 EPIDEMIOLOGÍA

La EC es la intolerancia alimentaria más común en nuestro país, con una prevalencia en torno 1% de la población^{8,9}. Sin embargo, únicamente están diagnosticados 1 de cada 7 o 10 del total de los afectados, constituyendo lo que se ha denominado “*iceberg celiaco*”¹⁰. La proporción de pacientes diagnosticados va a depender del conocimiento de la enfermedad por parte de los profesionales sanitarios, de la accesibilidad a las pruebas diagnósticas (serología y biopsia duodenal) y de las manifestaciones clínicas que presenten los pacientes¹¹.

La EC es más frecuente en mujeres que en hombres con una diferencia de 4:1¹². Tiene un patrón de presentación bimodal con dos picos de incidencia en la edad, entre 1-3 años en niños y 30-50 años en adultos. Ha pasado de ser una enfermedad rara que afectaba a niños a

ser una patología frecuente que se manifiesta a cualquier edad¹³. Puede ser diagnosticada al estudiar sujetos con síntomas digestivos, extradigestivos e incluso individuos asintomáticos. La forma de presentación actual en el adulto es, en un porcentaje elevado de casos, paucisintomática u oligosintomática y con niveles normales de anticuerpos en sangre. Esto hace que en los pacientes adultos persista un infradiagnóstico de la EC^{14,15}. La presencia de esta patología no diagnosticada ni tratada correctamente podría llevar a la aparición de complicaciones a largo plazo.

Esta enfermedad tiene una distribución universal uniforme y con similares tasas de prevalencia en áreas geográficamente muy separadas como Australia, mayoría de países de Europa, Estados Unidos, o Sudamérica¹⁶⁻¹⁹. Está presente no sólo en Europa y los países poblados por personas de ascendencia europea, sino también en Oriente Medio, Asia, Sudamérica y Norte de África, y puede llegar a afectar hasta el 1% de la población en algunos países occidentales. La prevalencia mundial se estima en 1/266, y en España oscila entre 1/118 en la población infantil y 1/389 en la población adulta. Aproximadamente existen unos 3 millones de personas afectadas por la enfermedad celíaca en toda Europa y unas 450.000 en España¹⁹, de las que se calcula que sólo un 10% de los casos están diagnosticados. En León, la prevalencia en adultos asintomáticos estimada a partir de una muestra de donantes de sangre asintomáticos fue del 0,6% (95% IC: 0,015 – 3,3%)¹⁵.

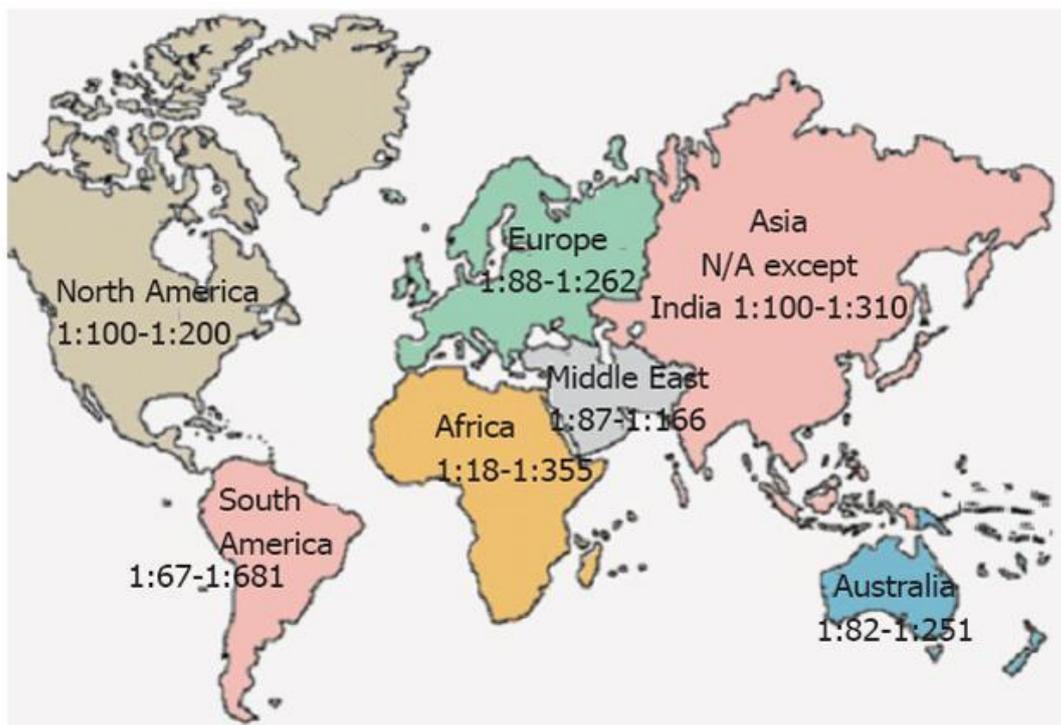


Figura 2. Prevalencia mundial de la enfermedad celíaca (EC).

Existen diferentes estudios en países europeos que muestran una diferencia llamativa en la prevalencia. Un estudio multicéntrico realizado en Europa reveló que la prevalencia de la EC, mediante la utilización de procedimientos serológicos, era en Finlandia del 2% (IC 95% 1,7-2,3), en Italia del 1,2% (IC 95% 0,8-1,6%), en Irlanda del Norte del 0,9% (IC 95% 0,5-1,3) y en Alemania del 0,3% (IC 95% 0,1-0,5%)²⁰. La explicación puede ser debida a diferentes factores ambientales (momento introducción del gluten en la dieta, cantidad de gluten ingerida, infecciones gastrointestinales, prevalencia de los alelos de HLA susceptibles etc...). Este estudio confirmó que muchos casos de EC permanecían sin diagnóstico si no se realizaba un cribado.

Un estudio realizado en EEUU, en el estado de Virginia, tanto en adultos como en niños, mediante la utilización de los anticuerpos antiendomiso como procedimiento de cribado, determinó que la prevalencia de EC era del 1:133. Además esta prevalencia era superior en los adultos (1:105) que en los niños (1:320)¹⁶. Los datos observados demostraron una mayor frecuencia de la EC en EEUU que en Europa.

La prevalencia de la EC en niños en edad escolar de Egipto, evaluada a través de test serológicos era de 0,85% (IC 95% 0,39-1,31%)²¹. Sin embargo, se sospecha que estos valores pueden ser superiores. En otras regiones de África se desconoce la verdadera incidencia de la EC, pero actualmente se puede afirmar que la enteropatía sensible a gluten está presente en el continente africano. Por lo tanto puede constituir un grave problema de salud, incrementando significativamente la mortalidad y morbilidad infantil e incrementando el círculo vicioso de la diarrea y desnutrición.

En Asia la incidencia de la EC es anecdótica. La utilización del arroz como principal fuente de hidratos de carbono disminuye el gluten de la dieta, principal desencadenante de la patología.

1.3 EVOLUCIÓN HISTÓRICA

La EC fue descrita por primera vez en la segunda mitad del Siglo II AC por Aretaeus de Cappadocia, contemporáneo del médico romano Galeno. En sus escritos, usó la voz griega koeliakos, que significa “que sufren del intestino”, precursora de la voz actual celiaco o coeliac, en inglés.

Sin embargo, la descripción clásica de la EC tuvo que esperar hasta el año 1888. Samuel Gee del Hospital St. Bartholomew hizo la primera descripción clínica, precisa y detallada de la EC tal y como la conocemos hoy día, e incluso aconsejó una reducción de la ingesta de harinas para controlar los efectos. Aun así, la causa de la enfermedad permaneció desconocida durante más de 50 años con pocos avances relevantes relativos al tratamiento de

la enfermedad. El pediatra neerlandés WK Dicke desveló por fin en su tesis doctoral defendida en la Universidad de Utrecht, el agente etiológico de la patología. Dicke, observó en los años de la Segunda Guerra Mundial de escasez de los alimentos básicos como el trigo, que los pacientes celíacos mejoraron espectacularmente para luego recaer tras el fin de la Guerra con la reintroducción en la dieta holandesa de dichos alimentos. Esto, junto al hecho de que algunos pacientes celíacos habían desarrollado aversión a algunos alimentos ricos en gluten, le llevó a postular que los cereales (trigo, cebada y centeno) eran agentes etiológicos de la EC, y propuso la dieta estricta sin gluten de por vida, tras la cual se observaba una mejoría espectacular en todos los pacientes celíacos.

Estas observaciones fueron confirmadas por diversos autores, como Frazer, y se englobaron bajo el término de “enteropatía sensible a gluten”, que abarca tanto la situación del niño como la del adulto. Esta denominación es la que utilizan actualmente los autores americanos, mientras que en Europa se prefiere la de “enfermedad celíaca”, que últimamente también se aplica para el adulto, desplazando el término de esprue no tropical o celíaco.

En plena eclosión de publicaciones sobre estos hallazgos, pasaron un tanto inadvertidos los hallazgos accidentales de Paulley²² que observó el aplanamiento de las vellosidades intestinales en muestras de biopsias de intestino obtenidas mediante laparoscopia en dos pacientes celíacos. Sin embargo, la realización de la primera biopsia peroral²³ y el sucesivo perfeccionamiento de la técnica mediante el empleo de sonda provista de corte y recogida de la mucosa^{24, 25}, permitieron un medio diagnóstico rápido y eficaz. Su utilización por diferentes autores pronto confirmó que tanto en niños como en adultos con enfermedad celíaca se apreciaba de modo constante el aplanamiento de las vellosidades intestinales^{26, 27}.

Posteriormente se comprobó que la lesión anatómica no era específica de esta entidad, puesto que podía presentarse, especialmente en las primeras edades de la vida, como consecuencia de otras alteraciones digestivas, nutritivas o infecciosas²⁸. Debido a ello, podía haber dificultad a la hora de establecer el diagnóstico diferencial entre estas entidades y la enfermedad celíaca.

1.4 ETIOLOGÍA

La EC es el resultado de la interacción de un desencadenante medioambiental (la ingesta de gluten) y una predisposición genética, con la posible participación de otros factores medioambientales, que origina una respuesta inmunológica inadecuada desencadenando la enfermedad^{19, 29}.

1.4.1 FACTORES GENÉTICOS

El factor central que define la EC es la pérdida de tolerancia a una sustancia ambiental como es el gluten. El hecho de que este factor resulte nocivo para una parte de la población con una determinada genética, demuestra que la susceptibilidad individual es crucial e indudablemente esta susceptibilidad está basada en parte en factores genéticos.

Actualmente se ha descifrado gran parte de la base genética de la enfermedad, presentando la EC una de las asociaciones más fuertes conocidas entre los polimorfismos del antígeno leucocitario humano (HLA) del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y el desarrollo de una patología. La base genética de la EC está ampliamente demostrada ya que mientras que la prevalencia esta patología se acerca al 1% en la población general, está aumentada al 12-20% entre los familiares de primer grado de un celiaco³⁰⁻³². Además, el ambiente parece tener también un efecto en el desarrollo de la EC, ya que los gemelos dizigóticos presentan una concordancia en el desarrollo de la EC del 30%, superior al 10% esperable entre hermanos no gemelos. El hecho de que exista una concordancia en el desarrollo de la patología entre gemelos monozigotos del 70%, sitúa en dicho porcentaje la base genética de la EC, achacando el 30% restante a otros factores ambientales, como la ausencia de lactancia materna, la edad de introducción del gluten en la dieta y la existencia de infecciones víricas^{33,34}.

Aproximadamente el 90% de los celiacos expresan el heterodímero HLA DQ2 (*DQB1*0201-DQA1*0501*), el resto de pacientes expresan mayoritariamente HLA-DQ8 (*DQB1*0302-DQA1*0301*), y únicamente un porcentaje muy pequeño de pacientes pueden expresar otros genes como el HLA-DR3 o al HLA-DR5/7. Por tanto, la ausencia de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 hace que el diagnóstico de la EC sea muy poco probable³⁵.

El heterodímero HLA-DQ2 es común en los países europeos y se expresa en el 25-30% de la población normal, pero sólo el 0,5-1% de los sujetos que presentan este haplotipo desarrollan la enfermedad³⁶. La prevalencia de estos marcadores genéticos en los familiares de primer grado es del 60-70%. Para explicar este fenómeno actualmente está siendo estudiada la hipótesis de una posible asociación independiente a HLA-DQ2 de un polimorfismo de microsatélite del promotor del gen de TNF- α , citoquina que actúa en el reclutamiento de linfocitos intraepiteliales). Los genes que codifican el factor TNF- α y el complejo HLA DQ se encuentran en el cromosoma 6p y es probable que se transmitan de forma combinada³⁷. El TNF- α es una citoquina con un papel importante en los procesos inflamatorios y sus niveles se encuentran elevados en diferentes enfermedades de origen autoinmune como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa³⁸. Además, diferentes estudios establecen que esta molécula

puede participar en la patogenia de la EC. Unos niveles elevados del TNF- α provocan una mayor densidad de linfocitos intraepiteliales y un mayor daño en la mucosa intestinal³⁹.

La relación entre la expresión de ciertos alelos de los haplotipos HLA-DQ2 y HLA-DQ8 y la enfermedad celiaca justifica la existencia de una predisposición familiar, de tal manera que entre el 12-15% familiares de primer grado^{36, 40, 41} y el 4-8% familiares de segundo grado²⁸ desarrollan también la enfermedad.

Existen otros posibles genes no relacionados con el sistema HLA que condicionan la aparición celiaca como por ejemplo el gen que codifica el CTLA-4 (2q33). Esta citoquina es un regulador negativo de la inmunidad, inhibiendo la activación de linfocitos T.⁴² Diferentes autores han demostrado la relación entre el CTLA-4 y el desarrollo de diferentes autoinmunes.^{43,44} Se ha observado que los pacientes celíacos presentan con mayor frecuencia el polimorfismo CTLA-4 CT60 A/G.⁴⁵ Esta variante de del CTLA-4 provoca bajos niveles de RNAm condicionado una menor de la inactivación de los linfocitos T. Por lo tanto, este polimorfismo puede jugar un papel en la patogenia de la EC⁴⁶.

1.4.2 FACTORES AMBIENTALES

Los cereales son una fuente de proteínas muy importante para la nutrición humana. El gluten, estrictamente hablando, se puede definir como la masa que queda tras eliminar los componentes solubles en agua de la harina de trigo. El producto resultante tiene un contenido del 75-85% de proteínas y del 15-25% de lípidos e hidratos de carbono insolubles. Sin embargo, cuando comúnmente hablamos de gluten, nos referimos exclusivamente a la fracción proteica que es insoluble tanto en agua como en soluciones salinas diluidas. Este producto engloba dos tipos de proteínas de la mayoría de cereales, las prolaminas (solubles en etanol) y las gluteninas (parcialmente solubles en soluciones ácidas o alcalinas diluidas).⁴⁷ Las prolaminas del trigo se denominan *gliadinas*, del centeno *secalinas* y de la cebada *horleinas*. Las prolaminas y las gluteninas son las proteínas que confieren las propiedades de elasticidad y viscosidad características del gluten, y a su vez las responsables de la toxicidad y activación de la EC.

El arroz, el maíz, el sorgo y el mijo son cereales que no contienen gluten. Por lo tanto, no provocan la activación de la enfermedad. En el caso de la avena es controvertido. Estudios actuales sugieren que la avena en estado puro (no contaminada) no contiene gluten, y por esta razón no podrían influir en la patogénesis de esta patología. Sin embargo, frecuentemente está contaminado con pequeñas cantidades de otros cereales sobre todo de trigo^{48, 49}. Por esta

razón a los celíacos recién diagnosticados se recomienda evitar la avena hasta la remisión de la enfermedad. Después pueden introducirse hasta 60 g diarios de avena de una fuente fiable y continuar si es tolerado.

El trigo es el cereal más utilizado, por lo tanto la gliadina es la prolamina más importante. La gliadina al separarse por técnicas electroforéticas se obtiene cuatro fracciones de peso molecular entre 20 y 75 kDa conocidas como α , β , γ y ω -gliadinas⁵⁰. Todas ellas son tóxicas para los pacientes celíacos, demostrando in-vitro la acción tóxica de las moléculas de la gliadina no digerida en la mucosa intestinal. Estas moléculas originan lesiones epiteliales a través del reclutamiento de linfocitos intraepiteliales.

No todos los individuos con genética de riesgo que ingieren gluten desencadenan la enfermedad. Por esta razón puede que otros factores ambientales, además del gluten, estén implicados en el desencadenamiento o aparición de la EC. La lactancia materna puede retrasar la aparición de la enfermedad aunque no previene su aparición⁵¹. La introducción de alimentos que contienen gluten antes de los 6 meses provoca un incremento de la incidencia de la enfermedad^{52,53}. Pero también iniciar el consumo de alimentos que contienen gluten después de los 2 años origina un aumento de la incidencia, por pérdida de la tolerancia inmunitaria a los antígenos del gluten. Distintas infecciones por microorganismos entéricos como adenovirus enterocitario humano 12 o *Cándida albicans* pueden estar implicadas en la patogenia de la respuesta inmune por similitud de antígenos de los agentes patógenos con los antígenos del gluten. En la actualidad se han llevado a cabo numerosos estudios que comparan la microbiota intestinal de individuos sanos con respecto a la microbiota intestinal de celíacos para comprobar esta hipótesis. Autores españoles como la Dra. Yolanda Sanz (Valencia) han publicado numerosos trabajos donde se observan estas diferencias en la microbiota y su posible participación en la patogenia de la enfermedad⁵⁴⁻⁵⁶.

Otros autores como Caminero⁵⁷, Wacklin⁵⁸, Tjellström⁵⁹ y Sollid⁶⁰ detectaron diferencias en la microbiota intestinal y en la actividad trípica fecal (ATF) y actividad glutenásica de sujetos sanos y enfermos celíacos. Estas diferencias invitan a pensar en los microorganismos como posibles desencadenantes etiológicos de la EC.

1.5 PATOGENIA: RESPUESTA INMUNE

La EC se manifiesta en sujetos genéticamente predispuestos como una respuesta inmune frente al gluten ingerido. Esta respuesta inmune contiene una parte innata (efecto *tóxico* directo del gluten sobre el epitelio) y otra adaptativa o específica (a través de los linfocitos T CD4+ de la lámina propia o tejido subyacente) y las dos parecen ser las responsables del daño histológico en la mucosa intestinal⁶¹.

1.5.1 RESPUESTA INMUNE INNATA

Algunos fragmentos del gluten, como la α -gliadina, inducen una respuesta inmunológica innata, tóxica e inmediata, no relacionada con los linfocitos T ni con la presentación antigénica HLA-DQ2/8^{62,63}. Como consecuencia desencadena un estrés oxidativo, mediado principalmente por la formación de óxido nítrico, que origina la inducción de iNOS (óxido nítrico sintetasa) en los enterocitos⁶⁴⁻⁶⁷ que provoca la expresión en estas mismas células de ligandos como MICA⁶⁸. La gliadina, también es capaz de debilitar las uniones intercelulares situadas entre los enterocitos^{69,70}. Sin embargo, el principal mecanismo depende de la liberación de IL15 por parte de estos enterocitos en situación de estrés⁷¹, como se observa en la figura 3. Esta citoquina induce en los linfocitos intraepiteliales la expresión de NKG2D^{72, 73} capaz de interactuar con su ligando, la molécula MICA de los enterocitos perpetuando el daño intestinal. La unión entre NKG2D y MICA induce apoptosis de los enterocitos, llevando a la desaparición de microvellosidades y aplanamiento del epitelio intestinal.

Con ello se activan fenómenos de citotoxicidad en el epitelio, que junto con el debilitamiento de las uniones intercelulares, contribuye a un aumento de la permeabilidad intestinal y el paso del gluten hasta la lámina propia, donde se desencadena la respuesta adaptativa.

1.5.2 RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

La respuesta inmune adaptativa está mediada por linfocitos T específicos, previa presentación antigénica por las células presentadoras de antígenos (CPA) portadoras de elementos de restricción HLA-DQ2/DQ8, tal como puede observarse en la figura 3. Los macrófagos (20%) y sobre todo las células dendríticas (CDs) (80%), son las principales CPAs de la lámina propia y están incrementadas en la lesión celiaca en actividad⁷⁴. Estas CPAs son a su vez activadas como consecuencia de la inducción de IL-15 derivada de la respuesta innata⁷⁵⁻⁷⁷. Los linfocitos TCD4+ de la lámina propia reconocen fragmentos de gluten, como α -gliadina,

presentados en el contexto de moléculas HLA-DQ2 o DQ8^{74,78,79}, y tras ser modificados por el enzima transglutaminasa 2 (TTG2)^{80,81}. Por tanto, el efecto final estará mediado por linfocitos T CD4+, responsables de una respuesta dominada por citoquinas proinflamatorias como IFN γ , TNF α , IL18... y un descenso proporcional de citocinas reguladoras o anti-inflamatorias (IL10 y TGF β)^{82,83}. Este perfil pro-inflamatorio será el implicado en última instancia en los mecanismos de remodelación tisular como la hiperplasia de las criptas típica de la EC, la atrofia de las vellosidades intestinales y la activación de linfocitos B que estimulan la producción de anticuerpos⁸⁴.

En resumen, se puede afirmar que la gliadina tiene un efecto dual en el intestino de los pacientes celíacos, siendo imprescindible la activación de la respuesta inmunológica innata para que se desencadene la respuesta adaptativa en individuos susceptibles⁸⁵⁻⁹⁰.

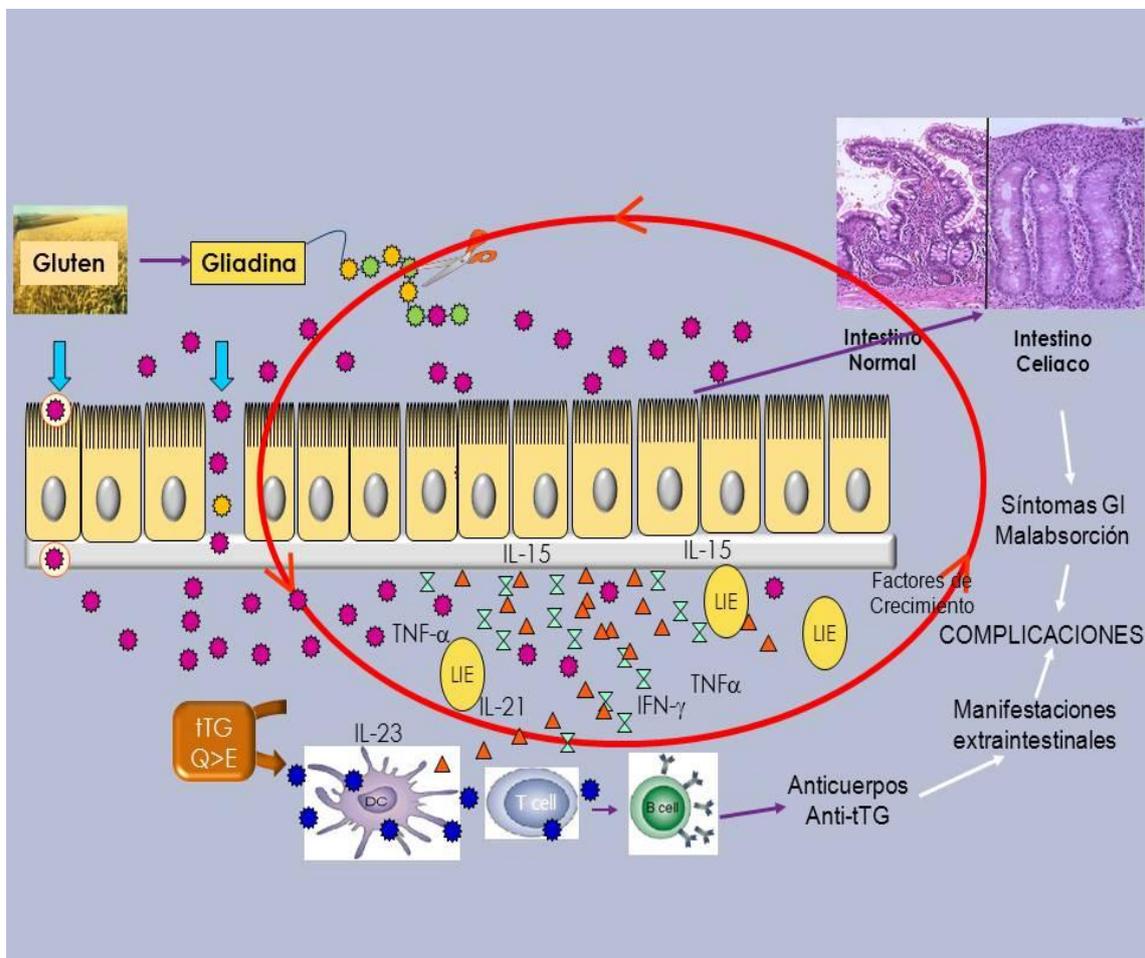


Figura 3. Respuesta inmune innata y adaptativa de la enfermedad celíaca que originan un circuito que perpetúa la inflamación y atrofia con un aumento de la permeabilidad al paso de más péptidos de gliadina.

1.6 CLÍNICA

Las manifestaciones clínicas de la EC son muy variables según la edad de presentación de la enfermedad. De todas maneras la clínica florida es actualmente inusual en el mundo occidental y constituye sólo el extremo del “iceberg celíaco”¹⁰. La mayoría de los pacientes adultos tienen escasa sintomatología en el momento del diagnóstico⁹¹.

Esta enfermedad se caracteriza por la afectación de segmentos proximales del intestino delgado provocando malabsorción y déficit de hierro, ácido fólico, calcio y vitaminas liposolubles. La diarrea se debe en la mayoría de las ocasiones a la progresión de la enfermedad hasta el intestino delgado distal⁹². De esta manera, si sólo está afectado el intestino proximal no desencadena la diarrea porque los segmentos más distales pueden compensar la absorción de productos derivados de la digestión de los hidratos de carbono y grasas. El embarazo, la diarrea del viajero, gastroenteritis o enfermedades gastrointestinales pueden actuar como desencadenantes de la EC.

En los niños la enfermedad celíaca generalmente se manifiesta en forma de diarrea crónica, acompañada de distensión abdominal, y retraso de crecimiento, que constituyen la denominada *forma clásica* o triada característica⁹³. Otros síntomas que también aparecen con cierta frecuencia en la infancia son la anorexia, pérdida de peso, los vómitos, la irritabilidad e incluso el estreñimiento.

Cuando la enfermedad aparece más tardíamente, en niños mayores o en la adolescencia, puede haber manifestaciones extraintestinales⁹⁴, tales como cefaleas, anemia⁹⁵ y síntomas neurológicos⁹⁶, entre otros síntomas.

En adultos se presenta con una frecuencia 2-3 veces mayor en las mujeres que en los varones, por razones desconocidas⁹⁷. También la prevalencia de enfermedades autoinmunes es más frecuente en las mujeres, así como la anemia ferropénica y la osteoporosis, que son procesos frecuentemente asociados con la celiaquía. Las formas de presentación en el adulto son muy variadas y menos características, por lo que se denominan *formas atípicas*⁹⁸ u oligosintomáticas. La diarrea aparece en el adulto en menos del 50% de los pacientes y la pérdida de peso es poco llamativa, de hecho hasta un 30% de los pacientes presenta sobrepeso en el momento del diagnóstico⁹⁹. Las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad están descritas en la Tabla 1.

Signos y síntomas típicos	Signos y síntomas atípicos	Enfermedades asociadas
<ul style="list-style-type: none"> • Distensión abdominal • Dolor abdominal • Anorexia • Diarrea • Flatulencia • Retraso del crecimiento • Esteatorrea • Pérdida de peso • Vómitos • Deposiciones voluminosas, pegajosas y claras • Debilidad muscular 	<ul style="list-style-type: none"> • Alopecia areata • Anemia ferropénica • Estomatitis aftosa • Artritis • Cambio de conducta • Ataxia cerebelosa • Fatiga crónica • Trastornos del sueño • Ceguera nocturna • Estreñimiento • Hipoplasia del esmalte dental • Epilepsia • Crisis parciales complejas • Calcificaciones occipitales • Reflujo gastroesofágico • Esteatosis hepática • Hipertransaminasemia • Infertilidad y amenorrea • Abortos recurrentes • Retraso del inicio de la pubertad • Mielopatía • Obesidad • Osteoporosis/ osteopenia • Neuropatía periférica • Dolor abdominal recurrente 	<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de Addison • Gastritis atrófica • Hepatitis autoinmune • Panhipopituitarismo autoinmune • Tiroiditis autoinmune • Enfermedad de Behçet • Dermatomiositis • Miastenia Gravis • Artritis inflamatoria • Cirrosis biliar primaria • CEP • Psoriasis • Enfermedad de Sjögren • Diabetes Mellitus tipo 1 • Vitíligo • Púrpura trombocitop ideopática • Anemia hemolítica autoinmune • Déficit selectivo Ig A • SD Turner, Down o Williams • Nefropatía por Ig A • Artritis reumatoide • Artritis crónica juvenil • Alopecia areata • Miocardiopatía dilatada idiopática

Tabla 1. Sintomatología típica y atípica de la enfermedad celíaca y principales enfermedades asociadas.

Las manifestaciones extradigestivas pueden ser múltiples y de naturaleza muy variada. Muchas de ellas se deben a carencias crónicas de oligoelementos, provocadas por la dificultad de su absorción intestinal. Otras son de origen autoinmune, pero en conjunto todas ellas se originan por un denominador común, la intolerancia al gluten.

Las lesiones cutáneas del tipo dermatitis herpetiforme, afectan al 25% de los celíacos. Presentan de vesículas, costras y fisuras localizadas en la superficie extensora de las extremidades, pero también en la palma de las manos y pies, tronco, cuello, cuero cabelludo, acompañadas de intenso prurito¹⁰⁰. La enfermedad se caracteriza por depósito lineal de IgA a lo largo de la unión dermo-epidérmica en una zona de piel cercana a la lesión, pero no en la piel afectada por la vesícula¹⁰¹.

1.7 DIAGNÓSTICO

1.7.1 DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

El desarrollo de los métodos serológicos para la detección de la EC supuso una verdadera revolución. Permitted demostrar que la enfermedad presentaba una prevalencia superior a la inicialmente esperada y que los pacientes tenían gran variedad de síntomas clínicos, e incluso ausencia sintomatología. Sin embargo, observaciones recientes demuestran que la serología no goza de una sensibilidad tan elevada como inicialmente se suponía, especialmente en las formas histológicamente leves (enteritis linfocítica) y en la edad adulta. Respecto este punto, es importante llevar a cabo un cribado intencionado de síntomas y signos cuya presencia obligaría a llevar a cabo exploraciones más avanzadas¹⁰².

Anticuerpos Antigliadina (AAG)

Estos anticuerpos no son específicos de la EC, y pueden estar elevados en otras enfermedades e incluso en sanos. Los AAG se elevan en la enfermedad de forma paralela a la ingesta de gluten, los de clase IgG son muy sensibles pero inespecíficos, mientras que los de clase IgA son más específicos. Los IgA disminuyen más rápidamente tras retirar el gluten de la dieta, mientras los de tipo IgG tienen un curva de aclaramiento serológico más lenta, manteniendo niveles elevados durante más tiempo incluso sin llegar a disminuir¹⁰³. Ambos presentan una sensibilidad y una especificidad entre el 75-80%¹⁰⁴. Actualmente ha sido desarrollado los AAG desaminados con una sensibilidad y especificidad superior al 95%¹⁰⁵.

La edad tiene influencia sobre los niveles de AAG, siendo su elevación mayor en pacientes menores de 2 años.

Anticuerpos Antiendomiso (AEM)

Estos anticuerpos tienen mayor correlación con el grado de atrofia duodenal, y con los niveles de anticuerpos antitransglutaminasa (ATG). Presentan mayor tiempo de aclaramiento serológico desde que se inicia la DSG que los AAG.

La valoración de este tipo de anticuerpos se basa en inmunofluorescencia (IFC) y tiene el inconveniente de ser una técnica dificultosa, cara y engorrosa¹⁰⁶. Para realizarla se efectúa una inmunofluorescencia indirecta en la que los anticuerpos antiendomiso IgA séricos del paciente se fijan al endomiso de secciones de esófago de mono o de cordón umbilical. La detección de anticuerpos IgA antiendomiso tiene una buena sensibilidad, cercana al 90%, y una excelente especificidad, superior al 90%¹⁰⁷.

Anticuerpos Antitransglutaminasa (ATG)

Permite superar los inconvenientes originados por los AEM. Esta enzima puede estar implicada en la patogenia de la EC induciendo una deaminación de los péptidos de gluten que exacerbaría la respuesta inmune. La enzima transglutaminasa tisular también está implicada en el remodelamiento tisular y en la apoptosis celular.

Los ATG IgA presentan una sensibilidad cercana al 100% y una especificidad entre el 89 y el 96%¹⁰⁸. Actualmente los ATG tienen implicaciones clínicas, de tal manera que un título alto puede ser suficiente para el diagnóstico de EC en niños, evitando así la realización de biopsia duodenal. Además se sabe que el título de ATG se correlaciona con el grado de atrofia vellositaria y con la edad del paciente¹⁰⁹.

En ocasiones se pueden presentar falsos negativos como en aquellos pacientes con déficit de IgA concomitante¹¹⁰, pacientes con tratamiento inmunosupresor, que lleven ya una dieta pobre en gluten, casos de atrofia vellositaria parcial, etc...En caso de déficit de IgA es útil la determinación de anticuerpos antitransglutaminasa de isotipo IgG o anticuerpos anti-gliadina deaminada IgG.

1.7.2 BIOPSIA INTESTINAL

La biopsia intestinal de duodeno continúa siendo considerada como el patrón de oro para el diagnóstico de la EC^{102, 111}. Las biopsias duodenales son obtenidas durante una endoscopia digestiva alta, permitiendo obtener las muestras, mediante visión directa, en poco

tiempo. Es aconsejable obtener unas 4-6 biopsias de diferentes partes de duodeno distal y 1-2 biopsias de bulbo para el estudio histológico, dado que la enfermedad aunque es difusa, puede presentar en ocasiones afectación parcheada¹¹².

Los hallazgos en la histología de la mucosa intestinal incluyen una serie de cambios progresivos. Estas alteraciones han sido definidas y clasificadas según los criterios de Marsh. La figura 4 describe los diferentes estadios y el significado histológico. Esta clasificación desarrollada hace más de 20 años por Michael Marsh¹¹³, sigue teniendo vigencia en el momento actual, dado que muestra todo el espectro de alteraciones histológicas de la enfermedad celíaca. Aunque se han publicado algunas modificaciones como la clasificación de Marsh modificada por Oberhuber¹¹⁴, actualmente se utiliza para el diagnóstico y clasificación de las lesiones histológicas. Cada vez tienen más importancia los casos de tipo Marsh I como comentamos posteriormente¹¹⁵.

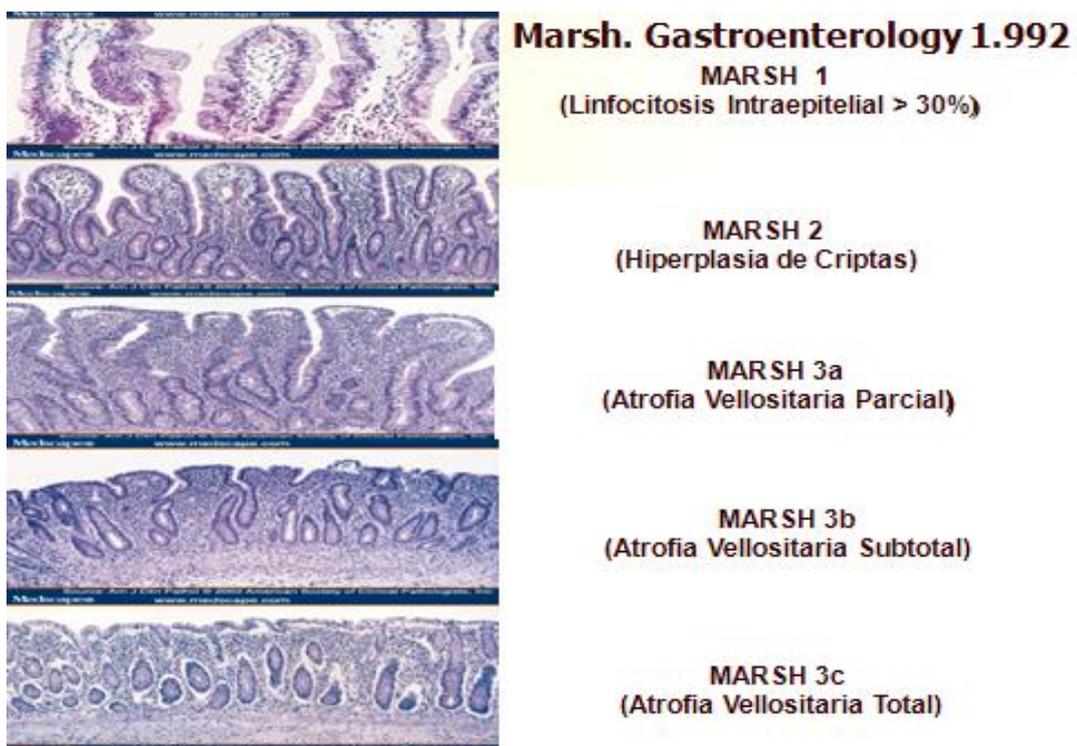


Figura 4. Diversidad de los hallazgos histológicos estadiados según la clasificación de Marsh

Marsh 0

Mucosa preinfiltrativa. La biopsia intestinal muestra un aspecto macroscópico normal. Presente hasta en el 5% de los pacientes con dermatitis herpetiforme. Si la serología es positiva y el enfermo es DQ2 o DQ8 es recomendable un seguimiento y plantear una nueva biopsia en 1-2 años si los datos clínicos lo sugieren. Es también el estadio al que deberían

regresar todos los pacientes después de la dieta sin gluten para conseguir una remisión completa de la lesión intestinal.

Marsh 1

Incremento del número de linfocitos intraepiteliales (LIEs) superior a 25 linfocitos por 100 enterocitos. Para establecer el diagnóstico de este estadio es conveniente llevar a cabo inmunotinciones específicas para linfocitos mediante técnicas de inmunohistoquímica detectando linfocitos CD3+. En la EC el aumento de LIE es detectado principalmente en la mucosa intestinal, pero también lo podemos observar en el estómago y colon^{116, 117}. En las formas latentes a menudo es la única alteración histológica detectada. Pero estas alteraciones no son específicas de la EC, también se puede presentar en otras intolerancias alimentarias, en giardiasis, esprúe tropical, etc... Existen claras evidencias de que los pacientes con este tipo de lesión pueden presentar síntomas similares a otras formas histológicamente más avanzadas, principalmente flatulencia o distensión abdominal, anemia ferropénica y osteopenia/osteoporosis.

Constituye también una forma de remisión parcial tras la dieta sin gluten en aquellos pacientes que persisten con un infiltrado linfocitario a pesar de la dieta sin gluten.

Marsh 2

Hiperplasia de las criptas intestinales. Además del incremento de los LIEs, hay un incremento en la profundidad de las criptas, sin una reducción concomitante en la altura de las vellosidades intestinales¹¹³. Ante la presencia de este tipo de lesión en un paciente con serología positiva o DQ2 o DQ8 (+) debe retirarse el gluten y evaluar la respuesta clínica e histológica (repetir la biopsia a los 12-18 meses). La desaparición o mejoría franca de las lesiones permite confirmar y validar el diagnóstico de EC.

Marsh 3

Atrofia vellositaria: (3a) parcial, (3b) subtotal, (3c) total. Este tipo de lesión considerada como "clásica" supone la presencia de marcados cambios en la mucosa. Entre las principales alteraciones asociadas a la enfermedad celiaca están los cambios morfológicos de las células epiteliales, que pasan de ser cilíndricas a cúbicas, la pseudoestratificación de los núcleos y las alteraciones estructurales del ribete en cepillo. A pesar de estar alteraciones algunos pacientes no presentan síntomas asociados¹¹⁸. Aunque este tipo de lesión es característica, no son patognomónicos, dado que puede verse en otras entidades, como giardiasis, intolerancias alimentarias en niños, y el resto de entidades que enumeradas en la tabla 2^{119, 120}.

OTRAS CAUSAS DE ATROFIA VELLOSIARIA

Giardiasis.
Esprue colágeno.
Inmunodeficiencia común variable.
Enteropatía autoinmune.
Enteritis actínica.
Enfermedad de Whipple.
Tuberculosis.
Esprue Tropical.
Gastroenteritis eosinofílica.
Enteropatía por VIH.
Linfoma Intestinal
Síndrome Zollinger–Ellison
Enfermedad de Crohn.
Intolerancia alimentaria distinta al gluten (por ejemplo leche, soja, pollo)

Tabla 2. Principales patologías que pueden provocar atrofia vellositaria diferentes a la EC.

Marsh 4

Hipoplasia. Cursa con atrofia total de vellosidades y representa el estadio final de la enfermedad. Aparece en un pequeño subgrupo de pacientes. No suelen responder al régimen sin gluten y pueden desarrollar complicaciones malignas. Hoy día es una situación casi excepcional, por lo cual algunos patólogos consideran que no es relevante incluirla en la actualidad¹¹⁴.

1.7.3 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS GENERALES

Para establecer el diagnóstico de la EC es necesario valorar los hallazgos clínicos, serológicos e histológicos, todo ello asociado a una respuesta adecuada tras un tiempo de dieta libre de gluten.

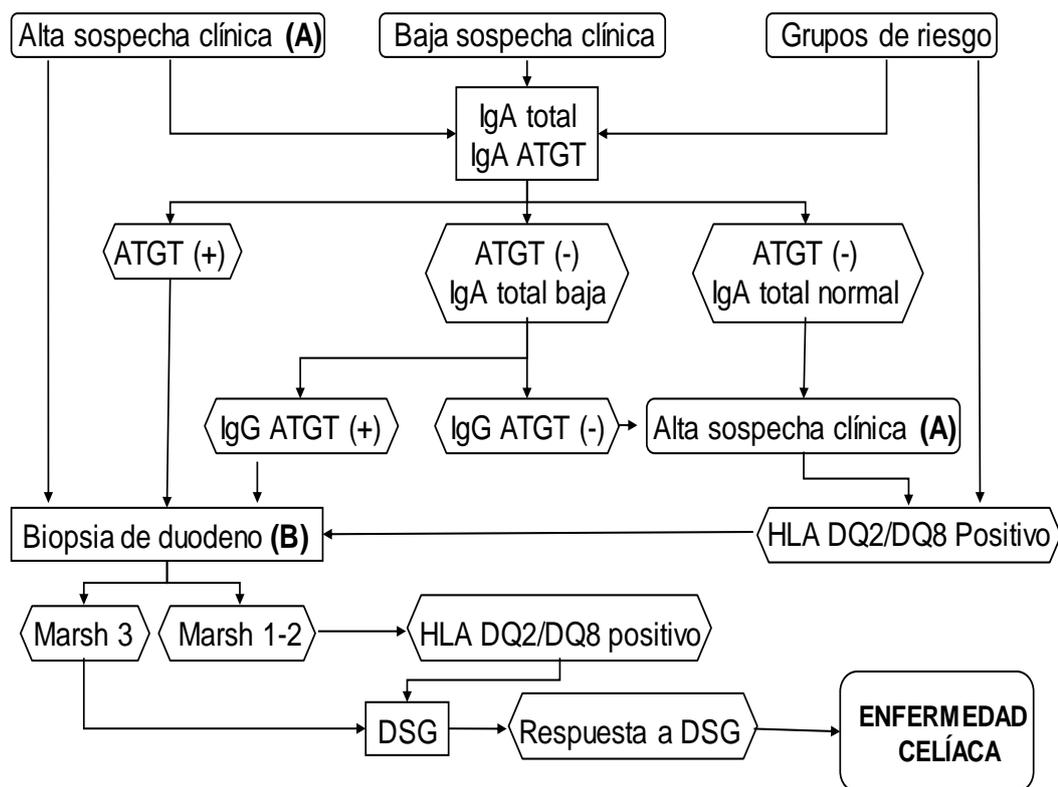
En 1970 la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) estableció los criterios diagnósticos de esta enfermedad, que exigían realizar tres biopsias intestinales para confirmar el diagnóstico, en dieta habitual, en dieta sin gluten (DSG) y tras prueba de provocación con gluten. En 2012 fueron aceptados unos criterios menos agresivos¹²¹. La serología celiaca adquiría un papel más relevante en el diagnóstico, incluso podía sustituir a la biopsia intestinal en el seguimiento de la lesión intestinal tras iniciar DSG y la provocación con gluten¹²². Los criterios diagnósticos actuales de EC que recomienda la ESPGHAN para el diagnóstico de la EC en la edad pediátrica son:

- 1- Historia y presentación clínica compatible con enfermedad celíaca.
- 2- Test serológicos compatibles con enfermedad celíaca. Unos anticuerpos antitransglutaminasa y antiendomiso elevados permiten el diagnóstico de la EC, sin necesidad de realizar una biopsia intestinal.
- 3- Genotipado de riesgo para la enteropatía sensible a gluten.
- 4- Histología compatible con enfermedad celíaca. La biopsia intestinal no es necesario realizar en todo los niños, solo en aquellos en los que las determinaciones serológicas no sean concluyentes.
- 5- Evidencia de una respuesta clínica, histológica y serológica a la dieta sin gluten.
- 6- Sujeto mayor de dos años.
- 7- Exclusión de otras condiciones que imitan a la EC.

Recientemente Carlo Catassi¹ publicó su regla 4 de 5 de acuerdo con la última revisión de la ESPGHAN. Estos postulados están más enfocados para la edad pediátrica. Indican que para conseguir el diagnóstico de la enfermedad celíaca es preciso presentar cuatro de las siguientes características (en ausencia de genotipado de riesgo es suficiente cumplir 3 de ellas):

- 1- Manifestaciones clínicas típicas de la EC
- 2- Título de ATG IgA elevado
- 3- Genotipado HLA DQ2 o DQ8.
- 4- Enteropatía severa en la biopsia de la mucosa del I. delgado.
- 5- Respuesta clínica y serológica a la DSG.

En la figura 5, se resume el algoritmo diagnóstico empleado actualmente y recomendado por el Ministerio de Sanidad y Consumo que está más enfocado al diagnóstico de la EC en adultos.



(A) En situaciones de alta sospecha clínica se puede iniciar el estudio mediante biopsia duodenal con endoscopia: anemia, diarrea, dispepsia...
 (B) Examen histopatológico incluyendo inmunotinción para linfocitos CD3
 ATGT: Anticuerpos antitransglutaminasa tisular. DSG: Dieta sin gluten

Figura 5. Algoritmo diagnóstico en la enfermedad celíaca en el adulto según el Ministerio de Sanidad.

La sospecha clínica es la base para orientar el diagnóstico, teniendo en cuenta las diferencias debidas a la edad de los pacientes. Los niños presentan manifestaciones clínicas más típicas y relevantes con alteraciones histológicas más marcadas que los adultos. También hay que considerando los sujetos pertenecientes a grupos de riesgo para desarrollar la EC. En estos individuos es fundamental realizar un cribado adecuado para la detección precoz la patología con el fin de evitar complicaciones a largo plazo.

Debe solicitarse los anticuerpos Antitransglutaminasa (ATG) de clase IgA, así como los valores plasmáticos de IgA, para detectar un posible déficit de IgA que puede provocar un falso negativo. En caso de déficit de esta inmunoglobulina deben ser analizados los ATG de clase IgG¹²³. Si el resultado de la serología es positivo, convendría confirmar el diagnóstico mediante la realización de biopsias de duodeno y estudio anatomopatológico, incluyendo la detección de linfocitos intraepiteliales (LIEs) CD3 mediante inmunohistoquímica (IHQ) y los depósitos subepiteliales de anticuerpos antitransglutaminasa.

Si la serología resulta negativa, pero persiste una sospecha clínica de EC elevada, puede completarse el estudio diagnóstico con la determinación del genotipo HLA DQ2 y DQ8 debido a la existencia de formas de enteropatía leve con serología negativa. Si el resultado es negativo, la probabilidad de que exista una EC es muy baja y debe plantearse un diagnóstico alternativo. Por el contrario, un estudio genético positivo hace recomendable completar el estudio con la realización de biopsias de duodeno. En los grupos de riesgo, principalmente en familiares de primer grado, la realización de biopsia duodenal mediante gastroscopia en sujetos con genotipado de riesgo, independientemente de la serología o clínica de los individuos, podría incrementar el número de casos diagnosticados^{28,124}, no obstante el cribado en este grupo de riesgo actualmente se realiza mediante técnicas serológicas.

Algunos pacientes con anemia u otros síntomas gastrointestinales como dispepsia, pirosis recidivante o refractaria al tratamiento con inhibidores de la bomba de protones, dolor abdominal de etiología no aclarada o diarrea de origen incierto, pueden ser derivados para la realización de una endoscopia digestiva alta (EDA). En estos pacientes, es recomendable completar el estudio endoscópico con la toma de biopsias de duodeno puede aumentar la rentabilidad diagnóstica y detectar la presencia de lesiones histológicas duodenales que de otro modo hubiesen pasado desapercibidas y hubieran llevado a emitir el diagnóstico erróneo.

En casos dudosos o de difícil diagnóstico, pueden ser útiles ciertas estrategias protocolizadas, siempre teniendo en cuenta la opinión del enfermo. 1) repetición de la serología y analítica periódicamente; 2) hacer una nueva endoscopia con tomas de biopsia con o sin sobrecarga de gluten; 3) realizar tratamiento de prueba con dieta sin gluten durante 6 meses, valorando la evolución clínica, y las modificaciones analíticas y serológicas.

1.8 TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO

El único tratamiento actualmente aceptado es el dietético, que consiste en el seguimiento estricto de la *dieta sin gluten* (DSG). Se basa en la eliminación indefinida de la dieta de todos los alimentos que en su composición, preparación, transporte o condimentación contengan harina procedente de cereales con gluten, fundamentalmente trigo, centeno y cebada. Hoy en día se debate si la dieta del celíaco puede contener avena, puesto que se ha sugerido que las aveninas de la avena no son tan sensibilizantes como las proteínas derivadas del trigo, la cebada o el centeno, de forma que ciertas cantidades de avena podrían no desencadenar lesiones intestinales^{19, 125, 126}, sin embargo frecuentemente la avena se mezcla con otros cereales con gluten en la recolecta, conservación o manipulación. En la realidad cotidiana no siempre es fácil conocer si un alimento, especialmente si es

manufacturado y no consta el contenido en gluten en la etiqueta, contiene gluten. Es recomendable, como norma general, que el celíaco evite el consumo de un alimento si no tiene la seguridad de que está exento de gluten. En la tabla 3 están resumidas las principales causas de fracaso de seguimiento a la DSG.

Si en el momento del diagnóstico el paciente presenta deficiencias de vitaminas o minerales incluyendo ácido fólico, vitamina B12, vitaminas liposolubles, hierro y calcio, puede tomar suplementos hasta su recuperación.

RAZONES PARA LA POBRE ADHERENCIA A LA DIETA LIBRE DE GLUTEN
1. Alto coste.
2. Escasa disponibilidad de alimentos libre de gluten.
3. Mal sabor de algunos alimentos libre de gluten.
4. Escasez de sintomatología cuando no se lleva a cabo la dieta libre de gluten.
5. Inadecuada información del contenido de gluten de comidas y bebidas.
6. Inadecuado consejo dietético.
7. Inadecuado seguimiento médico o nutricional.
8. Falta de participación en grupos de apoyo (asociaciones de celíacos).
9. Información inexacta de médicos, dietistas, grupos de apoyo e internet.
10. Comer fuera de casa.
11. Presión social y cultural.
12. Transición a la adolescencia.
13. Mal seguimiento médico tras la infancia.

Tabla 3. Principales causas que provocan una pobre adherencia a la DSG.

Actualmente existe un gran interés en el desarrollo de terapias no dietéticas que podrían reemplazar el seguimiento riguroso de la DSG. La alternativa más atractiva se basa en la utilización de *enzimas recombinantes* que son capaces de digerir la fracción tóxica del gluten en el estómago y la porción proximal del intestino delgado. Entre ellas destacan las

endopeptidasas de origen bacteriano capaces de degradar péptidos de 33-mer descritas por Shan et al^{127,128}. Altas concentraciones de prolyl-peptidasa han demostrado en estudios sobre biopsias que originan una disminución de la inmunoestimulación de péptidos de gliadina, originando una menor activación de la respuesta inmune innata y de la activación de los linfocitos T^{129,130}.

Otra línea de investigación está dirigida hacia el desarrollo de cereales genéticamente modificados que contengan un gluten con una reducción o ausencia de la inmunogenicidad. Se ha observado que diferentes variedades de trigo contienen secuencias de péptidos que originan una menor activación de los linfocitos T^{131, 132}. Se está intentando universalizar la utilización de estas variedades de cereales, sin embargo no es una tarea sencilla.

Otras posibilidades terapéuticas sobre las que se están trabajando son la creación de algún tipo de vacuna para inducir tolerancia al gluten, conseguir bloquear la actividad de la transglutaminasa tisular, reducir la permeabilidad intestinal a nivel de las zónulas, actuar en la capacidad de transporte de los péptidos HLA-DQ o en el complejo MICA-NKG2D consiguiendo interferir en la respuesta inmune, logrando la inhibición de la permeabilidad del intestino delgado¹³³. Sin embargo, estas medidas todavía están en fase de investigación y tardarán hasta que se comercialicen.

Tras el inicio de la DSG normalmente se observa una mejoría clínica al cabo de unos días o semanas. A los 6 meses comienza la normalización de los niveles serológicos. La recuperación de la mucosa intestinal aparece tras años de seguimiento de DSG. En los niños la normalización serológica e histológica es la norma habitual, sin embargo, en los adultos estos fenómenos se producen a un ritmo más lento que en la edad pediátrica y no siempre se consiguen¹⁴. La principal causa de fracaso de la DSG es la falta de adherencia de la misma, sin embargo existen otras circunstancias que pueden provocar la persistencia de la sintomatología como un diagnóstico erróneo o la presencia de diferentes comorbilidades como la colitis microscópica, la enfermedad de Crohn o la intolerancia a la lactosa. En la tabla 4 están resumidas las causas más importantes relacionadas con el fracaso DSG como tratamiento de la EC.

PRINCIPALES CAUSAS DE MALA RESPUESTA A LA DSG EN LA ENFERMEDAD CELIACA

1. Diagnóstico incorrecto.
2. Ingesta de gluten (intencional o no intencional).
3. Colitis microscopia.
4. Intolerancia a la lactosa.
5. Insuficiencia pancreática.
6. Sobrecrecimiento bacteriano.
7. Intolerancia a otros alimentos distintos del gluten (soja, leche, fructosa).
8. Enfermedad inflamatoria intestinal.
9. Síndrome del intestino irritable.
10. Incontinencia anal.
11. Esprúe colágeno.
12. Enteropatía autoinmune.
13. Enfermedad celíaca refractaria (con o sin proliferación clonal de linfocitos T).
14. Enteropatía asociado a linfoma de células T.

Tabla 4. Causas principales de fracaso a la DSG

En el diagnóstico de la EC, debe insistirse en la importancia de hacer una DSG de forma estricta. En ocasiones es fundamental la colaboración de un dietista para investigar y evitar posible trasgresiones accidentales. El seguimiento debe realizarse mediante la monitorización de los parámetros serológicos y en los casos que sea necesario la realización de una nueva biopsia intestinal mediante una endoscopia digestiva alta. En la figura 6 está resumido el algoritmo en el manejo de la EC en el adulto según la respuesta clínica, serológica e histológica a la DSG.

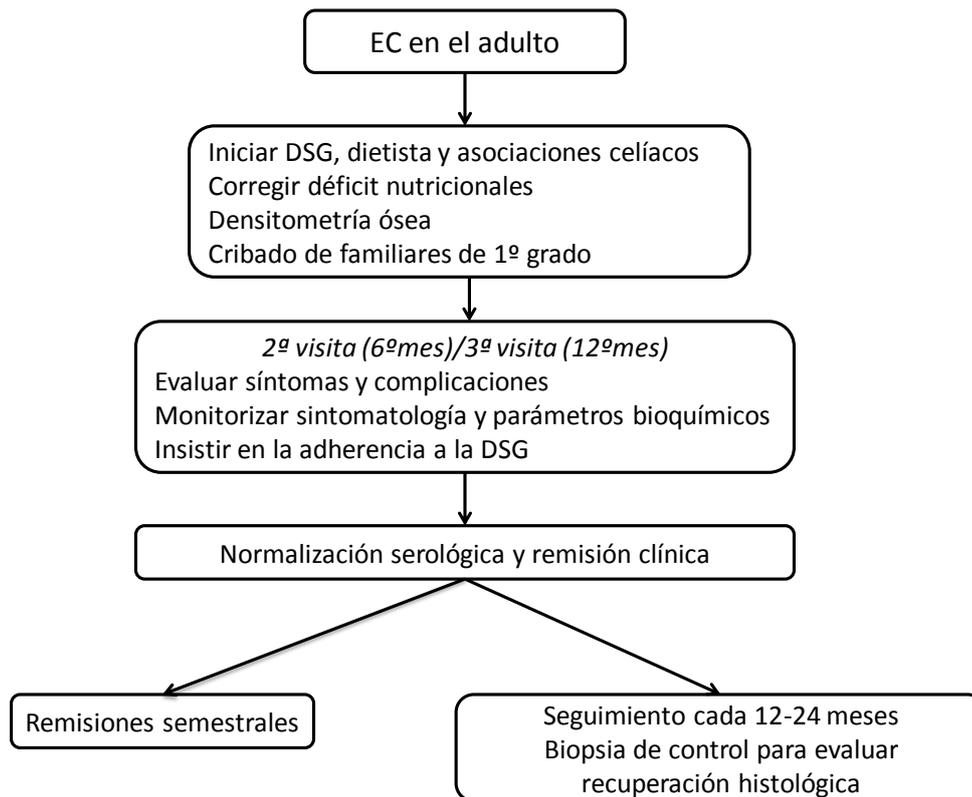


Figura 6. Algoritmo de manejo de la EC en el adulto.

1.9 COMPLICACIONES

La ingesta de gluten es la principal causa de recurrencia de la sintomatología en la mayoría de los pacientes celíacos. En ocasiones tiene su origen en la aparición de complicaciones de la EC: adenocarcinoma intestinal, linfoma intestinal, o enfermedad celíaca refractaria^{2, 102, 134}.

ADENOCARCINOMA DE INTESTINO DELGADO

Los pacientes celíacos tienen una prevalencia dos veces superior que la población general para desarrollar cáncer incluyendo linfomas no Hodgkin de células T o B, adenocarcinoma orofaríngeo o esofágico, cáncer intestinal, de vías hepatobiliares o páncreas. En estos pacientes el adenocarcinoma de intestino delgado es un tumor raro, pero presentan un incremento del riesgo respecto a la población general¹³⁵.

La localización más frecuente es en yeyuno. Normalmente aparece a partir de zonas de mucosa con displasia^{136, 137}. Suele ser diagnosticado mediante la cápsula endoscópica o enteroscopia y la realización de pruebas de imagen como el TC abdominal en pacientes celíacos que persiste dolor abdominal o sangre oculta en heces pese a la DSG^{138,139}.

ENFERMEDAD CELÍACA REFRACTARIA (ECR)

Es una entidad poco frecuente que afecta a menos del 5% de los celíacos de forma casi exclusiva en la edad adulta. Se define como la persistencia de síntomas y la atrofia vellositaria a pesar de una estricta adherencia a la dieta sin gluten¹⁴⁰. La sintomatología que presentan estos pacientes incluye diarrea, pérdida de peso, recurrencia de la malabsorción, dolor abdominal, sangrado y anemia y yeyunitis ulcerosa¹⁴¹.

En la ECR tipo 1 los linfocitos intraepiteliales tiene un fenotipo normal. Mientras que la ECR tipo 2 presenta expansión clonal de linfocitos intraepiteliales aberrantes con sobreexpresión de IL-15, CD3 citoplasmática, pero con ausencia de expresión en la superficie linfocitaria de CD3, CD8, CD56 y TCR α/β o γ/δ ¹⁴². Estos linfocitos aberrantes constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de linfoma¹⁴³.

El desarrollo de nuevos síntomas como pérdida de peso, dolor abdominal, fiebre... o recurrencia de la diarrea en pacientes que siguen un estricta dieta sin gluten requiere investigarlo mediante transito radiológico, enteroTC, cápsula endoscópica, gastroscopia, enteroscopia, laparoscopia...¹⁴⁴.

El tratamiento consiste en continuar con la dieta sin gluten junto con la resolución de las deficiencias nutricionales. En la mayoría de los casos los corticoides inducen una mejoría clínica¹⁴⁵. Los inmunosupresores pueden ser beneficiosos pero deben ser usados con precaución porque pueden favorecer la progresión a linfoma. El trasplante de células madre hematopoyéticas ha sido utilizado de manera exitosa. Nuevas estrategias como el bloqueo de IL-15, deben ser investigadas dado que el pronóstico de estos pacientes muy malo, menor del 50% a los 5 años¹⁴⁶.

ENTEROPATÍA ASOCIADO A LINFOMA DE CÉLULAS-T (EALT)

La EALT ocurre normalmente en adultos a partir de la 6ª década de la vida. Los síntomas que presenta incluyen malestar, anorexia, pérdida de peso, diarrea, dolor abdominal, y fiebre inexplicable¹⁴⁷. Esta patología normalmente aparece en el yeyuno, pero también puede localizarse en íleon o incluso en localizaciones extraintestinales (hígado, cerebro, pulmón, hueso...) y frecuentemente es multifocal.

El pronóstico es malo, menos del 20% de los pacientes sobreviven 30 meses. El fenotipo de la enteropatía asociada a linfoma de células-T, es similar a un tumor derivado de la proliferación clonal de linfocitos intraepiteliales, que mediante inmunohistoquímica presentan CD3+, CD4-, CD8-, CD56-, CD30+ y CD103+^{148, 149}.

El tratamiento se basa en la quimioterapia, aunque la cirugía puede ser útil en caso de linfoma localizado o complicado. El trasplante de células madre hematopoyéticas también ha sido utilizado con éxito^{149, 150}.

YEYUNITIS ULCERATIVA

Es una complicación muy infrecuente caracterizada por malabsorción y ulceraciones en el intestino delgado que suele afectar al yeyuno e íleon.

Tiene una mayor incidencia en la sexta-séptima década de la vida con predominio en el sexo femenino. El diagnóstico de confirmación se realiza mediante estudio histológico. El tratamiento resulta complejo, ya que no se conoce ningún tratamiento que haya conseguido modificar el curso de la enfermedad. Aunque no suele responder a la dieta sin gluten, se sospecha que la estimulación continua por la gliadina favorezca la evolución hacia linfoma por lo menos en pacientes con enfermedad celiaca previa. Tiene un mal pronóstico con una supervivencia media de 2-3 años tras el diagnóstico. La muerte suele deberse a la progresión a linfomas, sepsis, perforación, hemorragia, obstrucción o por complicaciones postoperatorias.

1.10 GRUPOS DE RIESGO DE LA EC

La prevalencia de la enfermedad celiaca en los países desarrollados se sitúa en torno al 0,5-1%, sin embargo existen distintos grupos poblacionales con mayor prevalencia^{2, 151}. Es importante conocer las circunstancias que conllevan un mayor riesgo para el desarrollo de la

EC, con la intención conseguir mediante la aplicación de medidas de cribado en estos grupos el diagnóstico y el tratamiento precoz de esta patología⁴⁸.

FAMILIARES

Los familiares de primer grado de los pacientes con EC son el principal grupo de riesgo de presentar esta patología. La prevalencia de este grupo se sitúa en torno al 12%-20%¹⁵²⁻¹⁵⁴. Mientras la prevalencia en los familiares de segundo grado es menor entre el 2,6-5,5% pero todavía superior a la población general^{155,156}.

ANEMIA FERROPÉNICA

Independientemente de la presencia de sintomatología digestiva, la prevalencia de la EC en sujetos con anemia ferropénica de origen desconocido es elevada. De tal manera que entre el 10-15% de estos sujetos tienen algún grado de enteropatía sensible al gluten¹⁵⁷⁻¹⁶¹. Las guías actuales recomiendan la obtención de biopsias de la mucosa duodenal en pacientes con anemia ferropénica de causa desconocida que son sometidos a una gastroscopia¹⁶².

OSTEOPOROSIS Y DESMIELINIZACIÓN ÓSEA

Los pacientes con alteración en la mineralización ósea evidencian un riesgo entre el 1,5% y el 3% para desarrollar la EC^{163, 164}, especialmente en aquellos que presentan prematuramente osteoporosis u osteomalacia. El diagnóstico precoz y el correspondiente tratamiento de la EC podrían disminuir el grado de desmineralización ósea encontrado.

DIABETES TIPO 1

La diabetes mellitus (DM) tipo 1 tradicionalmente se ha relacionado con esta enteropatía. La prevalencia de la EC en pacientes con DM tipo 1 varía entre el 2 y el 5% en adultos^{165,166} y del 3 al 8%^{167,168} en niños. La mayoría de los pacientes con asociación de ambas entidades tienen la característica de presentar síntomas gastrointestinales. Es recomendable realizar test de cribado serológico a los diabéticos con síntomas digestivos. Además en todos los diabéticos tipo 1 que son sometidos a una gastroscopia deberían obtenerse biopsias duodenales².

ENFERMEDADES HEPÁTICAS

La prevalencia de la EC en pacientes con elevación de las transaminasas de causa desconocida se sitúa en torno al 1,5-9%^{169,170}, en la hepatitis autoinmune entre el 2,9-6,4%¹⁷⁰⁻¹⁷² y en la cirrosis biliar primaria en torno al 6%¹⁷³. Por lo tanto debería ser evaluado la

existencia de la celiaquía en estos pacientes. Sin embargo, el riesgo de enteropatía sensible a gluten no aumenta en la colangitis esclerosante primaria, ni en la esteatosis hepática no alcohólica.

ALTERACIONES GENÉTICAS

Los sujetos con síndrome de Down tienen un riesgo en torno al 3-12% de tener la EC¹⁷⁴,¹⁷⁵. Es decir, el riesgo de celiaquía en pacientes con síndrome de Down es 5 veces mayor que en la población general¹⁷⁶. La probabilidad de desarrollar la EC puede estar incrementada en pacientes con síndrome de Williams, aunque los datos disponibles son bastante limitados. La prevalencia de la EC en pacientes con síndrome de Turner se sitúa entre el 2-10%¹⁷⁷. Tanto en el síndrome de Down como en el síndrome Turner la enfermedad celíaca aparece en sujetos con HLA DQ2 y DQ8.

ALTERACIONES REPRODUCTIVAS

La celiaquía se asocia con complicaciones reproductivas que incluyen menarquia precoz, partos prematuros, alta tasa de abortos e infertilidad de causa inexplicable. Entre el 2,1-4,1% de las mujeres con alteraciones de la fertilidad de causa desconocida tienen una enfermedad celíaca añadida^{178, 179}. Tras la instauración de DSG estos problemas mejoran significativamente. Por lo tanto es recomendable descartar esta entidad en mujeres con dificultades reproductivas.

ENFERMEDADES TIROIDEAS AUTOINMUNES

Entre 1,5%-6,7% de los individuos con desordenes tiroideos de origen autoinmunes presentan de manera asociada la EC¹⁸⁰⁻¹⁸². Sin embargo, no es recomendable realizar procedimientos rutinarios de cribado para esta enteropatía, en los pacientes con patología tiroidea si no tienen síntomas asociados.

OTRAS ENFERMEDADES

La EC está asociada a otras enfermedades como la enfermedad de Addison, déficit de IgA, epilepsia idiopática, neuropatía periférica, calcificaciones occipitales, ataxia, síndrome de Sjögren, síndrome de intestino irritable y otras entidades de origen autoinmune posiblemente sea debido a susceptibilidad genética basada en genes del sistema HLA.

2. FAMILIARES DE PRIMER GRADO

Los familiares de primer grado de los pacientes celíacos son el principal grupo de riesgo para la aparición de la ESG. La influencia de los factores genéticos asociados al sistema HLA como parte de la etiología de la EC permite explicar la predisposición familiar. En nuestro país aproximadamente el 90-95% de los celíacos tienen el haplotipo HLA DQ2 o DQ8¹⁸³. El 65% de los familiares de primer grado disponen del genotipado de riesgo, en contraposición sólo el 20 % de la población general presentan estos genotipos.¹⁸⁴

Cuatro estudios han descrito el riesgo de EC en familiares de primer grado mediante la utilización exclusiva de biopsias duodenales. En estos trabajos el riesgo de EC entre los familiares variaba entre el 5,5% y el 22,5%^{152-154, 185}. Sin embargo, cuando al considerar las lesiones Marsh grado I (aumento de linfocitos intraepiteliales) en el diagnóstico de la EC, la prevalencia ascendía hasta el 44,1%^{186, 187}.

La probabilidad de la EC en los familiares de primer grado también ha sido estudiada en 6 estudios a través de métodos de cribado serológico. La prevalencia de celiaquía varía del 4-12%^{156, 188-192}. La confirmación mediante biopsia duodenal realizada demostró que entre el 80-100% de los sujetos con serología positiva eran celíacos.

Actualmente el cribado de los familiares de primer grado se realiza mediante la realización de procedimientos serológicos. Sólo se realiza una gastroscopia para obtener biopsias duodenales en aquellos familiares que presenten un título serológico positivo. Probablemente esta estrategia de screening de la EC puede infradiagnosticar la enfermedad. Estudios previos realizados por la unidad de enfermedad celíaca del Hospital de León, en familiares de primer grado con serología negativa, detectó que el 12% eran celíacos y un 39% mostraban un incremento de los linfocitos intraepiteliales¹⁹³. Este procedimiento de cribado permite la identificación de un mayor número de celíacos que utilizando métodos serológicos. Por esta razón la obtención de biopsia duodenal en aquellos familiares que presenten el genotipado HLA de riesgo para la EC, probablemente aumente el número de familiares con lesiones histológicas duodenales.

Sin embargo, el problema viene determinado por la presencia de formas atenuadas de esta entidad en los familiares de primer grado adultos. El diagnóstico de la enfermedad en sujetos asintomáticos, con serología negativa es todo un reto clínico que todavía no está resuelto. Estudios recientes defienden la realización secuencial de la endoscopia digestiva alta a

los individuos con genética de riesgo, independientemente de los hallazgos serológicos. Este procedimiento diagnóstico permitiría mejorar en un 50% las alteraciones detectadas.

3. ENTERITIS LINFOCÍTICA

El intestino es un órgano linfoide primario. Este tejido linfoide está asociado a la mucosa gastrointestinal (MALT) y distribuido por dos tipos de compartimentos, uno de ellos difuso, formado por los linfocitos intraepiteliales (LIEs) y los linfocitos de la lámina propia (LPL) y el otro organizado compuesto por las placas de Peyer, el apéndice, los ganglios linfáticos mesentéricos y los folículos linfoides del epitelio¹⁹⁴.

El epitelio de la mucosa intestinal está recubierto por dos tipos de células, los enterocitos, responsables de los procesos de digestión-absorción, y los LIEs. Estos linfocitos están dispuestos en dos tipos poblacionales, los que presentan receptores T alfa-beta ($\alpha\beta$) y los que tienen receptores T gamma-delta ($\gamma\delta$). Una subpoblación importante de estas células dispone de receptores de células *natural killer* y pueden responder a señales de estrés³⁰.

Los LIEs son reconocidos mediante tinción con hematoxilina-eosina, pero también pueden ser marcados con anticuerpos monoclonales anti-CD3 para evitar confundirlos con otras células. De este modo la biopsia duodenal procesada para estudio anatomopatológico permite valorar un aumento de estos LIEs. También se ha observado aumento de LIEs en estómago y en el intestino delgado^{195,196}.

La función específica de los LIEs es desconocida, participan en la actividad citotóxica contra tumores epiteliales, secreción de citoquinas y liberación de factores de crecimiento. Los LIEs están en íntimo contacto con los enterocitos. Sin embargo, estas células están en primera línea de actuación entre la interacción del sistema inmune de la mucosa intestinal y el gran número de antígenos desconocidos que alcanzan la luz intestinal¹⁹⁷. Su habilidad para responder a un número limitado de antígenos y crear respuestas es un modo de controlar la respuesta inmune y preservar la permeabilidad selectiva de la mucosa intestinal¹⁹⁸.

El aumento de LIEs es la primera manifestación y la más sensible de los efectos del gluten sobre la mucosa intestinal^{114, 116}. Se define como un incremento del número de LIEs superior a 25 linfocitos por 100 enterocitos. Es indicador de una respuesta inmunológica, como la posible exposición al gluten en la enfermedad celiaca. El aumento de LIEs en la enfermedad celiaca se conoce por el estadio I de la Clasificación de Marsh. El diagnóstico de enfermedad celiaca se realiza con la respuesta clínica e histológica a la dieta sin gluten. Pero algunos

autores sólo reconocen una celiaca definitiva si existe serología positiva. Los LIEs no son específicos de la enfermedad celiaca, sino que también se encuentran elevados otros procesos¹⁹⁹⁻²⁰¹. En la tabla 5 están descritas las principales circunstancias que pueden originar un incremento del número de LIEs.

ENTERITIS LINFOCÍTICA
Infección por <i>Helicobacter pylori</i> .
Lesión por AINES.
Parasitosis por <i>Giardia lamblia</i> .
Enfermedad de Whipple.
Enfermedad de Crohn.
Enteropatía del SIDA.
Sobrecrecimiento bacteriano.
Enteritis eosinofílica.
Linfoma intestinal.
Hipo o agammaglobulinemia.
Amiloidosis.
Linfangiectasia intestinal.
Enteritis por radiación.
Hipertiroidismo.
Gastroenteritis infecciosa.

Tabla 5. Diagnóstico diferencial de la enteritis linfocítica

La EC es la única patología en la que se produce aumento del subtipo de LIEs que expresan TCR gamma delta de manera sistemática y permanente. La cuantificación de los tres parámetros alterados en la EC (LIEs totales, LIE- $\gamma\delta$ y LIE NK-like), perfil denominado linfograma LIE, presenta gran sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la EC. El linfograma puede ser de gran ayuda en el diagnóstico de las formas latentes y potenciales, en las que los

marcadores serológicos son inconstantes y la atrofia no es manifiesta. También es útil en el déficit de IgA, en esta situación los anticuerpos IgA antiendomiso y antitransglutaminasa no son valorables²⁰². Si bien la implantación de esta técnica es minoritaria, y no es fácil de generalizar. El desarrollo de métodos sencillos de obtención de LIEs a partir de biopsias de intestino delgado posibilita su aplicación rutinaria en un futuro próximo, como la valoración de depósitos subepiteliales de anticuerpos transglutaminasa.

4. HELICOBACTER PYLORI

Helicobacter pylori (HP) es un bacilo gran negativo, multiflagelado, y microaerófilo de forma espirada. Segrega distintas sustancias como ureasa, proteasas, lipopolisacáridos, fosfolipasas, radicales libres de oxígeno y citotoxinas como interleucina-12, factor de necrosis tumoral, factor activador de plaquetas e interferón gamma²⁰³⁻²⁰⁵.

Aproximadamente el 50% de la población mundial está infectado por esta bacteria. Este porcentaje es superior en los países subdesarrollados alcanzando hasta el 70-90%^{206, 207}. En la España y resto de la Unión Europea tienen una prevalencia en torno al 30%²⁰⁸.

La vía de transmisión es fecal-oral, u oral-oral. Ha sido posible aislar esta bacteria en saliva, heces e incluso en las encías. Alcanza la mucosa gástrica donde anida protegido por el ácido clorhídrico²⁰⁹.

Esta bacteria conlleva unos elevados costes sociosanitarios derivados de los procedimientos necesarios para su diagnóstico y tratamiento, pero también por las complicaciones que genera. Actualmente existe un gran desconocimiento del papel de esta bacteria en múltiples circunstancias clínicas. Sin embargo el 20% de los pacientes infectados con esta bacteria presentan una complicación mayor como úlcera gastroduodenal o cáncer gástrico^{210, 211}.

El HP clásicamente ha sido relacionado con la dispepsia funcional. De manera que aproximadamente el 12% de los sujetos con esta patología que reciben tratamiento erradicador, sin previa investigación de la posible infección, mejoran²¹². La eficacia de la eliminación de la bacteria en estas circunstancias es aproximadamente del 10% (IC95% 6-14%)²¹³.

Esta bacteria es una de las principales causas de incremento de LIEs²¹⁴. La infección provoca un incremento reactivo de linfocitos, sin embargo la respuesta inmune es ineficaz para eliminar la bacteria. El aumento de LIEs en los familiares de primer grado nos plantea

dudas del posible origen. Es recomendable en la endoscopia digestiva alta, la obtención de 2 biopsias de antro y 2 de cuerpo gástrico además de las muestras duodenales para poder detectar este patógeno²⁰⁶. Si confirmamos la presencia de la bacteria, sólo podemos asegurar que el aumento de LIEs es debido a la EC (MARSH I) si tras el tratamiento erradicador persiste un número de linfocitos elevado. La gastroscopia de control puede realizarse entre los 6-12 meses tras el tratamiento contra el HP.

5. MINERALIZACIÓN ÓSEA EN LA EC

La asociación entre la EC y la osteoporosis fue descrita por primera vez en 1930. Estimaban que aproximadamente 2/3 de los pacientes en edad pediátrica en el momento del diagnóstico presentaba algún grado de alteración de la mineralización ósea (osteoporosis u osteopenia). Además estos celíacos tienen un riesgo de osteoporosis dos veces superior que la población general. La atrofia vellositaria y un bajo índice de masa corporal (IMC) son considerados como los principales predictores relacionados con una densidad mineral ósea baja⁶. Este fenómeno es reversible en la infancia. Tras dos años de seguir una DSG, los niños evidencian una recuperación de la mineralización y normalización de los marcadores serológicos de osteoporosis²¹⁵.

Sin embargo, en los adultos recién diagnosticados el problema es más complejo. El pico de masa ósea, o máxima cantidad de calcio acumulado en los huesos, es alcanzado en la tercera década de la vida. Después de los 30 años la densidad mineral ósea comienza a sufrir un descenso progresivo. Además la frecuencia de asociación entre una EC asintomática o con clínica atípica y la osteoporosis es 10 veces superior que en pacientes sin osteoporosis. El resultado de la deficiente mineralización ósea en celíacos adultos es un incremento del riesgo de fracturas²¹⁶. Por lo tanto es necesario investigar, mediante densitometría ósea, el estatus mineral óseo de los celíacos adultos recién diagnosticados para instaurar medidas terapéuticas oportunas.

Los mecanismos patógenos y los factores determinantes de una baja densidad mineral ósea en la EC todavía son desconocidos completamente. Existen diferentes teorías para explicar la etiopatogenia de las alteraciones en la mineralización ósea en la celiaquía. Es posible que la malabsorción de distintos nutrientes originada por el daño de la mucosa intestinal sea el factor más importante que provoque la alteración del metabolismo óseo. Por

otro lado recientemente ha sido propuesta otra teoría, que afirma que el origen de la osteoporosis se debe a la inflamación crónica intestinal, representada por un incremento de los LIEs, que ocasiona la pérdida del calcio de los huesos. Es probable que la combinación de ambos factores contribuya a la disminución de la masa ósea²¹⁶.

Aproximadamente el 87,5% de los celíacos tienen unos niveles de vitamina D bajos al diagnóstico, sin asociar un descenso en la expresión de los receptores de vitamina D. Existe un gran desconocimiento en torno a las funciones de la vitamina D, entre las que destaca la activación de linfocitos T encargados de mantener la integridad de la mucosa intestinal y la regulación de las proteínas de las uniones intercelulares del borde en cepillo²¹⁷.

Los familiares de primer grado de los celíacos son un grupo que por un lado presentan una elevada prevalencia de EC con el estado de malabsorción que conlleva. También han sido publicadas series que describen en este colectivo de riesgo, un incremento de los LIEs en los familiares de primer grado sin conocer con certeza el significado clínico de este fenómeno. Sin embargo, diferentes autores han demostrado que los pacientes con enteritis linfocítica presentan similares alteraciones en el metabolismo óseo que los sujetos con atrofia vellositaria^{218,219}. Por lo tanto, alteraciones histológicas leves pueden ser un factor de riesgo que condicione una afectación ósea importante. Pocos estudios han evaluado la relación del incremento de osteoporosis y osteomalacia en los familiares de primer grado de pacientes con la EC. Por esta razón desconocemos que beneficio podemos obtener al aplicar métodos de valoración del estado mineral óseo a este grupo de riesgo.

6. SENSIBILIDAD AL GLUTEN (SG)

El término “sensibilidad al gluten” incluye distintas alteraciones morfológicas, funcionales o inmunológicas que responden a la exclusión de gluten de la dieta, independientemente de los hallazgos histológicos encontrados²²⁰. Podemos entender el término de “sensibilidad al gluten” (SG) como una condición de algunas alteraciones morfológicas, funcionales o inmunológicas que responden a la exclusión del gluten en la dieta y que han sido descritos recientemente²²¹.

La intolerancia al gluten en individuos sin la EC es una cuestión controvertida. La mayoría de las publicaciones describen este evento en pacientes con serología positiva asociados a atrofia vellositaria o incremento de los LIEs duodenales. Es decir, la respuesta inmunológica

característica de la SG ha sido descrita en la celiacía inicialmente, sin embargo puede observarse en otras circunstancias distintas.

Entre la posible variedad de circunstancias que forman parte de esta entidad destaca las alteraciones de la respuesta inmunológica al gluten en familiares de celíacos, serología persistente negativa pese a la ausencia de daño intestinal, y los cambios sutiles inmunopatogénicos en el intestino expuesto a gluten. Estos cambios mínimos pueden incluir aumento de los LIEs, aumento de los depósitos de IgA en las vellosidades intestinales, cambios en los bordes de las microvellosidades o un aumento en los AAG sin ser necesaria su manifestación²²².

Típicamente estas alteraciones fueron asociadas a individuos portadores del alelo HLA DQ2 o DQ8. Sin embargo, diferentes estudios recientes han demostrado el desarrollo de la SG en sujetos que no presentaban esta predisposición genética^{223, 224}. Inicialmente esta patología fue observada en familiares de celíacos que a pesar de no presentar atrofia de las vellosidades tenían una respuesta inmune al gluten anormal en la mucosa rectal²²². Existe un estudio que determina que 8 de cada 10 pacientes con síntomas sugestivos de enfermedad celíaca muestran cambios mínimos en la mucosa intestinal (Marsh I o II), y que estos cambios mucosos y la sintomatología mejora tras la retirada del gluten. Todos estos pacientes eran portadores del haplotipo HLA DQ2 o DQ8²²⁵. Otro estudio investigó el papel de la histología en el diagnóstico de la SG. Doce de cada 28 pacientes con aumento de LIEs tenían esta patología. Este diagnóstico está basado en la mejoría clínica de los pacientes tras la retirada del gluten de la dieta y en el uso del "linfograma intraepitelial"²²⁶. La ausencia de respuesta a la supresión dietética probablemente se deba a que en estos casos la etiología de la enteritis linfocítica es independiente del gluten. Como anteriormente se expuso, otras causas pueden originar un incremento de los linfocitos intraepiteliales como la infección por HP, la intolerancia a la lactosa, el sobrecrecimiento bacteriano, etc... Por otro lado, es posible que los individuos que respondieron a la DSG puedan ser formas leves de EC. Para confirmar el diagnóstico de la SG debe realizarse un seguimiento clínico, serológico e histológico durante el seguimiento de la dieta.

La SG también incluye sujetos que a pesar de la ausencia de ATG circulantes muestran infiltrado linfocítico después de ser expuestos al gluten^{222, 223, 227}. Los pacientes que sin atrofia vellositaria y sin anticuerpos circulantes responden a la DSG pueden ser catalogados como individuos con SG.

El mecanismo por el que el gluten provoca la sintomatología es una de las claves aún por resolver. La fermentación bacteriana de péptidos de gluten no absorbidos provoca distensión y molestias abdominales. Además el gluten puede originar la activación colinérgica intestinal con el consecuente aumento del peristaltismo y secreciones gastrointestinales. Esta estimulación nerviosa puede ser mediada a través de la acción directa del gluten o indirectamente mediante la liberación de neurotransmisores. Otra teoría defiende la posible participación de péptidos de gluten sobre las uniones intraepiteliales intestinales que incrementan la permeabilidad de la mucosa intestinal²²⁴.

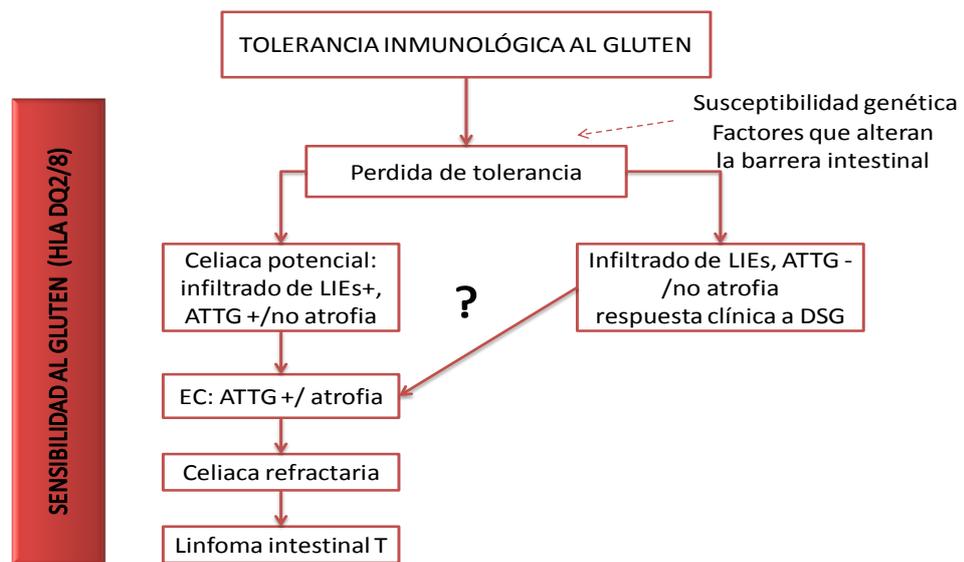


Figura 7. Espectro de SG (sensibilidad al gluten) que incluye sujetos con predisposición genética y sensibilidad al gluten y sus complicaciones.

Hasta ahora el manejo clínico de la SG no está claro y no existen guías clínicas al respecto. Como se demuestra en la anterior figura se desconoce si una proporción de los sujetos con sensibilidad al gluten sin enfermedad celiaca, pueden progresar en el tiempo mostrando una enfermedad celiaca pura o incluso desarrollar formas severas de esta patología.

La prevalencia de la SG es aproximadamente del 5-6%. Sin embargo, presenta un papel importante dentro de la patología funcional digestiva. La prevalencia de la SG representa el 5-10% de la dispepsia funcional y el 7-18% del SII²²⁸. Además es probable que si conseguimos

comprender este tipo de intolerancia posiblemente encontremos respuesta y solución a esas entidades tan prevalentes en nuestro medio.

La EC se manifiesta en sujetos genéticamente predispuestos como una respuesta inmune frente al gluten ingerido. Esta respuesta inmune contiene una parte innata y otra adaptativa y las dos parecen ser las responsables del daño histológico a nivel de la mucosa intestinal². Recientemente se ha visto que los péptidos de gliadina pueden ejercer una toxicidad directa sobre la mucosa intestinal. Estos péptidos de gliadina puede ser capaz de originar una respuesta inmunológica de tipo innata a nivel local en el duodeno de sujetos sanos similar a la que padecen los pacientes celíacos²²⁹. Sin embargo, parece que en estos sujetos sanos no se presenta la respuesta adaptativa frente a la gliadina que es fundamental en el mecanismo patogénico de los celíacos.

Se ha observado como la dieta puede influir en la sintomatología que presentan los pacientes con patología funcional digestiva, pero de una forma individualizada. No se ha detectado ningún alimento que claramente puedan estar relacionados con estas enfermedades de una forma generalizada o que afecte a un grupo amplio²³⁰. Sin embargo, es probable que los alimentos con una mayor implicación sean aquellos que contienen lactosa y gluten. Tampoco se conocen los factores que pueden estar asociados a una mejor respuesta dietética. La detección de anticuerpos frente a determinados alimentos nos pueden indicar que alimentos retirar²³¹. Pero esto es una práctica que no se realiza de forma habitual en la clínica por su elevado coste y la falta de estudios a largo plazo sobre su beneficio real. Algunos estudios han evaluado el posible papel del gluten como alimento individual asociado a la sintomatología de estos pacientes²³². La mayoría de los estudios se han centrado en el papel de las alteraciones motoras gastrointestinales que inducen síntomas y no han estudiado en profundidad el significado clínico de la relación entre esas anomalías y los síntomas producidos. La evidencia actual sugiere que los pacientes con dispepsia funcional muestran alteraciones en los hábitos de comida e intolerancias alimentarias (particularmente a comidas con mayor contenido de grasa), y que estos síntomas pueden ser alterados por influencias cognitivas. Sin embargo, todavía se deben realizar estudios más consistentes que demuestren que los síntomas en pacientes funcionales se exacerban con determinados tipos de alimentos²³³.

En los últimos años se ha incrementado el interés por el papel que puede jugar la microbiota intestinal en el desarrollo y evolución de la enfermedad celíaca y del síndrome de intestino irritable. Se ha evidenciado una asociación entre padecer una infección

gastrointestinal y el desarrollo posterior de un síndrome de intestino irritable²³⁴ o también una enfermedad celíaca²³⁵. Esta relación estaría basada en un aumento de la permeabilidad intestinal originado por la infección a nivel de la mucosa intestinal y de este modo se facilita el paso de agentes extrínsecos que pueden favorecer el inicio de estas patologías. Hasta el momento se han sugerido múltiples factores ambientales predisponentes de la EC como la infección en niños con el adenovirus enterocitario humano 12. Este virus posee la proteína E1B que tiene una secuencia de 12 aminoácidos idéntica a un péptido 12-mer presente en las gliadinas. La similitud entre esta proteína vírica y el péptido 12-mer podría favorecer una reacción cruzada en el organismo y, con ello, el desencadenamiento de la enteropatía. Esta hipótesis abre la puerta a la posibilidad de que infecciones por adenovirus, o cualquier otro virus no identificado, modificasen la respuesta inmune al gluten facilitando la EC.

Por otra parte, también existe evidencia de que en estas dos patologías puede estar implicada una alteración a nivel de la microbiota intestinal. En el intestino irritable parece haber un exceso de bacterias (sobrecrecimiento bacteriano intestinal) implicado en su patogenia. De hecho, en la actualidad esta alteración en la microflora intestinal constituye una de las bases del tratamiento del intestino irritable²³⁶.

Se han llevado a cabo numerosos estudios que comparan la microbiota intestinal de individuos sanos con respecto a la microbiota intestinal de celíacos y valoran las diferentes actividades metabólicas bacterianas. Autores como Caminero⁵⁷, Sollid⁶⁰ y Tjellström⁵⁹ detectan diferencias en las microbiotas de sanos y enfermos. Estas diferencias invitan a pensar en los microorganismos como desencadenantes etiológicos de la EC.

Estudios recientes han descrito una alteración del estado funcional de la microbiota fecal en niños celíacos independientemente de la ingesta de gluten y del grado de inflamación histológica. Esta alteración también se observa en los familiares de primer grado de pacientes celíacos que no tienen la enfermedad. En estos familiares las características funcionales de la microflora fecal difieren significativamente de los sujetos sanos²³⁷.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

1. El cribado mediante serología en grupos de riesgo como los familiares de primer grado no sería adecuado para identificar todos los afectos con alteraciones de la mucosa duodenal. En este grupo, con serología negativa puede haber lesiones histológicas del espectro de la EC junto con clínica digestiva. Estas lesiones se relacionarían con la presencia de genética de riesgo. Por lo tanto la utilización del genotipado HLA de riesgo como procedimiento de cribado para la EC puede ser un procedimiento que permita identificar una mayor proporción de lesiones duodenales relacionadas con la EC.

2. Este grupo de riesgo puede tener síntomas digestivos y afectación de la calidad de vida relacionada con la salud. Los síntomas digestivos presentes en este grupo de riesgo estarían asociados a lesiones histológicas duodenales y al gluten ingerido en la dieta.

3. Modificaciones en el contenido de gluten en la dieta se asociarían con cambios en los síntomas y de la calidad de vida. El cumplimiento de la DSG, en familiares que no cumplen criterios de EC, puede ocasionar una mejoría clínica.

4. La enteritis linfocítica es un hallazgo frecuente en la mucosa duodenal de los familiares de primer grado. Esta lesión origina una inflamación intestinal alterando el funcionamiento intestinal y puede asociarse con signos indirectos de malabsorción como alteraciones en la densidad mineral ósea.

5. Existen factores que pueden estar relacionados entre sí: clínica, histología y genética, junto con otros como el HP. Todos ellos pueden participar de forma independiente o asociada con alteraciones relacionadas con la enfermedad celiaca o con la sensibilidad al gluten no celiaca.

OBJETIVOS

- 1) Evaluar las alteraciones histológicas duodenales relacionadas con la EC en los familiares adultos de primer grado con serología negativa.
- 2) Estudiar la presencia de síntomas digestivos y la alteración de la calidad de vida relacionada con la salud en este grupo de riesgo.
- 3) Analizar la relación del haplotipo HLA de riesgo de EC con las alteraciones histológicas duodenales y la clínica digestiva.
- 4) Ensayar la influencia de los cambios en el contenido de gluten de la dieta sobre la sintomatología digestiva y la calidad de vida relacionada con la salud.
- 5) Determinar aquellos factores que puedan estar relacionados con la sintomatología y con la sensibilidad al contenido en gluten de la dieta.
- 6) Estudiar las alteraciones de la mineralización ósea como un signo indirecto de malabsorción y su relación con factores asociados a enfermedad celiaca.

PACIENTES Y MÉTODOS

1. DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para dar respuesta a los objetivos planteados diseñamos metodológicamente un estudio descriptivo con una parte experimental mediante la intervención en la dieta. Inicialmente realizamos estudio de cohortes prospectivo que corresponde a los familiares con y sin carga genética de la EC respectivamente. Posteriormente fue seguido de un análisis experimental con una intervención en el tipo de dieta de los dos grupos.

La población de estudio pertenece al área sanitaria de León con el Complejo Asistencial Universitario de León como centro de referencia. Esta área sanitaria da cobertura sanitaria a 320000 habitantes. Los sujetos eran seleccionados desde la consulta de Aparato Digestivo monográfica sobre enfermedad celiaca y desde la consulta de Gastroenterología Infantil, donde eran recogidos los padres de los niños, del Complejo Asistencial Universitario de León. También contabamos con la colaboración de la Delegación en León de la Asociación de Enfermedad Celiaca Castellano-Leonesa (ACECALE). Todos los participantes pertenecían al área sanitaria de León.

Previo al comienzo del estudio calculamos el tamaño muestral necesario. Basado en estudios previos donde la prevalencia de la EC en familiares de primer grado era establecida en torno 12-20% y la prevalencia de HLA-DQ2-8 de la población de familiares según estudios previos el 60%. Así considerando al menos un 25% de diferencia entre los dos grupos principales, con un riesgo alfa del 5% y una potencia (1-Beta) del 90%, asumiendo unas pérdidas durante el seguimiento del 10% al inicio se consideraron necesarios 110 familiares de primer grado.

Este estudio fue financiado por una beca de investigación concedida por el Instituto de Salud Carlos III a través del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS. PI070611), cofinanciado por FEDER para proyectos de investigación en Biomedicina, Biotecnología y Ciencias de la Salud.

2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los criterios de inclusión a este proyecto eran:

- Ser familiares de primer grado de los pacientes celíacos (padres, hermanos e hijos), independientemente del genotipado HLA y la sintomatología presente.

- Edad al inicio del estudio entre los 18 y los 65 años.
- Ausencia de enfermedades crónicas del aparato digestivo u otros sistemas corporales que afecten a la calidad de vida o a la sintomatología referida por los participantes.

Los criterios de exclusión al mismo fueron:

- Título de ATG elevado (superior a 3 UI/ml). Dado que en estos casos está recomendado hacer biopsia duodenal para confirmar una enfermedad celiaca.
- Pacientes diagnosticados de EC con anterioridad.

El acceso al estudio fue totalmente voluntario, sin gratificación económica y con un consentimiento informado previo, pudiendo en todo momento retirarse del estudio.

3. METODOLOGÍA

3.1 FASE INICIAL

Al inicio del estudio, todos los sujetos susceptibles de participar eran evaluados en una primera consulta donde fueron informados de las características de estudio y, previa firma del consentimiento, incluidos en una base de datos previamente diseñada. En cualquier caso, tanto la información transmitida como las características del estudio fueron previamente aprobadas por la Comisión de Ética de Investigación del Área Sanitaria.

A los participantes se les realizó una historia clínica completa y amplia que incluía entre otras variables: edad, sexo, infecciones previas, tipo de dieta, sintomatología, existencia o no de otras enfermedades asociadas, número de deposiciones semanales y características de las heces, peso y talla. Todas las variables clínicas fueron incluidas en una hoja de recogida de datos en la que se añadían todos los valores analíticos a medida que iban surgiendo (Anexo 1). A cada sujeto se realizó una analítica completa, serología celíaca, genotipo HLA y evaluamos las diferentes variables en situación basal con su dieta habitual. También los individuos fueron sometidos a 4 cuestionarios que valoraban distintas esferas clínicas, psicológicas y sociales. La encuesta SF36v2 que evalúa diferentes dimensiones relacionadas con la calidad de vida. El índice de bienestar psicológico (PGWBI) determinaba el estado de salud psicológica de los sujetos del estudio. Además los participantes contestaban otros 2 cuestionarios clínicos, el Índice de Síntomas relacionados con la EC (CSI) y la Escala de Valoración de Síntomas

Gastrointestinales (GSRs), que examinaba la sintomatología relacionada con la EC y los síntomas del tracto gastrointestinal respectivamente. Estos cuestionarios con sus diferentes items empleados pueden consultarse en los anexos finales.

La realización de la biopsia duodenal era ofrecida a todos los participantes al inicio del estudio independientemente del genotipado HLA. La biopsia era obtenida mediante EDA en los familiares que accedieron tras el seguimiento previo de al menos 12 semanas de una dieta sin restricción dietética del gluten, para evitar que la restricción de gluten de la dieta pudiese afectar a la histología duodenal.

3.2 MODIFICACIÓN DIETÉTICA

La parte de intervención consiste en modificar la dieta de los sujetos. Los familiares eran evaluados a lo largo de tres consultas a intervalos mensuales cada una como puede observarse en la figura 8. En la primera visita (V0) era evaluada la situación basal en ausencia de intervención en la dieta y se realizaba una anamnesis detallada de la situación clínica inicial. Posteriormente los participantes iniciaban una DSG estricta durante 4 semanas. Después se valoraba en la segunda consulta (V1) la respuesta a la supresión dietética del gluten. Los individuos a continuación comenzaban con una sobrecarga del gluten ingerido en la dieta habitual durante otras 4 semanas (se conseguía añadiendo un suplemento diario controlado de 15 g de gluten a repartir en las diferentes comidas). Al finalizar la sobrecarga de gluten los familiares eran nuevamente evaluados en la tercera visita programada del estudio (V3). En estas consultas era evaluada la respuesta clínica de los participantes en cada momento del estudio (basal, DSG y sobrecarga de gluten), el número de deposiciones semanales y características de las heces, el grado de cumplimiento a la dieta y la frecuencia de transgresiones. Además para objetivar la respuesta clínica los individuos contestaban 2 cuestionarios clínicos, CSI y GRSR que permitían cuantificar y comparar el resultado a las modificaciones dietéticas. En la primera visita (V0) además de hacer una historia clínica completa se evaluaba el estado de bienestar psicológico, a través del cuestionario PGWBI y la calidad de vida mediante el test SF36v2. En la figura 8 está esquematizada la metodología del estudio.



Figura 8. Representación de la metodología aplicada durante las diferentes fases de la modificación dietética.

4. VARIABLES CLÍNICAS

En la primera visita era realizada una historia clínica completa con una anamnesis detallada de la situación clínica en la situación basal. Todas las variables clínicas estudiadas fueron registradas en un protocolo de recogida de datos. A continuación están explicadas las principales variables evaluadas en la hoja de recogida de datos. El protocolo el protocolo completo con todas las variables en el anexo 1.

- Edad, sexo, peso y talla
- Presencia de alergias y tipo:
Valoración de la presencia de reacciones de hipersensibilidad tipo IV y que sustancias la desencadenaban.
- Enfermedades autoinmunes asociadas:
La EC es una enfermedad autoinmune que puede asociarse a otras alteraciones autoinmunes. Fueron recogidos los principales trastornos de origen inmune principalmente diabetes mellitus tipo I, cirrosis biliar primaria, alteraciones dermatológicas y enfermedades del tiroides.

- Tipo de dieta basal:
Se recogía especialmente el seguimiento de algún tipo de DSG previo a la primera visita.
- Parentesco con el caso índice e identificación del familiar celíaco:
Era identificado el caso índice para comprobar que era celíaco. También fue recogido el tipo de parentesco del participante con el familiar celíaco: padre, hermano, hijo...
- Clínica basal asociada:
En la anamnesis fue evaluada la presencia de síntomas típicos y atípicos de la EC en situación basal. Los principales signos y síntomas registrados fueron: diarrea, estreñimiento, dolor abdominal, distensión abdominal, flatulencias, sensación de saciedad precoz, anemia ferropénica, presencia de dermatitis herpetiforme,...
- Predisposición genética HLA:
El estudio del haplotipo HLA fue realizado en un procedimiento de 3 pasos después de la obtención del DNA genómico de un tubo que contenía anticoagulante EDTA+. El primer paso consiste en la detección de heterodímero DQA1*0501-DQB1*0201 mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En una segunda etapa utilizando una secuencia específica de oligonucleótidos a través de la PCR nos permite detectar la presencia o ausencia de los alelos DQB1*02 y DQB1*03. Y finalmente utilizando técnicas de PCR con una secuencia específica detectamos la presencia del alelo DQB1*0302. Según el resultado obtenido los individuos eran clasificados en 3 grupos: no componente genético, genética de riesgo cuando eran heterocigotos y genética de alto riesgo cuando eran homocigotos.
- Serología celiaca y niveles de IgA total:
Los ATG de tipo IgA fueron estudiados mediante enzimoimmunoanálisis (ELISA) (Celikey, Pharmacia Diagnostics, Sweden). El valor de corte para considerar valores normales de ATG era de 3 mg/dl. También fueron analizados los AAG IgA e IgG deaminados a través de ELISA (INOVA Diagnostics, San Diego, CA). La IgA sérica total era evaluada mediante nefelometría (BN II, Date Behring, Frankfurt, Germany).
- Analítica completa:
Cada sujeto fue sometido a una analítica completa incluyendo perfil hematológico, hepático y renal.
- Cumplimiento de la DSG:
Grado de cumplimiento de la DSG según el paciente y según el investigador, se clasificó según: no cumplimiento, parcial o estricta.

- Número de transgresiones durante la DSG:

Cuantificación del consumo de gluten durante la DSG. Fue clasificado como nunca, ocasional, semanal o diaria.

5. VARIABLES RESPUESTAS

Para describir las modificaciones clínicas o determinar calidad de vida de los sujetos se utilizó diferentes cuestionarios para conseguir una herramienta objetiva de medición de salud. La intención de utilizar cuestionarios de salud no era intentar validarlos en nuestro medio para su utilidad en esta medida, además alguno de ellos como el CSI se ha validado para celíaco pero no en nuestro país, sino que el motivo de utilizarlos es para tener una herramienta de síntomas que nos permitiera medir cambios clínicos y de calidad de vida que se van produciendo según se modifica la dieta. Mediante los cuestionarios clínicos (CSI y GSRS) nos permite evaluar la respuesta a las diferentes modalidades dietéticas. Se consideró una respuesta optima cuando las puntuaciones tras la modificación dietética eran un 20% inferior a los resultados obtenidos en situación basal.

5.1 SF-36v2

Este cuestionario es respondido en la primera visita con el objetivo de evaluar la calidad de vida de los familiares de primer grado de pacientes con EC (Anexo 2).

Descripción

El cuestionario de salud SF-36v2 proporciona un perfil del estado de salud y es una de las escalas genéricas más utilizadas en la valuación de los resultados clínicos²³⁸. Este test es uno de los instrumentos más empleados en la medición de la calidad de vida tanto en la población general como en distintas poblaciones de pacientes. Además sirve de referencia en la validación de nuevos instrumentos de medición.

Sus ítems detectan tanto estados positivos como negativos de la salud. Cubre 8 dimensiones del estado de salud que contienen 36 ítems. Su contenido se centra en el Estado Funcional y el Bienestar Emocional. El área del Estado Funcional está representada por las siguientes dimensiones: función física, función social, limitaciones del rol pro problemas

físicos, limitaciones del rol por problemas emocionales. El área del Bienestar Emocional incluye las dimensiones de: salud mental, vitalidad, dolor, percepción de la salud general²³⁹.

Las dimensiones del SF-36v2 están puntuadas de forma que a mayor puntuación mejor es el estado de salud. Para cada dimensión, los ítems son codificados, agregados y transformados en una escala que tiene un recorrido desde 0 (el peor estado de salud para esa dimensión) hasta 100 (el mejor estado de salud). El test no ha sido diseñado para generar un índice global. Sin embargo, permite el cálculo de dos puntuaciones resumen mediante la combinación de las puntuaciones de cada dimensión, una es la suma del estado de salud física y otra el estado de salud mental²⁴⁰. Está recomendado que tanto la recodificación de ítems como la puntuación de las escalas es realizado utilizando algoritmos de puntuación documentados o a través de software disponible.

El cuestionario debe ser preferentemente autoadministrado. Pero también está demostrada su administración mediante entrevista personal. La consistencia interna no presentó diferencias entre los cuestionarios ambas formas de administración. El SF-36v2 debe ser cumplimentado en un tiempo que oscila entre 5 y 10 minutos²⁴¹.

En España los valores de referencia fueron obtenidos a partir de las respuestas al instrumento de 9151 españoles mayores de 18 años²⁴². El estudio proporciona información sobre la distribución de las puntuaciones de las escalas del cuestionario según el sexo y grupo de edad.

Validez

La validez del cuestionario fue evaluada en un estudio de 321 pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Todos los pacientes eran hombres, reclutados en diversos centros sanitarios, mediante un muestreo cuyo objeto era recoger todo el rango de severidad clínica. La asociación entre las puntuaciones del SF-36v2 y las medidas de función respiratoria confirmaron la validez del concepto de la adaptación: el nivel absoluto de correlación de las dimensiones del cuestionario con la disnea fue intermedio (rango 0,19-0,5)²⁴³.

El patrón de correlaciones obtenido entre las 8 escalas del SF-36v2 y los componentes principales reforzaron su interpretación como componentes físico y mental. Este patrón factorial demostró ser estable en diferentes países en submuestras basadas en grupos de edad y sexo²⁴¹.

Fiabilidad

El SF-36v2 fue administrado a una muestra aleatoria estratificada de 9151 individuos de la población no institucionalizada de edad superior a 18 años y residentes en el territorio español. La consistencia interna estimada mediante el coeficiente alfa de Cronbach era en todas las dimensiones por encima de 0,7 (valor mínimo recomendado).

También fue calculado el coeficiente de fiabilidad alfa de Cronbach para la muestra de 321 hombres con EPOC, anteriormente comentada. También demostró una elevada consistencia interna (rango 0,77-0,92) para todas las dimensiones, exceptuando la función social (0,55)²⁴⁴.

5.2 ÍNDICE DE BIENESTAR PSICOLÓGICO (PGWBI)

El cuestionario PGWGI era rellenado en la primera consulta previamente al inicio del análisis experimental (Anexo 3).

Descripción

Este test es un instrumento que permite conocer los sentimientos subjetivos del bienestar y malestar psicológico. La escala refleja tanto los sentimientos positivos como los negativos.

El Índice de Bienestar Psicológicos incluye 22 ítems agrupados en 6 dimensiones: ansiedad, depresión, estado de ánimo positivo, vitalidad, autocontrol y salud general. Cada ítem puede ser respondido en una escala Likert con 6 categorías de respuesta que representan diferentes grados de intensidad o frecuencia del ítem en la última semana. La puntuación total varía desde 22 (grave malestar) a 132 (bienestar positivo)²⁴⁵. El cuestionario está diseñado para ser autoadministrado.

Este cuestionario ha sido adaptada culturalmente y sus propiedades psicométricas evaluadas en la población española²⁴⁶. Según esto, los estándares de referencia son los siguientes: el 71% de la población adulta estaba dentro de la categoría de bienestar positivo (puntuación de 73 a 110), el 15,5% sufrían malestar moderado (puntuación de 61 a 72) y el 13,5 experimentaban un malestar severo (puntuación de 0 a 60).

Validez

El PGWBI fue administrado a dos grupos de 54 pacientes: hipertensos y pacientes con insuficiencia renal terminal que precisaban hemodiálisis. La validez convergente se estudió calculando la correlación de la puntuación obtenida con este test, con la calificación procedente de otras escalas de medida de la calidad de vida que también miden la percepción de la salud desde la perspectiva del individuo, concretamente el Cuestionario de Salud General de Goldberg (GHQ-12) y con la dimensión Psicosocial del Perfil de las Consecuencias de la Enfermedad (PCE). Las correlaciones del PGWBI con estos test, calculadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson fueron para el GHQ de -0,71 y para el PCE de -0,69, considerando las puntuaciones totales del cuestionario²⁴⁶.

Fiabilidad

La consistencia interna para la puntuación total medida por el coeficiente alfa de Cronbach fue de 0,9 y para las distintas dimensiones en cada subgrupo de pacientes varía desde 0,56 a 0,88. La reproducibilidad test-retest evaluada mediante el coeficiente de correlación de Pearson era de 0,76 para la puntuación total y entre 0,57 y 0,75 para las diferentes dimensiones²⁴⁶.

5.3 ESCALA DE VALORACIÓN DE SÍNTOMAS GASTROINTESTINALES (GRSR)

Este cuestionario era evaluado en cada una de las tres visitas para cuantificar el efecto clínico de la intervención dietética (Anexo 4).

Descripción

La escala GRSR es un test validado en 1988 inicialmente para evaluar la intensidad de los síntomas del síndrome de intestino irritable y la úlcera péptica. Posteriormente su uso ha sido extendido a otras patologías digestivas como la enfermedad inflamatoria intestinal o la dispepsia funcional...

Este test estudia 15 ítems explorando la frecuencia, duración e intensidad de los síntomas gastrointestinales. Los distintos ítems son desarrollados mediante 15 preguntas sobre distintos síntomas. Cada cuestión era respondida mediante una escala Likert con 7 posibles respuestas que valoraban la intensidad del ítems en el último mes. La puntuación

variaba desde 0 (ausencia de sintomatología) a 90 (síntomas insoportables). El cuestionario está diseñado para la autoadministración del mismo²⁴⁷.

Esta escala fue validada en España y ha sido utilizada en múltiples estudios. Valores inferiores a 30 están relacionados con una óptima calidad de vida. Valores mayores de 60 se corresponden con una pobre calidad de vida²⁴⁷.

Validez

El cuestionario fue validado inicialmente en dos grupos de pacientes: 101 sujetos con síndrome de intestino irritable y 103 con úlcera gastroduodenal. La asociación entre las puntuaciones del GRSR y la Escala Analógica Visual confirmaron la validez del concepto de la adaptación: el nivel de correlación de las dimensiones del cuestionario con la disnea fue medio (rango 0,5-0,79)²⁴⁷.

Fiabilidad

La reproducibilidad test-retest fue estudiada en 20 sujetos tras la repetición del cuestionario. El rango del coeficiente Kappa variaba para los distintos ítems entre 0,86 a 1,00 y para los diferentes rangos entre 0,92 a 0,94²⁴⁸.

5.4 ÍNDICE DE SÍNTOMAS ESPECÍFICOS DE LA EC EN ADULTOS (CSI)

Este test es contestado junto con el cuestionario GRSR en cada una de las 3 visitas con el objeto de valorar la respuesta clínica en la situación basal, a la DSG o a la sobrecarga de gluten (Anexo 5).

Descripción:

El CSI es un cuestionario diseñado mediante técnicas psicométricas en colaboración conjunta entre psicólogos, gastroenterólogos y nutricionista. Este test fue validado recientemente en año 2009. Es una herramienta que permite la monitorización de la evolución de los síntomas de la EC.

El CSI evalúa 36 ítems agrupados en dos dimensiones: síntomas relacionados con la EC y salud general. Los ítems son estudiados a través de 16 cuestiones que puede ser respondidas en una escala Likert con 5 categorías de respuesta que representan diferentes grados de intensidad del ítem en las últimas cuatro semanas. La puntuación total varía desde 16

(ausencia de sintomatología) a 80 (clínica insoportable). El cuestionario está diseñado para ser autoadministrado²⁴⁹.

Este índice todavía no ha sido validado en España. Por lo tanto no dispone de estándares de referencia optimizados para la población Española. Valores inferiores a 30 están asociados con una óptima calidad de vida. En contraposición puntuaciones superiores a 45 tiene una pobre calidad de vida.

Validez

El Índice de Síntomas Específicos de la EC en adultos fue aplicado en 154 celíacos adultos. La validez convergente fue evaluada al estimar la puntuación convergente del test y compararla con el SF-36 y la escala analógica visual (EQ5D). Las correlaciones fueron determinadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson obteniendo para las puntuaciones globales unos valores de 0,416 y 0,343 respectivamente para el SF-36 y EQ5D²⁴⁹.

Fiabilidad

La validez interna fue analizada mediante el coeficiente alfa de Cronbach. La puntuación total presentaba una puntuación de 0,875 considerada excelente. Las puntuaciones de las distintas dimensiones variaban entre 0,747 a 0,84.

Treinta y dos de los participantes repitieron el cuestionario una semana después de la primera vez para calcular la reproducibilidad test-retest. Fue obtenido un coeficiente de correlación de Pearson superior a 0,6²⁴⁹.

5.5 CARACTERÍSTICAS Y NÚMERO DE DEPOSICIONES SEMANALES

En la primera consulta los pacientes fueron sometidos a una entrevista clínica. En el transcurso de la anamnesis los participantes fueron preguntados por el número de deposiciones diarias y semanales. En las siguientes revisiones fue repetida la pregunta con el objeto de valorar la respuesta al tipo de dieta según el número de deposiciones.

La característica de las heces fue otra de las variables analizadas para valorar la respuesta clínica. Para ello se utilizó la Escala de Bristol, que está representada en la figura 9. Esta escala es una tabla visual diseñada para clasificar la forma de las heces en siete grupos, desarrollada por Heaton y Lewis en la universidad de Bristol²⁵⁰.

Escala de Bristol

Tipo 1		Trozos duros separados, como nueces
Tipo 2		Con forma de salchicha, pero grumosa
Tipo 3		Con forma de salchicha, pero con grietas
Tipo 4		Con forma de salchicha, como serpiente lisa y suave
Tipo 5		Bolas suaves con bordes definidos
Tipo 6		Trozos suaves con los bordes desiguales
Tipo 7		Acuosa, sin trozos sólidos Totalmente líquida

Figura 9. Escala de Bristol sobre las características de las heces .

6. BIOPSIA DUODENAL

Las biopsias duodenales se ofrecían a todos los familiares al inicio del estudio y fue efectuada a todos los participantes que accedieron a practicarla, independientemente del riesgo genético, tras el cumplimiento de 8 semanas con dieta con gluten.

Las biopsias duodenales fueron tomadas mediante endoscopia alta con pinza de biopsia. Se obtenían un mínimo de cuatro biopsias de la segunda y tercera porción duodenal, dos de antro y dos de cuerpo gástrico para ser procesadas de forma rutinaria para su examen histológico. Estas muestras eran remitidas en botes de formol en el mismo día al servicio de Anatomía Patológica de Complejo Asistencial Universitario de León. Todas las muestras eran analizadas por la Dra Mercedes Hernández.

En las biopsias duodenales, se prestó especial atención en conseguir cortes de biopsia “bien orientada” (corte paralelo al eje cripta-vellosidad con epitelio indemne). Estas muestras fueron valoradas mediante el estudio convencional con hematoxilina-eosina (HE) y ácido periódico reactivo de Schiff (PAS) para valorar la arquitectura vellositaria y analizado la atrofia intestinal, la hiperplasia glandular y la presencia de infiltrados inflamatorios. Los datos

histológicos fueron clasificados según los criterios de Marsh. También fue realizada en estas biopsias tinciones mediante inmunohistoquímica (IHQ) para el conteo de linfocitos intraepiteliales (número de LIE por cada 100 células epiteliales).

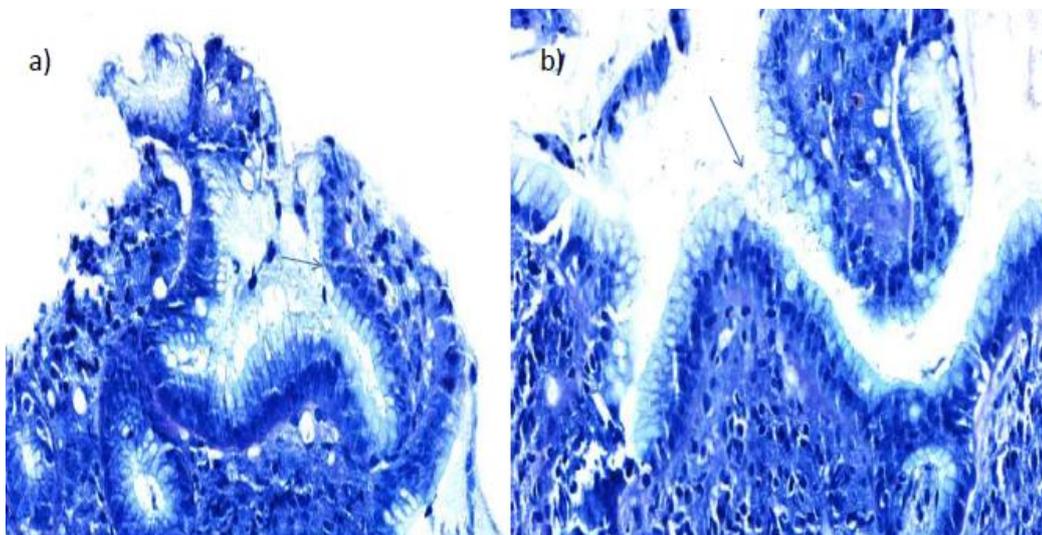


Figura 10. a) Biopsia duodenal con incremento de los linfocitos intraepiteliales CD3 marcados mediante IHQ. b) Biopsia gástrica con presencia del *Helicobacter pylori*.

Las muestras gástricas fueron estudiadas a través de la tinción con HE y PAS. Era valorada la presencia de HP como posible causa del incremento de los linfocitos intraepiteliales.

7. DENSITOMETRÍA ÓSEA

A todos los individuos con biopsia duodenal que consentían su realización era efectuada una densitometría ósea con absorciometría de energía dual con rayos-X (DEXA). El contenido mineral óseo fue determinado a nivel de las apófisis espinosas lumbares (L1-L4) y de la cadera a través el sistema Norland XR-46 Quick Scan equipado con el software Norland Mecical systems Inc., White Plains, NY, USA.

Previamente a la exploración los sujetos eran entrevistados obteniendo la talla, peso y el grado de actividad física diaria. Posteriormente se llevaba a cabo el procedimiento permitiendo la obtención de distintos datos: densidad mineral ósea en g/cm^2 , contenido de

calcio del hueso en gramos, el área estudiada, Z-score y T-score. El T-score compara la densidad ósea del paciente con la densidad normal de una persona joven. El Z-score hace la comparación con una persona de la misma edad que el paciente en estudio. El score más utilizado para determinar la densidad ósea es el T-score. Los valores obtenidos son clasificados en:

- Normal (entre 1 y -1 DS)
- Osteopenia (entre -1.1 y -2.4 DS)
- Osteoporosis (menor a -2.5 DS)

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las variables recogidas (cualitativas y cuantitativas) fueron introducidas en una base de datos (Microsoft Access) y posteriormente analizadas mediante un paquete estadístico (SPSS).

Para comparar las variables categóricas se utilizó el test de la Chi-cuadrado con la corrección de Yates en los casos necesarios. Las variables cuantitativas eran sometidas a un análisis de Kolmogorov-Smirnov para evaluar desviaciones de la curva normal. En la comparación de variables cuantitativas entre grupos independientes se utilizó el test de la t de Student y el análisis de ANOVA o el test de la U de Mann-Whitney y el test de Kruskal-Wallis según el comportamiento normal o no de las variables. En los casos donde valoramos las diferencias en el mismo sujeto antes y después de la exposición empleamos la t de Student para medidas intrasujeto, el test de Wilcoxon y el test de Friedman. Para evaluar el grado de asociación lineal entre dos variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación ordinal de Spearman. El análisis de regresión logística fue usado para evaluar las variables con valor predictivo independiente en la respuesta clínica.

Los resultados se expresaron en forma de medias con desviación estándar y los correspondientes intervalos de confianza al 95% para las variables continuas; las variables categóricas se expresaron en forma de porcentajes y Odds Ratio cuando procedía. Se consideraron valores estadísticamente significativos aquéllos con $p < 0,05$ en el análisis de dos colas y se aplicará la corrección de Bonferroni en los análisis “post-hoc”.

RESULTADOS

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

En total 205 familiares de primer grado fueron evaluados, 27 se excluyeron del estudio al presentar un título de anticuerpo antitransglutaminasa positivo. Por lo tanto, contactamos con 178 individuos, de ellos 37 rechazaron colaborar en esta investigación. Un total de 141 participantes comenzaron el estudio. Dos sujetos abandonaron el proyecto tras la primera consulta. Finalmente, 139 familiares terminaron el periodo de seguimiento, de los cuales 73 (53,2%) eran mujeres como se representa en la figura 11. El rango de edad variaba entre 18 y 68 años, con una edad media de $42,1 \pm 8,7$ años. La talla media era de $169,3 \pm 9,5$ cm y el peso medio fue de $72,7 \pm 14,1$ kg.

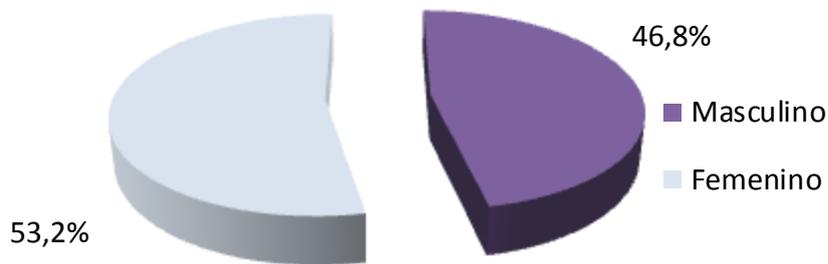


Figura 11. Distribución de los familiares por sexo.

La mayoría de los individuos eran padres de niños diagnosticados recientemente de EC. El porcentaje de hijos y hermanos era poco importante de manera que no se utilizó esta variable en las comparaciones posteriores. En la figura 12 se describe el grado de parentesco de los sujetos participantes respecto al familiar celíaco de primer grado.

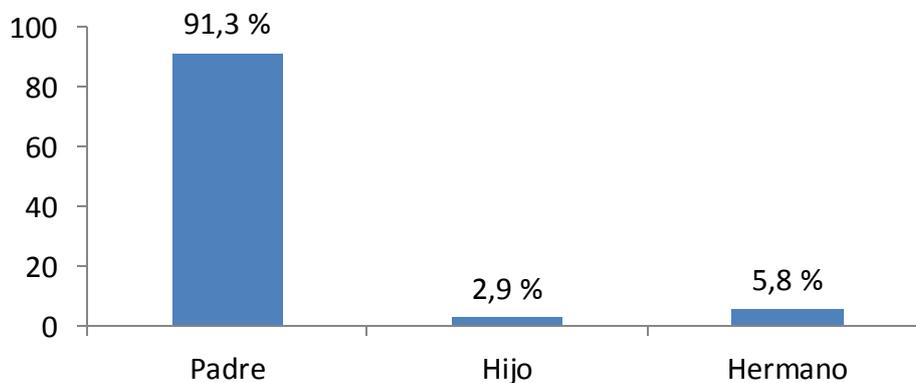


Figura 12. Grado de parentesco de los familiares con el caso índice.

Distintas patologías de origen autoinmune fueron detectadas en 33 familiares (23,7%). Los hallazgos más frecuentemente encontrados fueron las alteraciones dermatológicas (sin observar ningún caso de dermatitis herpetiforme), la patología tiroidea y la diabetes mellitus. En la figura 13 se detalla las alteraciones autoinmunes encontradas.

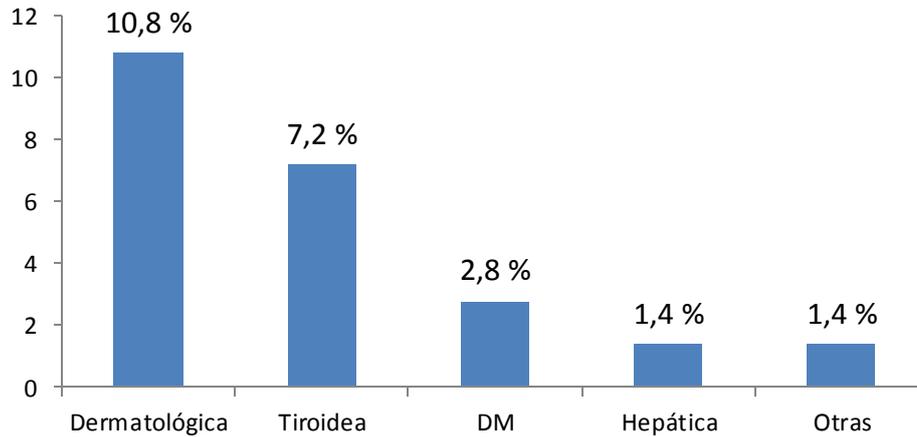


Figura 13. Principales alteraciones autoinmunes detectadas en familiares de celíacos.

La presencia de clínica asociada recogida al inicio del estudio se observó en 80 de los 139 sujetos (57,6%). Los síntomas más frecuentemente manifestados fueron: distensión abdominal, diarrea, estreñimiento y dolor abdominal. Las alteraciones clínicas observadas están resumidas en la figura 14.

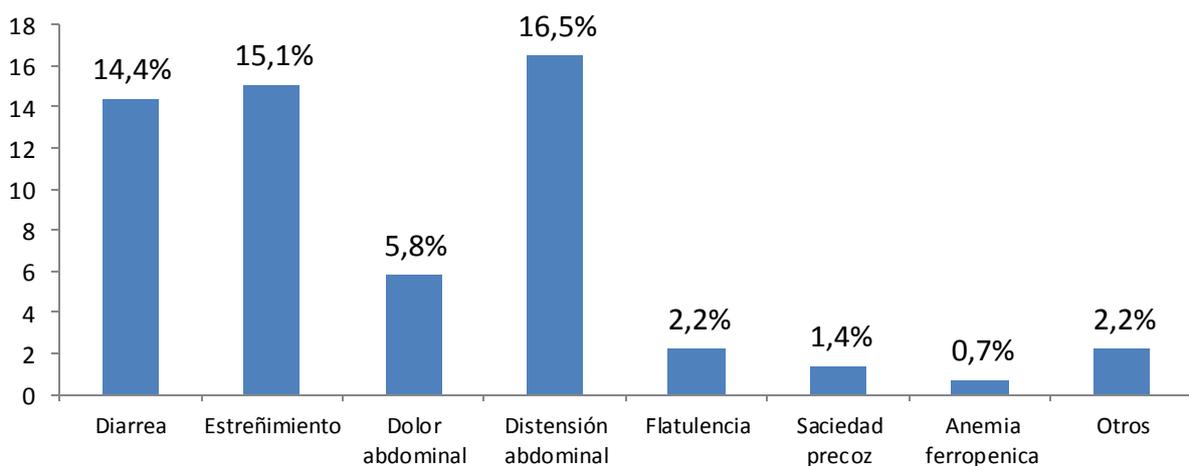


Figura 14. Sintomatología clínica inicial de los familiares.

El genotipo HLA de riesgo para la EC estaba presente en una elevada proporción de sujetos (110/139). El 21,6% de los familiares tenían un haplotipo HLA negativo y por lo tanto no tienen riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad. En la tabla 6 están recogidos los distintos haplotipos HLA de los participantes en el estudio.

RIESGO GENÉTICO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
HLA negativo	29	21,6%
HLA DQ 2 heterocigoto	79	56,1%
HLA DQ 2 homocigoto	13	9,4%
HLA DQ 8 heterocigoto	10	7,2%
HLA DQ 8 homocigoto	1	0,7%
HLA DQ 2/8	7	5%

Tabla 6. Distribución de los distintos haplotipos del HLA.

Todos los familiares que participaron en este trabajo presentaban títulos de ATG inferiores a 3 UI/ml. El nivel medio de ATG IgA fue $0,46 \pm 0,44$ UI/ml. El título de anticuerpos AAG deaminada IgG variaba de 0 a 17 UI/ml, y el nivel medio era de $0,79 \pm 1,92$ UI/ml. Mientras que niveles de AAG deaminada IgA variaban de 0 a 53 UI/ml con un título medio de $2,17 \pm 5,25$ UI/ml. Recordamos que uno de los criterios de inclusión del estudio era la detección de unos niveles de ATG negativos independientemente de los niveles de AGD.

El número de deposiciones por semana en situación basal era de 8,4 dep/sem. En la figura 15 están representadas las características de las heces basales según la escala de Bristol, donde observamos que el 59% de los participantes tenían heces blandas, el 7,9% de los individuos mostraron una disminución de la consistencia de las deposiciones y el 33,1% un aumento de la misma.

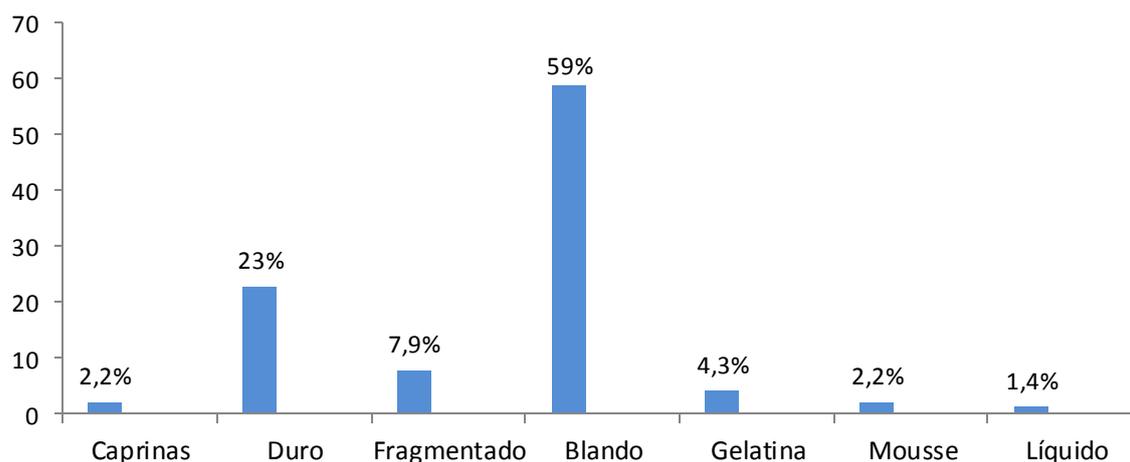


Figura 15. Características de las heces basales según la escala de Bristol.

Los resultados de las principales determinaciones analíticas realizadas a los pacientes están reflejados en la tabla 7.

PARÁMETRO	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIA	DESV. TIP
Ig A total	68	673,0	225,8	105,7
Ferritina	6,9	677,3	129,6	117,6
Hierro	8	192,0	80,1	35,7
Colesterol	136	334	201,1	38,5
Hemoglobina	10	17,8	13,9	1,8

Tabla 7. Resultados de las principales determinaciones analíticas basales.

La EDA fue realizada tras el consumo de gluten las 12 semanas previas en una elevada proporción de los participantes (81,3%). Fueron detectadas alteraciones en el 49,6% de los familiares principalmente hernia de hiato, gastritis y esofagitis como se representa en la figura 16.

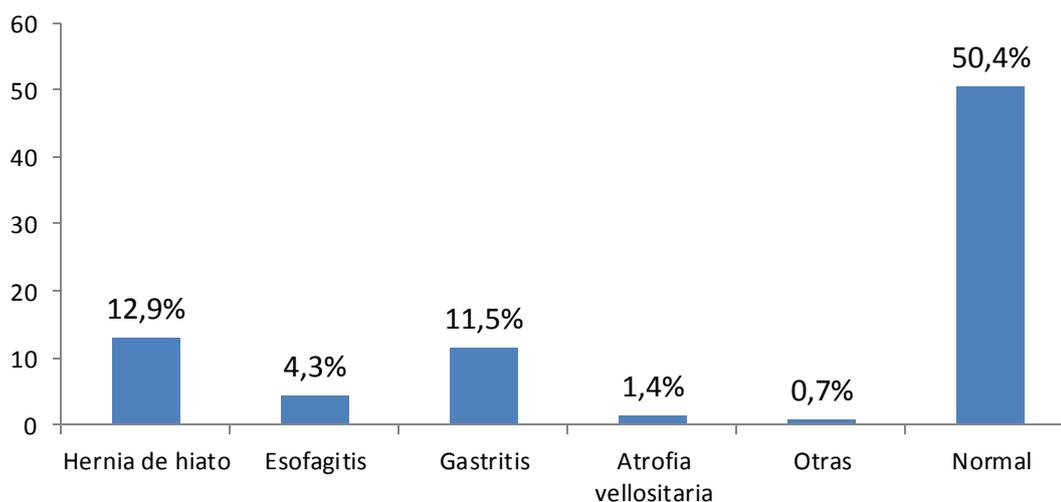


Figura 16. Hallazgos detectados en la gastroscopia de los participantes del estudio.

En todos los sujetos que realizaron la EDA fueron recogidas biopsias duodenales. En 106/113 se obtuvieron biopsias gástricas para valorar posible infección por HP. El 59,4% (63/106) tenían en la biopsia gástrica la presencia de formas bacilares. Las alteraciones histológicas de las biopsias duodenales fueron estudiadas según la clasificación de Marsh. En la figura 17 se observa que un tercio de la muestra tenía enteritis linfocítica (Marsh I) y un 4,4% atrofia vellositaria. Hay que tener en cuenta que todos los sujetos de la muestra tenían serología negativa.

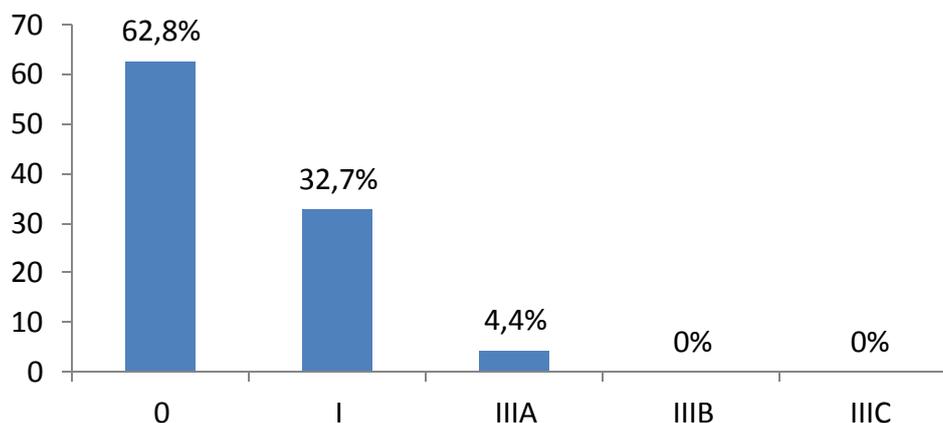


Figura 17. Alteraciones histológicas duodenales detectadas según la clasificación de Marsh.

Tal como comentamos en la metodología la calidad de vida fue analizada mediante la utilización de dos cuestionarios, el SF36-V2 y el PBWGI. La medición de la sintomatología asociada fue realizada mediante los índices CSI y GRSR. A continuación presentamos los resultados obtenidos.

El cuestionario SF36-V2 permite obtener información sobre 8 dimensiones, las cuatro primeras informan del área del estado funcional y las cuatro últimas del área del bienestar emocional mediante un software informático. Estas dimensiones están codificadas de 0 (peor estado de salud) a 100 (mejor estado de salud). En siguiente figura están representadas las medias obtenidas mediante este cuestionario en las distintas dimensiones y las dos áreas principales de evaluación (las dos últimas variables representadas de la figura 18).

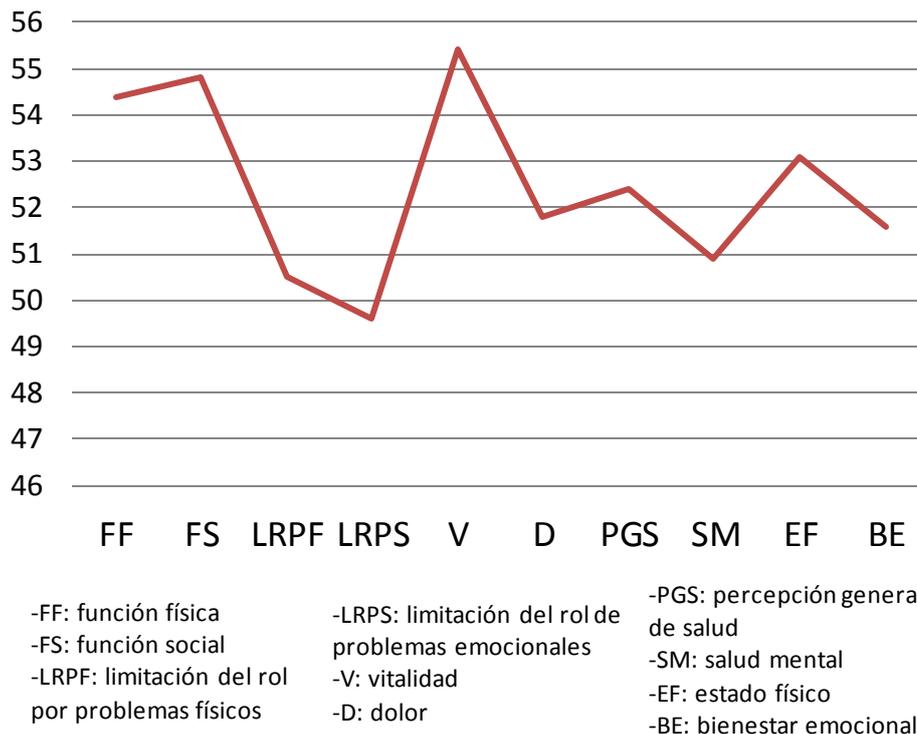


Figura 18. Medias obtenidas en las distintas dimensiones y áreas exploradas por el SF36-V2.

El PGWBI informa del grado de bienestar o malestar psicológico estratificando tres posibles grupo: bienestar óptimo (puntuación de 73 a 110), malestar moderado (puntuación de 61 a 72) y malestar severo (puntuación de 0 a 60). El 26,6% de los individuos referían un malestar moderado o severo antes de comenzar la fase intervencionista. En contraposición del 73,4% informaron de un estado de bienestar óptimo. Los resultados obtenidos en el PGWBI están representados en la figura 19.

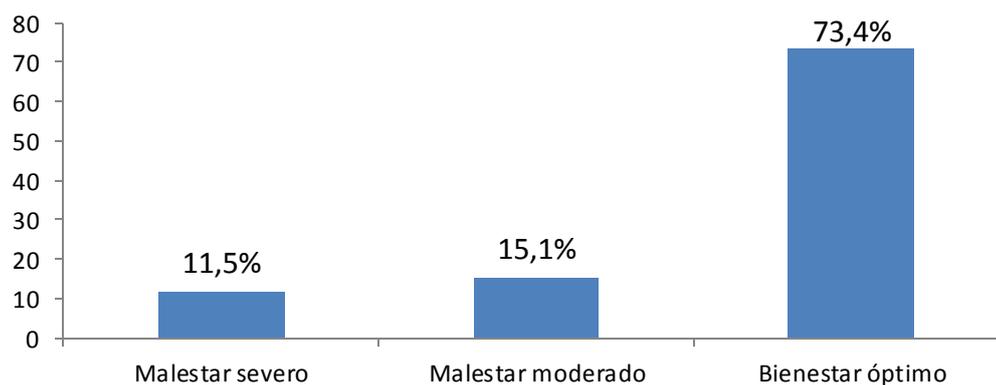


Figura 19. Grado de bienestar psicológico obtenidos a través del cuestionario PGWBI en los familiares de primer grado.

A través de los test GRSR y CSI era obtenida la información sobre el estado clínico de los participantes. En la tabla 8 están descritos las mediciones medias resultantes de estos cuestionarios.

DIMENSIONES	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIA	DESV. TIP
GRSR basal	0	62	13,1	12,3
CSI basal	17	66	31,8	10,1

Tabla 8. Valores medios obtenidos con los cuestionarios CSI y GRSR basales.

2. FACTORES ASOCIADOS CON LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La cohorte estudiada presentaba una elevada proporción de familiares con clínica asociada (57,6%), principalmente distensión abdominal, estreñimiento y diarrea. Observamos como existe una mayor prevalencia de síntomas en mujeres que en hombres tal como está expuesto en la figura 20.

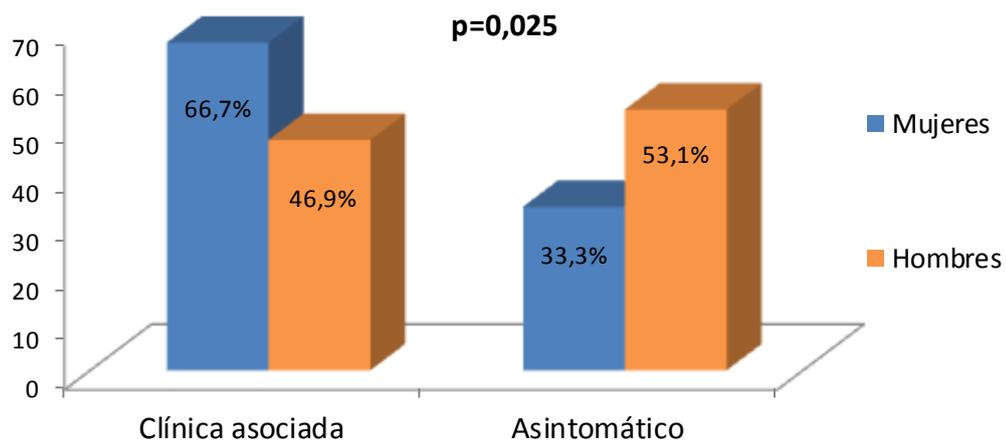


Figura 20. Relación entre la clínica presente y el sexo de los familiares de primer grado de los celíacos.

Los sujetos con enfermedades autoinmunes presentaban un porcentaje de sintomatología dos veces superior que en ausencia de estas entidades. En la figura 21 se describen la relación entre las manifestaciones clínicas y las enfermedades autoinmunes.

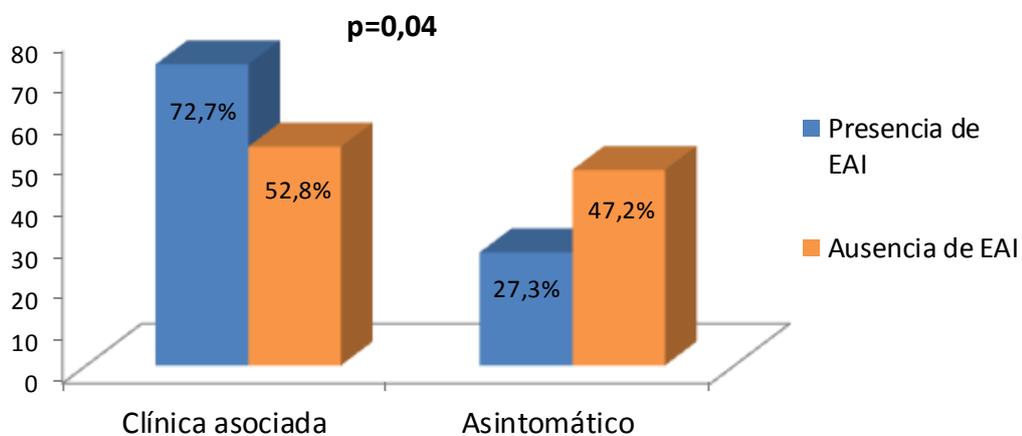


Figura 21. Influencia de las EAI (enfermedades autoinmunes) en la aparición de sintomatología en los familiares.

Accedieron a realizar la EDA un mayor porcentaje de sujetos sintomáticos que de aquellos asintomáticos (62% vs 38%; $p=0,046$).

En contra de lo que cabría esperar encontramos más porcentaje de síntomas asociados entre aquellos que no tenían alteraciones en la endoscopia. Estos paradójicos resultados están representados en la siguiente figura.

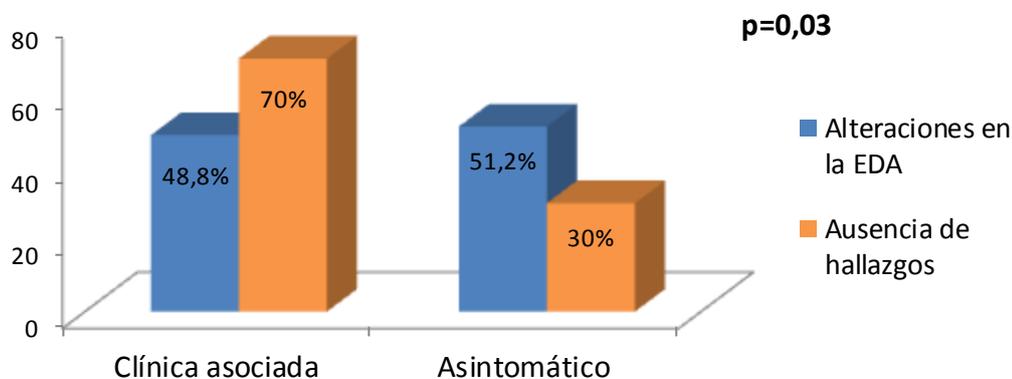


Figura 22. Relación entre la sintomatología y las alteraciones endoscópicas encontradas en los familiares que accedieron a la realización de la EDA.

Sin embargo, los hallazgos histológicos duodenales no modificaban la clínica asociada. De tal manera que la prevalencia de la sintomatología era similar en los familiares con biopsia normal, incremento de los linfocitos duodenales o atrofia vellositaria (60-64,9%), como observamos en la figura 23.

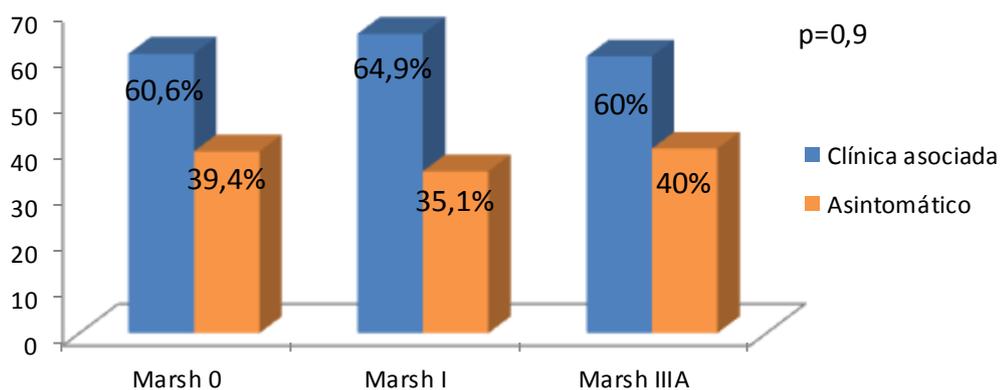


Figura 23. Presencia de manifestaciones clínicas según los hallazgos histológicos.

Aunque el porcentaje de sujetos sintomáticos era mayor en aquellos que tenían HP en la biopsia gástrica, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (figura 24).

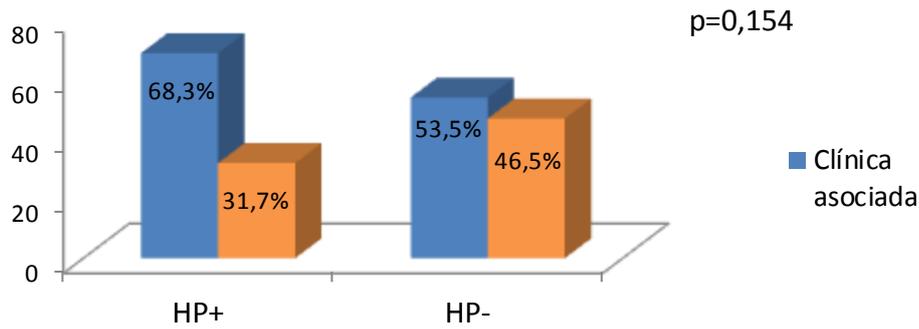


Figura 24. Influencia del HP en el desarrollo de manifestaciones clínicas.

El tipo de genotipo HLA no influyó en la aparición de manifestaciones clínicas. La proporción de familiares con síntomas en ausencia de genética de riesgo, bajo riesgo (heterocigoto) o alto riesgo (homocigoto) estaba situada en torno al 60%. En la figura 25 se observa la ausencia de relación entre la clínica y el haplotipo HLA.

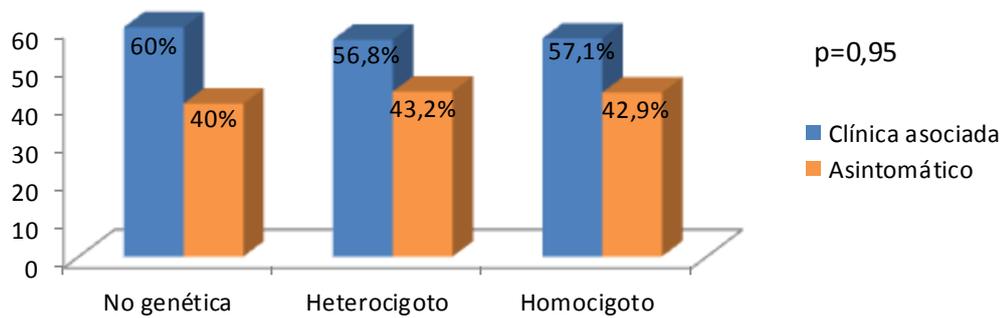


Figura 25. Aparición de las manifestaciones clínicas según el riesgo genético.

Los participantes con deposiciones duras o líquidas presentaban un mayor porcentaje de manifestaciones clínicas que los sujetos con heces de consistencia normal (considerada como blanda en la escala de Bristol), como puede observarse en la figura 26.

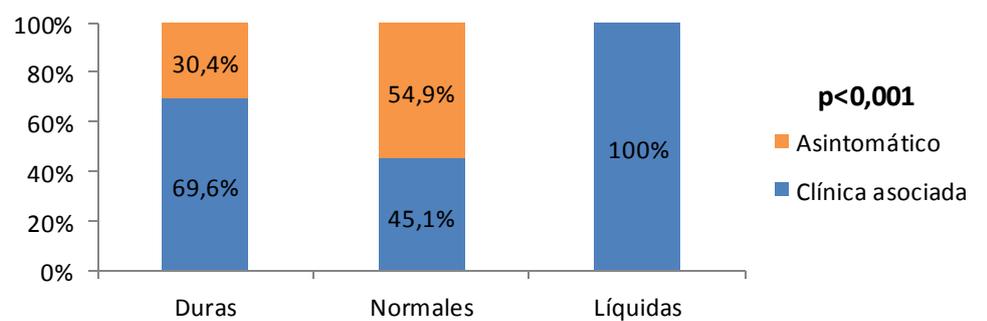


Figura 26. Relación de la clínica y las características de las heces previo al estudio.

Los familiares sintomáticos tenían niveles de hemoglobina inferiores que los asintomáticos, junto con niveles séricos más bajos de hierro y ferritina (estos dos últimos valores no alcanzaron significación estadística). En el resto de determinaciones analíticas no se encontró asociación estadística como se indica en la tabla 9.

PARÁMETRO	CLÍNICA	MEDIA	DESV TIP	ERROR TIP DE LA MEDIA	Valor p
Ig A total	Sintomático	231,0	106,5	12,0	0,34
	Asintomático	218,7	105,2	13,8	
Ferritina	Sintomático	118,8	110,2	12,4	0,14
	Asintomático	144,5	126,6	16,8	
Hierro	Sintomático	77,0	35,8	4,0	0,09
	Asintomático	84,3	35,4	4,7	
Colesterol	Sintomático	202,8	42,4	4,7	0,95
	Asintomático	198,9	32,8	4,3	
Hemoglobina	Sintomático	13,6	1,8	0,2	0,04
	Asintomático	14,3	1,7	0,2	

Tabla 9. Relación de la clínica con las diferentes variables analíticas estudiadas.

El título de anticuerpos anti gliadina deaminada IgA (AAG deaminada IgA) era significativamente superior en los participantes que mostraron síntomas clínicos. Además estos sujetos también presentaron un ligero incremento de los niveles de anticuerpos antitransglutaminasa (ATG). En la figura 27 está reflejada esta relación.

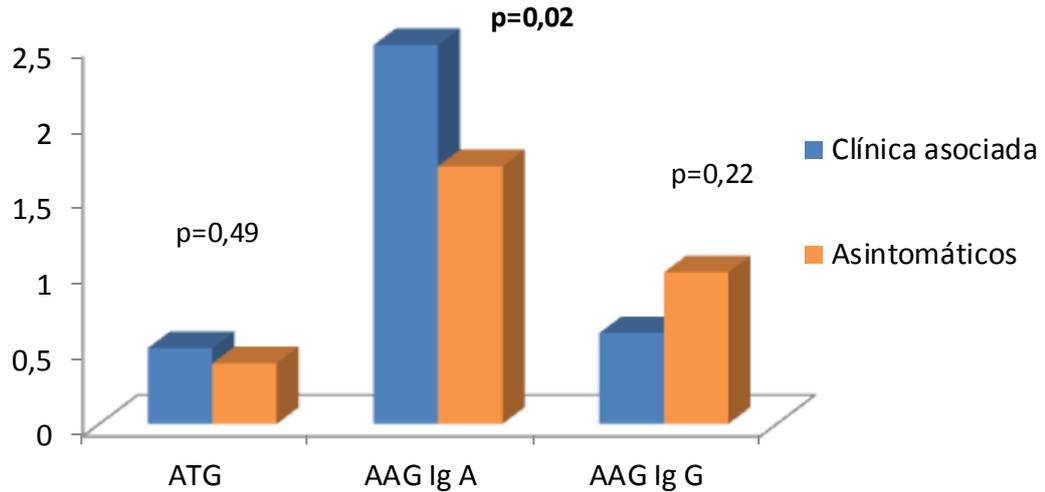


Figura 27. Relación entre el título de los métodos serológicos para el diagnóstico de la EC (enfermedad celíaca) y la presencia de clínica asociada.

Los cuestionarios clínicos empleados en el estudio presentaban claras diferencias entre los sujetos del estudio en función de la manifestación de síntomas. De este modo, los sujetos sintomáticos tenían puntuaciones más altas en estos cuestionarios que los sujetos asintomáticos. Mediante el GRSR la puntuación media obtenida de los participantes con clínica asociada fue de 17,2, mientras que en ausencia de sintomatología se obtuvo 7,4. De igual modo el cuestionario CSI determinó que los individuos con síntomas tenían un valor medio de 36 puntos en el cuestionario mientras que en ausencia de clínica esta puntuación descendía a 26,2. Estos resultados están reflejados en la figura 28.

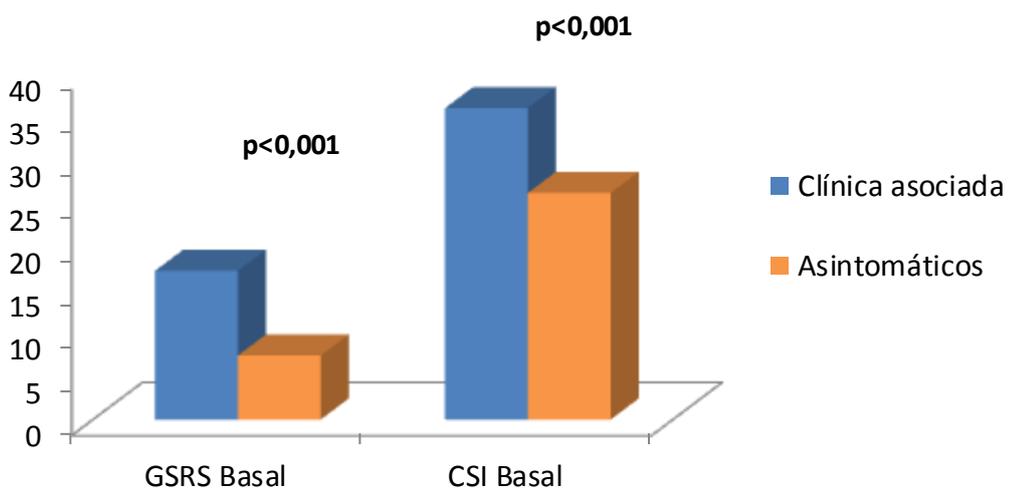


Figura 28. Resultados de los cuestionarios estratificados según la clínica existente.

3. ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE VIDA

3.1 PGWBI

El índice de bienestar psicológico (PGWBI), es uno de los dos cuestionarios utilizados para evaluar la calidad de vida y el estado psíquico. Este test permite cuantificar el grado de bienestar o malestar psicológico y clasificarlos en tres grupos: bienestar positivo, malestar moderado y malestar severo. Los varones mostraban un mayor nivel de bienestar positivo que las mujeres, sin embargo estos resultados no fueron estadísticamente significativos. En la figura 29 están descritos estos resultados.

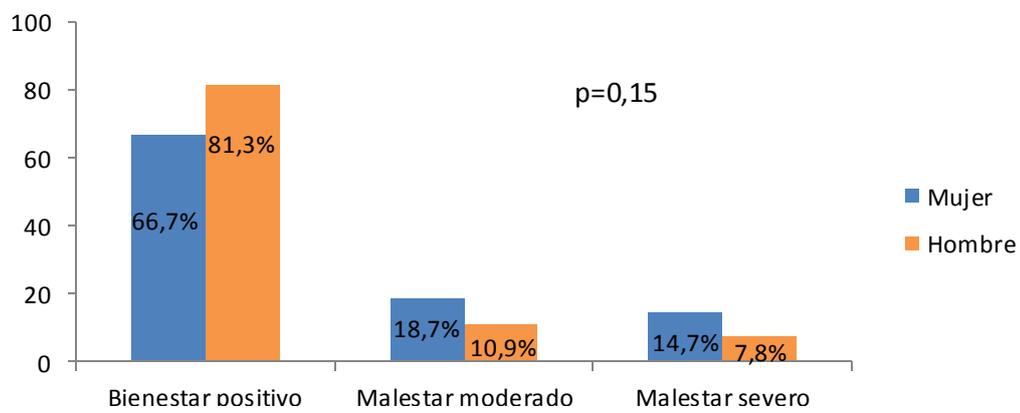


Figura 29. Resultados del PGWBI según el sexo.

Los individuos con EAI presentaban un grado de malestar psicológico dos veces superior que los sujetos sin patología autoinmune asociada, sin ser esta relación significativa como refleja la figura 30.

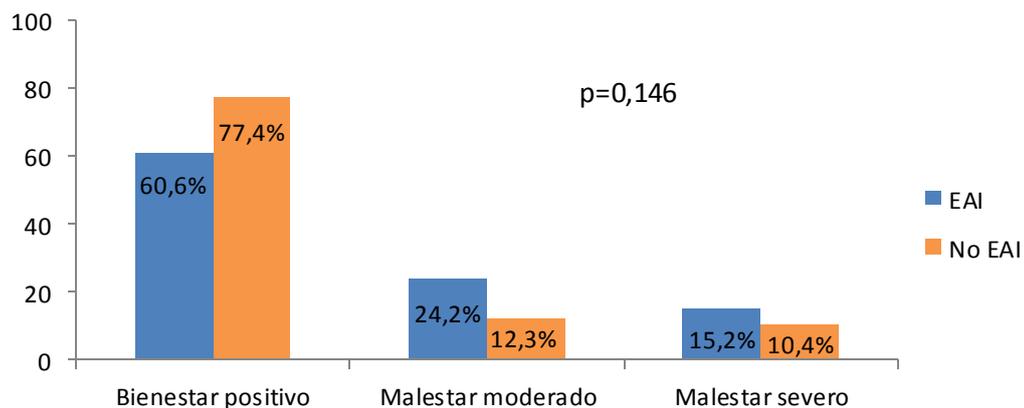


Figura 30. Relación entre las EAI y el PGWBI.

Aquellos familiares con clínica asociada referían un grado de malestar cuatro veces superior que cuando no tenían sintomatología. Los síntomas que más afectaban a la calidad de

vida eran la diarrea, el dolor abdominal y la distensión abdominal tal como está representado en las figuras 31 y 32.

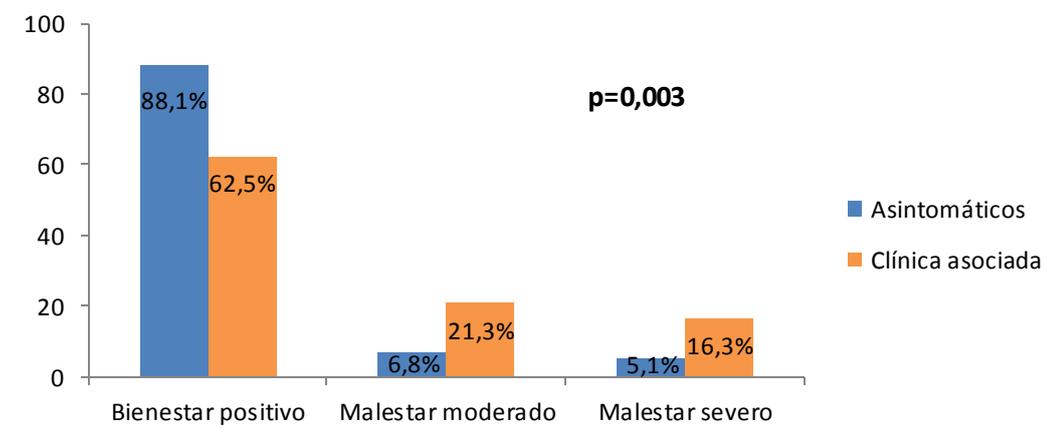


Figura 31. Puntuaciones PGWBI según la existencia de sintomatología acompañante.

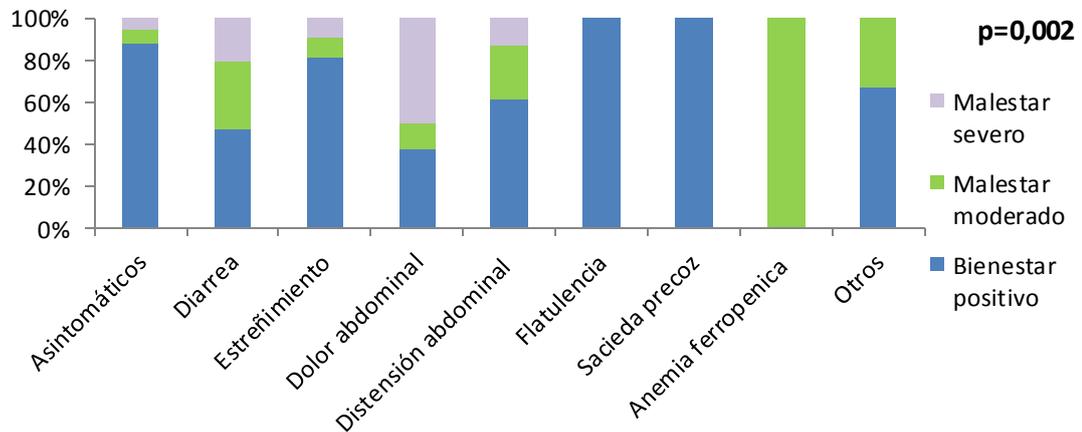


Figura 32. Alteración de la calidad de vida de los distintos síntomas.

También las características de las heces según la clasificación de Bristol estaban relacionadas con la calidad de vida. Los familiares con heces caprinas, gelatina, mousse o líquidas mostraban un malestar psicológico entre dos y tres veces superior que los que presentaban heces de consistencia blanda. En la figura 33 podemos observar esta relación.

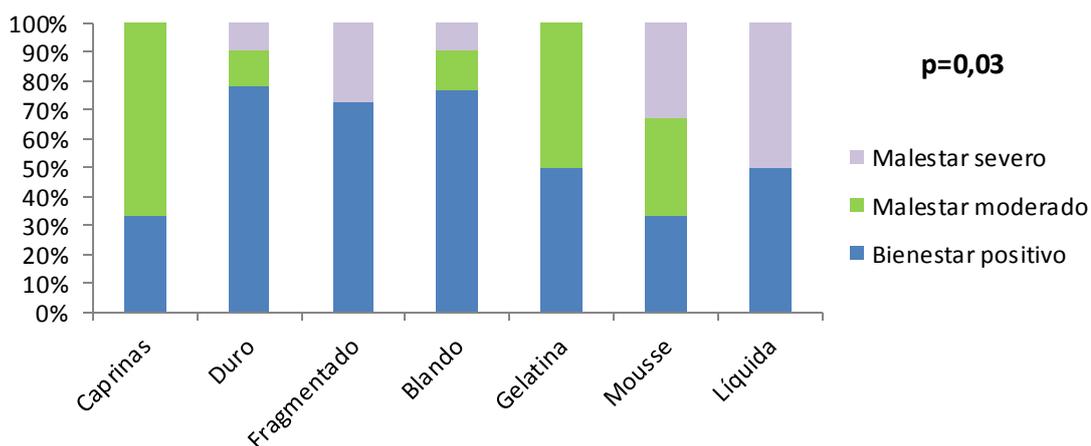


Figura 33. Resultados del cuestionario PGWBI según la consistencia de las heces.

Sin embargo, la calidad de vida evaluada con el cuestionario PGWBI no se relacionó con las alteraciones detectadas en la EDA. Independientemente de los hallazgos endoscópicos aproximadamente el 50% de la muestra mostraban resultados del cuestionario compatibles con bienestar psicológico. Además el 73% de los incluidos dentro de la categoría de malestar severo no tenían alteraciones en la EDA. En la tabla 10 está descrita esta asociación.

	ALTERACIONES EDA	NO ALTERACIONES EDA	VALOR P
BIENESTAR	55,1%	44,9%	0,077
MALESTAR MODERADO	80%	20%	
MALESTAR SEVERO	26,7%	73,3%	

Tabla 10. Influencia en calidad de vida (PGWBI) de la presencia de alteraciones en la EDA.

La presencia del HP en las biopsias gástricas tampoco modificaba la calidad de vida evaluada mediante este test. Tanto en los infectados como en los no infectados, dos tercios de los sujetos referían un estado de bienestar óptimo, como puede observarse en la figura 34.

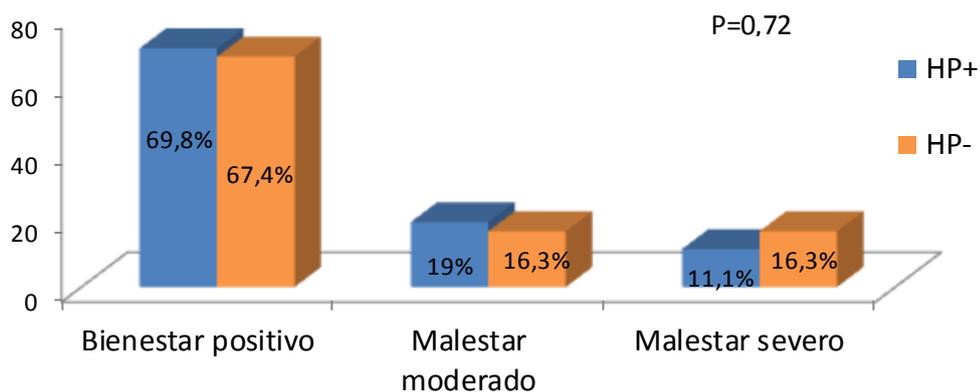


Figura 34. Influencia del Helicobacter pylori en la calidad de vida medida por el PGWBI.

Los hallazgos histológicos de las biopsias duodenales no afectaban al nivel de calidad de vida. De tal manera que el grado de bienestar era para el MARSH 0, I, IIIA variaba entre el 67% y 80%. Estos datos están presentados en la figura 35.

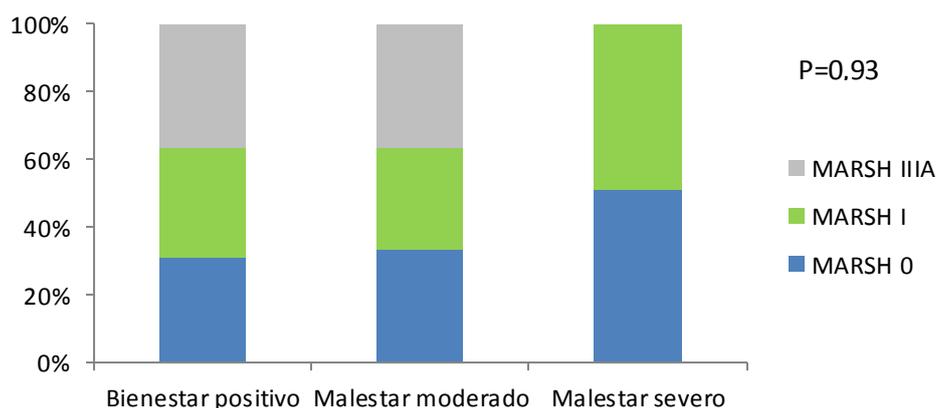


Figura 35. Modificación en PGWBI según las alteraciones histológicas

La presencia del genotipo HLA de riesgo no alteraban los resultados del cuestionario PGWBI. De modo que los familiares con genética negativa tenían un grado de bienestar ligeramente superior que aquellos con genotipado HLA compatible con la EC sin ser esta relación estadísticamente significativos como se observa en la figura 36.

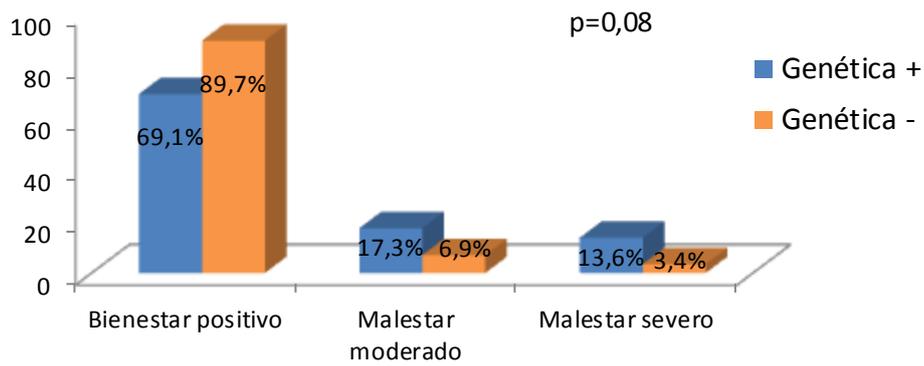


Figura 36. Influencia del genotipado HLA en el nivel de calidad de vida.

Al comparar los resultados del PGWBI con los diferentes cuestionarios clínicos utilizados en este trabajo, se observa que los individuos con una menor sintomatología mostraban un mayor bienestar psicológico. En la figura 37 y 38 están representados estos resultados y se aprecia como aquellos individuos dentro de la categoría de malestar severo en el PGWBI presentan en mayor porcentaje sintomatología intensa medida por el GSRS.

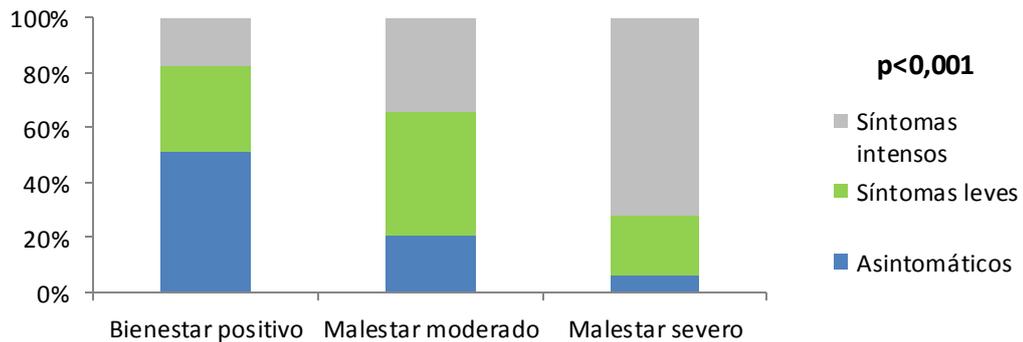


Figura 37. Relación entre la calidad de vida y la clínica existente evaluada con el CSI.

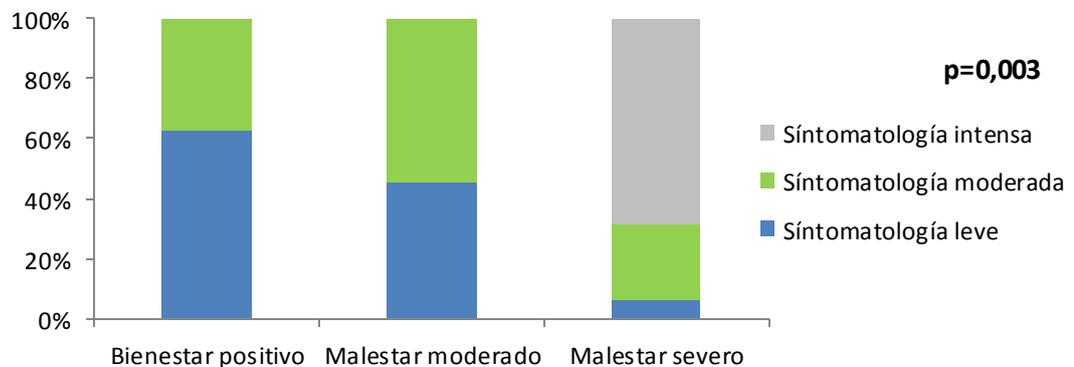


Figura 38. Relación entre la calidad de vida y la clínica existente evaluada con el GSRS.

3.2 SF36-V2

El cuestionario de salud SF-36v2 proporciona un perfil del estado de salud evaluando 8 dimensiones diferentes: función física, función social, limitaciones del rol por problemas físicos, limitaciones del rol por problemas emocionales, salud mental, vitalidad, dolor y percepción de la salud general que determinan el Estado Funcional (determinada por las 4 primeras dimensiones) y el Bienestar Emocional (evaluado por las 4 últimas dimensiones). Tal como representa la figura 39 los varones presentaban valores superiores en la mayoría de los parámetros evaluados por este test que las mujeres. Sin embargo, solamente para las limitaciones del rol por problemas físicos, la vitalidad y el área del Estado Funcional presentaban relación estadísticamente significativa.

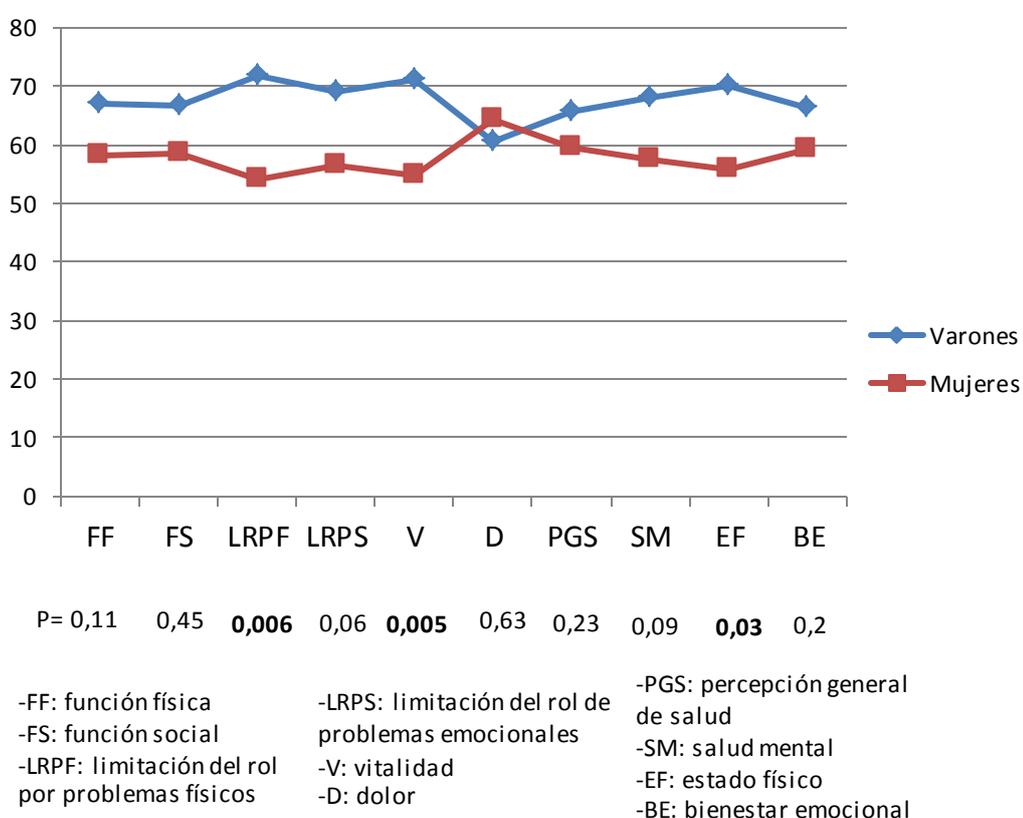


Figura 39. Diferencias en el cuestionario SF36V2 según el sexo.

En la figura 40 observamos como los familiares con enfermedades autoinmunes asociadas presentaban puntuaciones inferiores respecto a las limitaciones de rol por problemas emocionales y el área del estado funcional. En el resto de parámetros explorados por este test no observamos diferencias en los valores obtenidos.

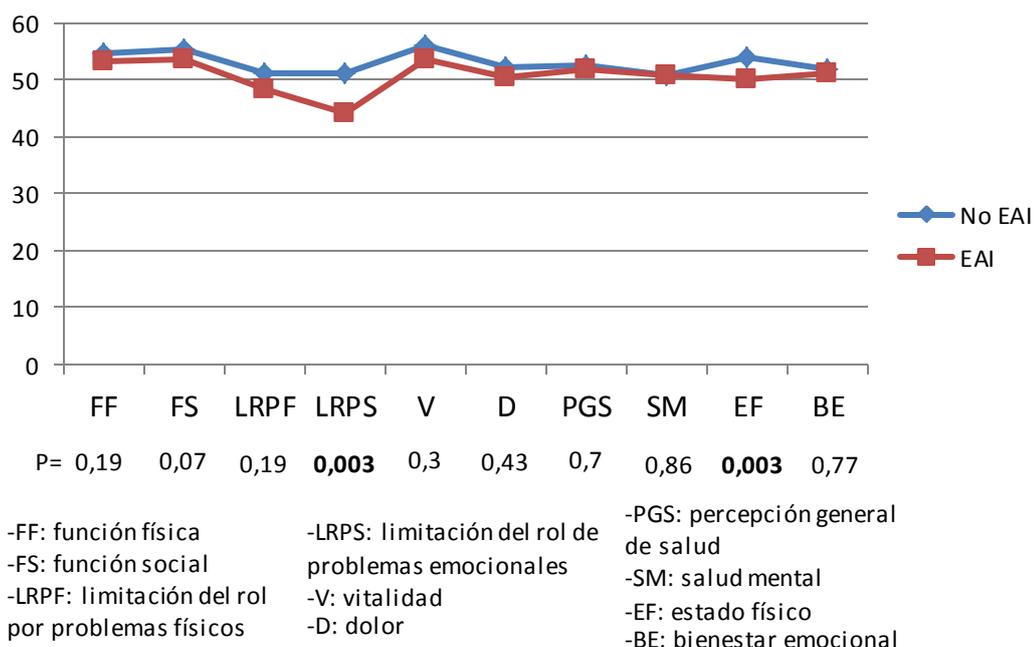


Figura 40. Resultados del cuestionario SF36V2 según la presencia de EAI.

Los individuos asintomáticos presentaban puntuaciones superiores en todas las dimensiones y áreas evaluadas con este test que los familiares con clínica asociada, excepto en el dolor, la Percepción general de salud y el área de Bienestar Emocional donde reflejaron valores muy similares como está representado en la figura 41.

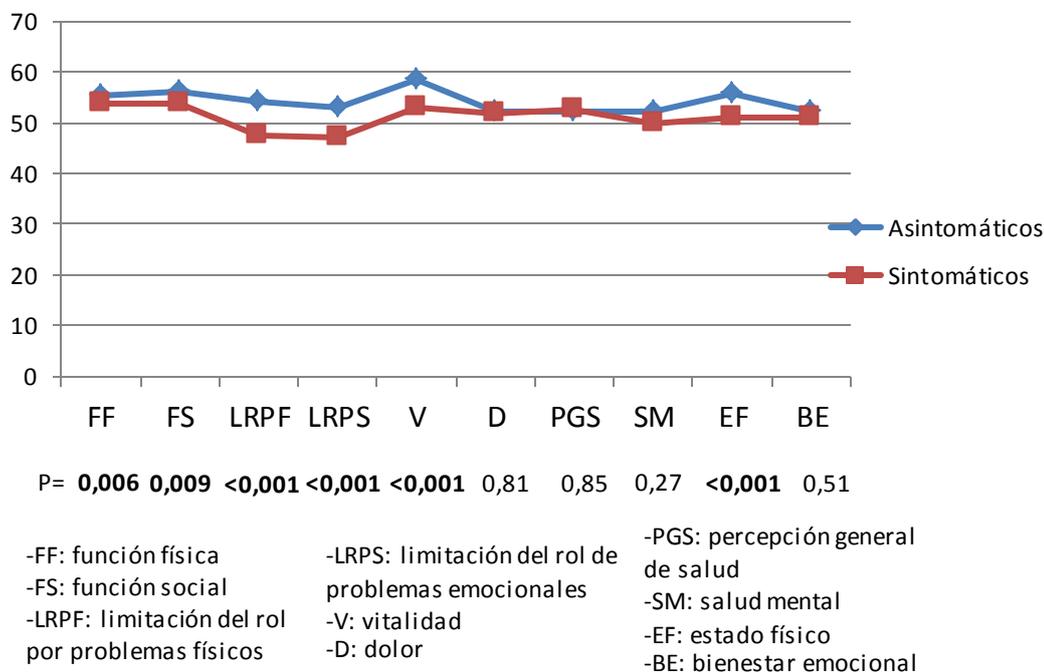


Figura 41. Puntuaciones medias obtenidas según la presencia de clínica asociada.

En la figura 42 puede observarse que la consistencia líquida en las heces estaba relacionada con una menor calidad de vida, presentando puntuaciones inferiores que el resto de consistencias en todas las dimensiones y áreas del cuestionario SF36V2. Además los individuos con heces normales (blandas) reflejaban valores superiores estadísticamente significativos en el área del Estado Funcional y todas las dimensiones relacionadas con esta área.

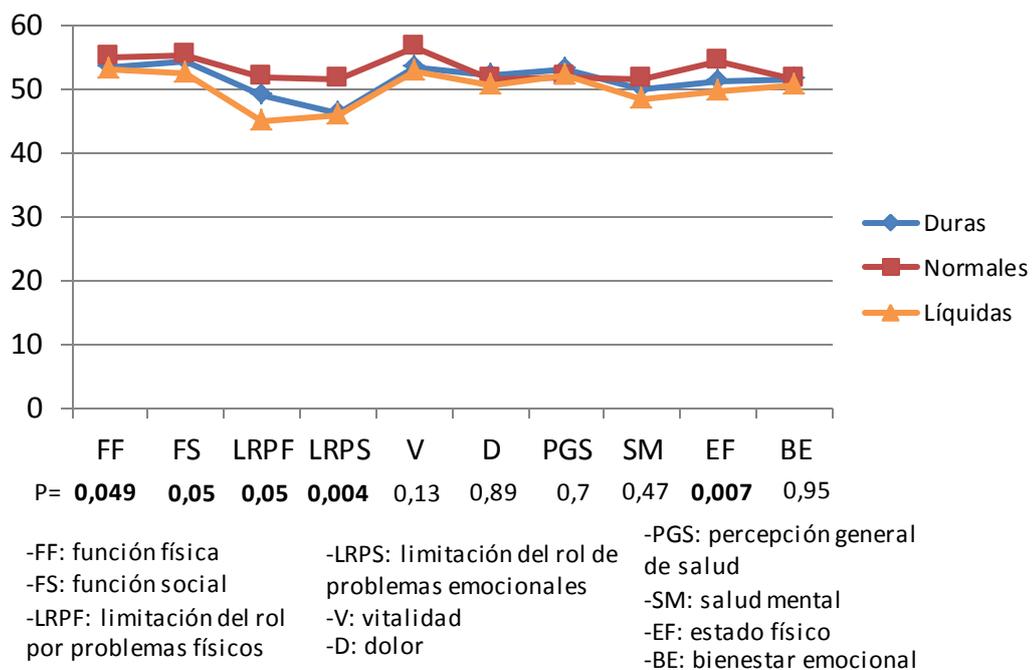


Figura 42. Influencia en la calidad de vida de la consistencia de las heces.

Sin embargo, la presencia de hallazgos en la EDA no modificaba la calidad de vida. De manera que los valores obtenidos en el SF36V2 en los familiares que tenían alteraciones en la gastroscopia eran semejantes a los que no se advertían lesiones.

La detección del HP en las biopsias gástricas tampoco modificaba el grado de calidad de vida descrita por esta prueba. De manera tanto los familiares con HP+ como en los que no tenían formas bacilares los resultados en el SF36V2 eran semejantes como aparece en la figura 43.

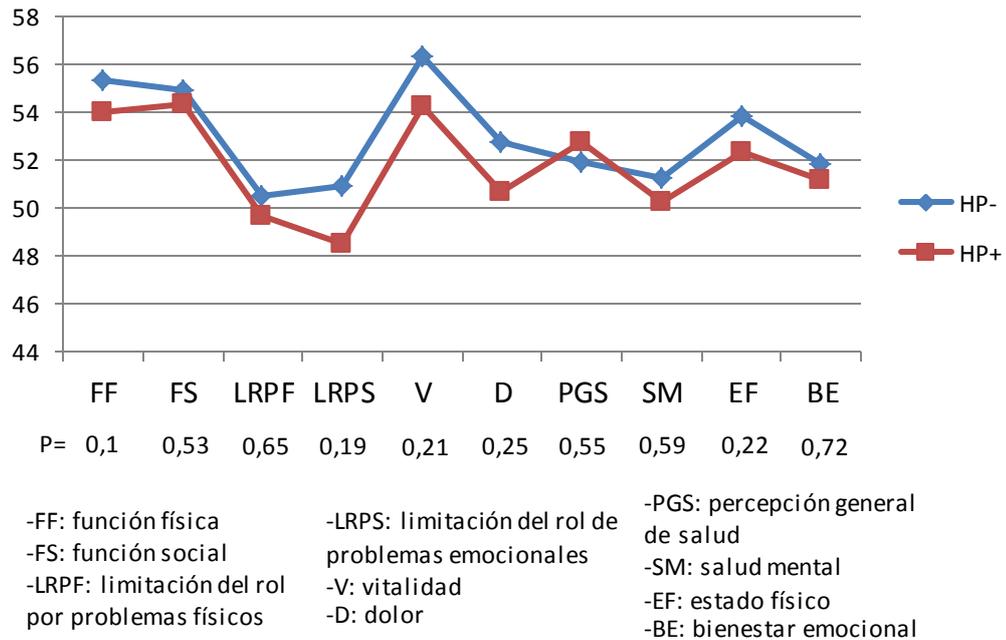


Figura 43. Calidad de vida evaluada por el SF36V2 según la presencia de HP.

Los hallazgos histológicos no alteraban la calidad de vida percibida por los participantes del estudio. Ninguna de las áreas y dimensiones evaluadas por el cuestionario SF36V2 era influenciada por la presencia de la enteritis linfocítica o atrofia vellositaria. Estos resultados están representados en figura 44.

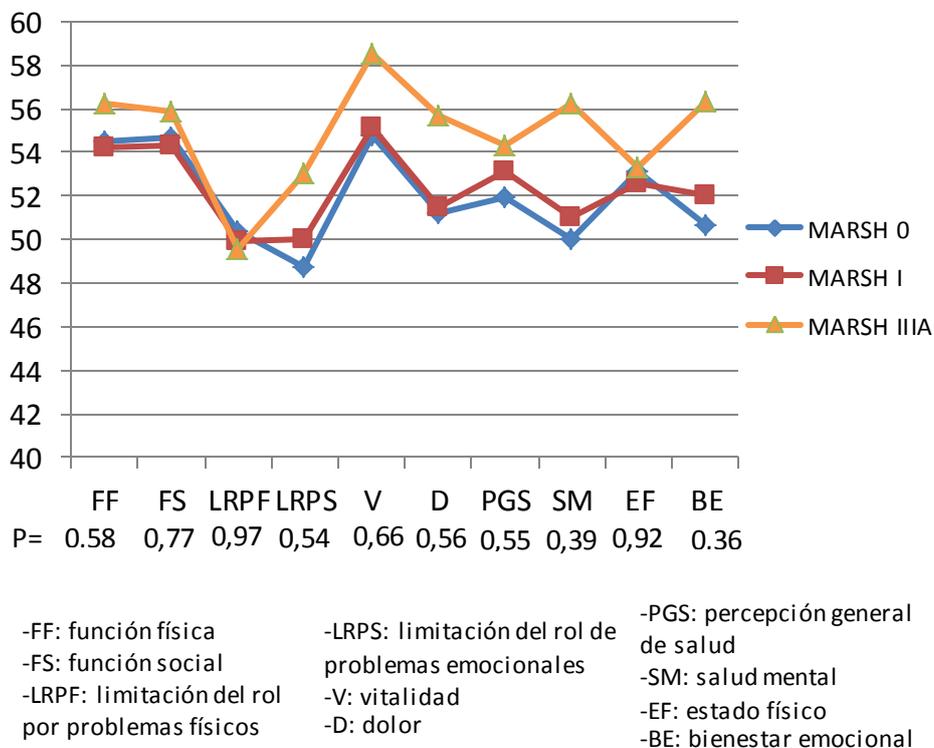


Figura 44. Resultados del test SF36V2 según las alteraciones histológicas detectadas.

La calidad de vida medida mediante el cuestionario SF36V2 era independiente del genotipado HLA. De manera que el riesgo genético de los sujetos de este estudio no modificaba ninguna de las áreas ni dimensiones evaluadas mediante este test como observamos en la figura 45.

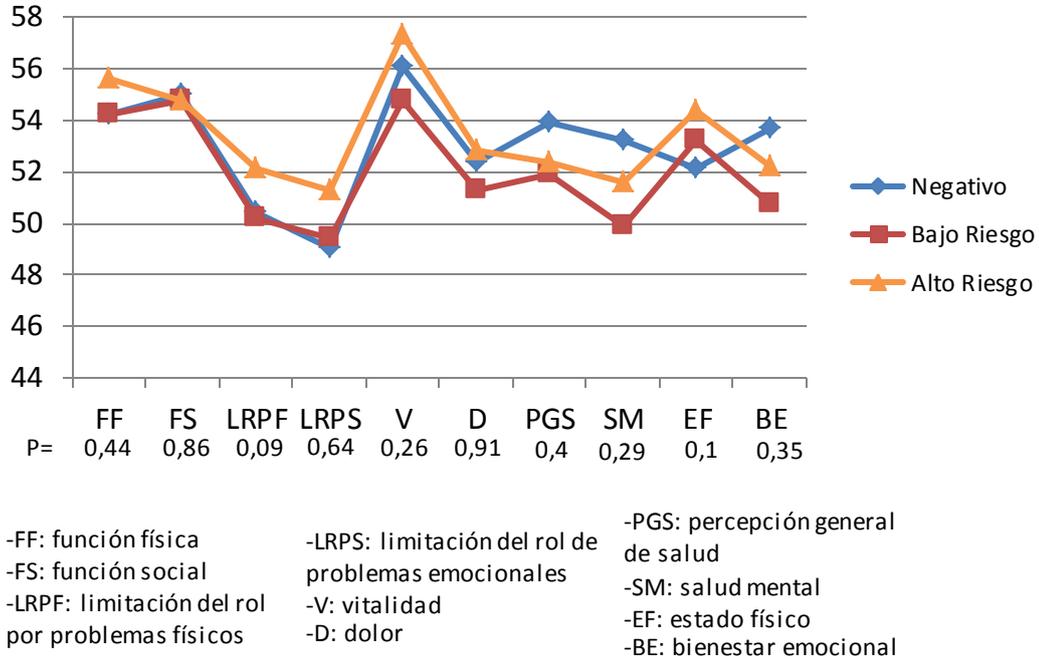


Figura 45. Relación entre el haplotipo HLA y la calidad de vida (SF36V2).

En la figura 46 y 47 podemos observar la relación entre la sintomatología objetivada por los cuestionarios CSI y GSRs y la calidad de vida. Existe una relación entre la intensidad de la clínica existente y la disminución de la puntuación en el SF36V2.

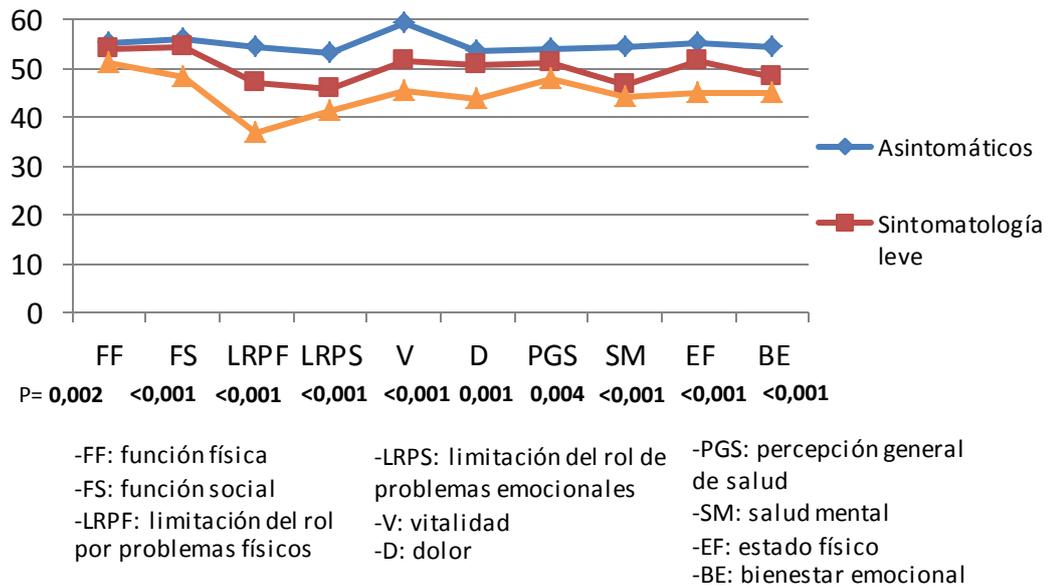


Figura 46. Modificación de la calidad de vida según el CSI

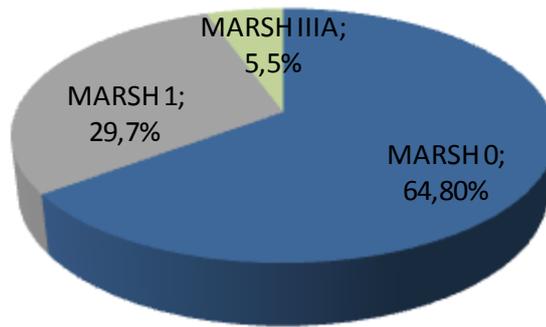


Figura 48. Lesiones histológicas detectadas en los familiares que realizaron DEXA.

En los familiares que realizaron estudio densitométrico había un predominio de componente genético de riesgo para la enfermedad celiaca. No presentaban el haplotipo HLA DQ2 o DQ8 el 11,8% (11/93) de los sujetos. Los demás, mostraron alguno de los alelos de riesgo del genotipado HLA. En la figura 49 pueden observarse la distribución del haplotipo HLA-DQ de los participantes.

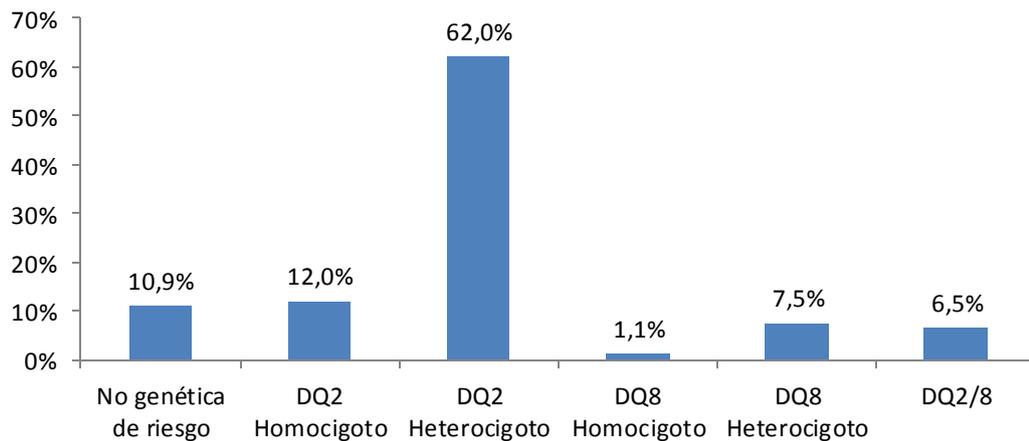


Figura 49. Distribución del componente genético HLA entre los sujetos que realizaron la DEXA.

Las alteraciones en la mineralización ósea fueron detectadas en un 28% de los familiares (12% osteopenia, 16,3% osteoporosis). En la figura 50 observamos un mayor porcentaje de alteraciones óseas en la columna lumbar, mientras que en la cadera, estas lesiones afectaban al 22% de los sujetos (9,8% osteopenia y 13% osteoporosis) evaluadas a través del T-score.

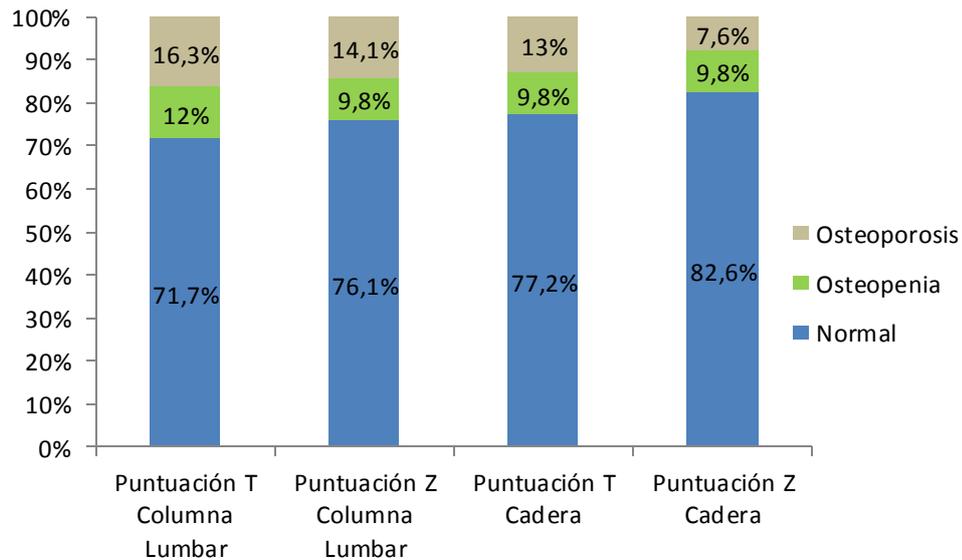


Figura 50. Alteraciones óseas detectadas en la cadera y columna lumbar en la densitometría.

El componente genético estaba relacionado con la densidad mineral ósea a nivel de la columna lumbar (CL), determinada mediante el T-score. De manera que los sujetos con alto riesgo genético, homocigotos para los alelos de riesgo, tenían una alteración de la mineralización ósea dos veces superior que los individuos con bajo riesgo (heterocigotos para estos alelos). Además en ausencia de un haplotipo HLA de riesgo las alteraciones óseas (osteopenia y osteoporosis) eran 2,5 veces inferiores. Estos hallazgos están representados en la figura 51.

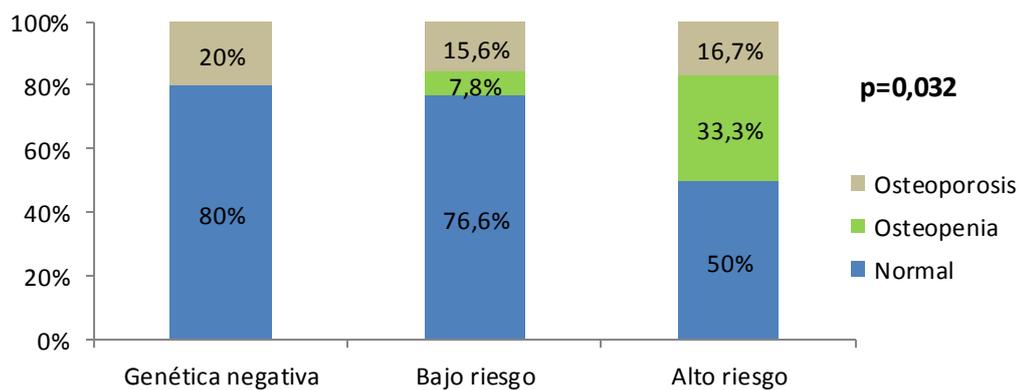


Figura 51. Influencia del componente genético en la densidad mineral ósea de la columna lumbar, según el T-score.

Al evaluar las lesiones óseas en la columna lumbar mediante el Z-score, los sujetos de alto riesgo presentaban el doble de alteraciones óseas (osteoporosis 11,1%, osteopenia 22,2%) que los de bajo riesgo (osteoporosis 12,5%, osteopenia 6,3%). Sin embargo los individuos sin

genética de riesgo tenían un elevado nivel de afectación en la mineralización ósea (osteoporosis 30%, osteopenia 10%). Estos resultados no alcanzaron significación estadística como indica la figura 52.

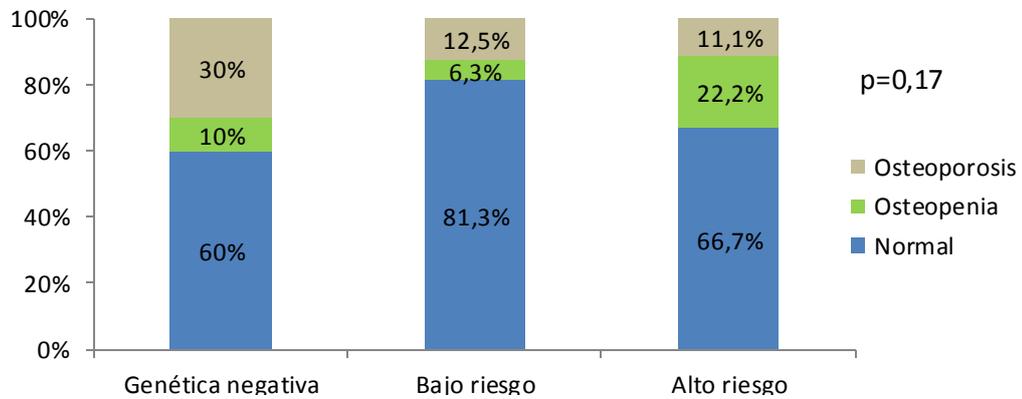


Figura 52. Hallazgos densitométricos en la columna lumbar evaluados mediante el Z-score según el riesgo genético.

El tipo de componente genético no estaba asociado con el grado de mineralización ósea a nivel de la cadera, tanto con el T-score como con el Z-score. Pero los familiares sin carga genética tenían menor proporción de lesiones óseas detectadas en la densitometría ósea. En la figura 53 y 54 está reflejada la relación entre estas variables sin observar asociación estadísticamente significativa.

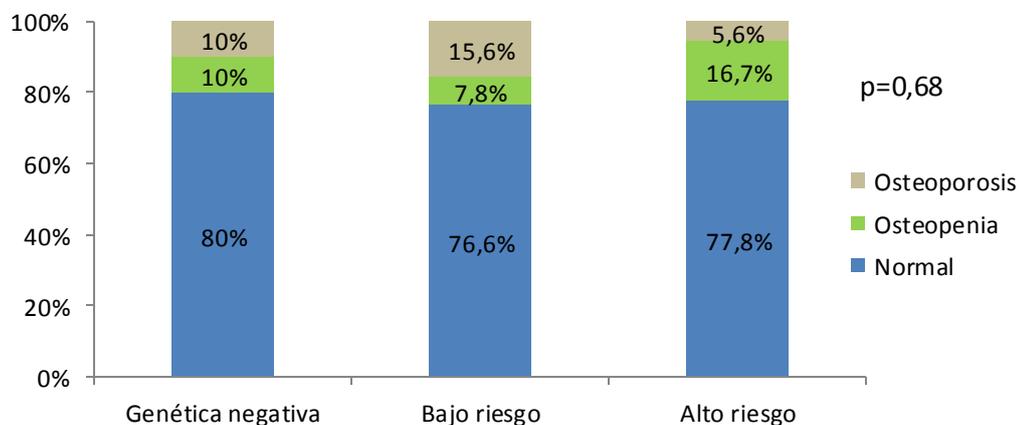


Figura 53. Asociación entre el riesgo genético y la mineralización ósea de la cadera según el T-score.

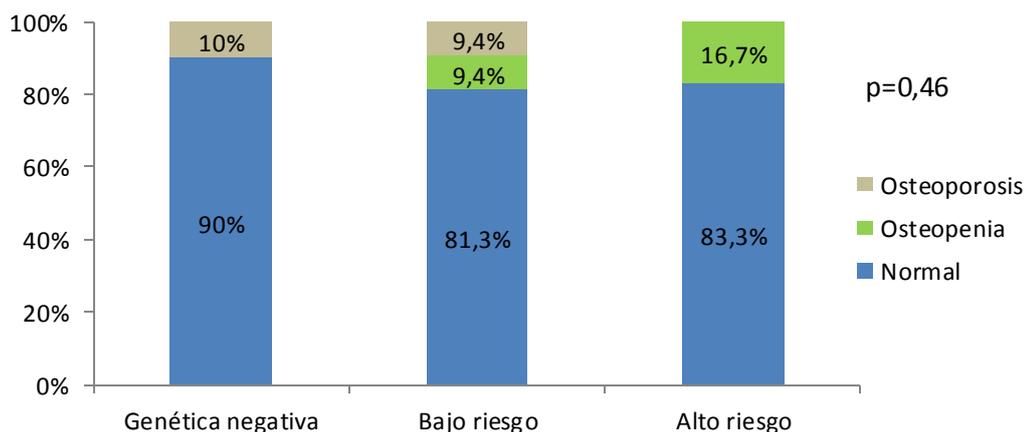


Figura 54. Lesiones óseas en la cadera, detectadas mediante el Z-score, según el riesgo genético.

Las alteraciones histológicas observadas no modificaban los resultados obtenidos en la densitometría ni en la columna lumbar ni en la cadera. Los hallazgos detectados en estas localizaciones están descritos en la tabla 11 y 12 respectivamente sin evidenciar ninguna relación significativa.

SCORE	MARSH	AUSENCIA DE ALTERACIONES	OSTEOPENIA	OSTEOPOROSIS	P
T-score	0	67,8%	15,3%	16,9%	0,74
	I	77,8%	7,4%	14,8%	
	IIIA	80%	0%	20%	
Z-score	0	74,6%	10,2%	15,3%	0,86
	I	81,5%	7,4%	11,1%	
	IIIA	60%	20%	20%	

Tabla 11. Relación entre los hallazgos histológicos encontrados y la densidad mineral de la Columna lumbar, evaluada mediante el T-score y el Z-score.

SCORE	MARSH	AUSENCIA DE ALTERACIONES	OSTEOPENIA	OSTEOPOROSIS	P
T-score	0	76,3%	10,2%	13,6%	0,8
	I	74,1%	11,1%	14,8%	
	IIIA	100%	0%	0%	
Z-score	0	81,4%	13,6%	5,1%	0,27
	I	81,5%	3,7%	14,8%	
	IIIA	100%	0%	0%	

Tabla 12. Influencia de las alteraciones anatomopatológicas, determinadas a través del T-score y la mineralización ósea de la cadera.

Los familiares con HP en las biopsias gástricas tenían un grado de afectación ósea de la columna lumbar evaluado mediante el T-score (osteoporosis 25,9% y osteopenia 13%) muy superior que aquellos que no tenían afectación bacteriana, presentando osteoporosis el 2,7% y osteopenia el 10,8%. En la figura 55 están representadas las alteraciones óseas detectadas según la detección del HP en las muestras gástricas.

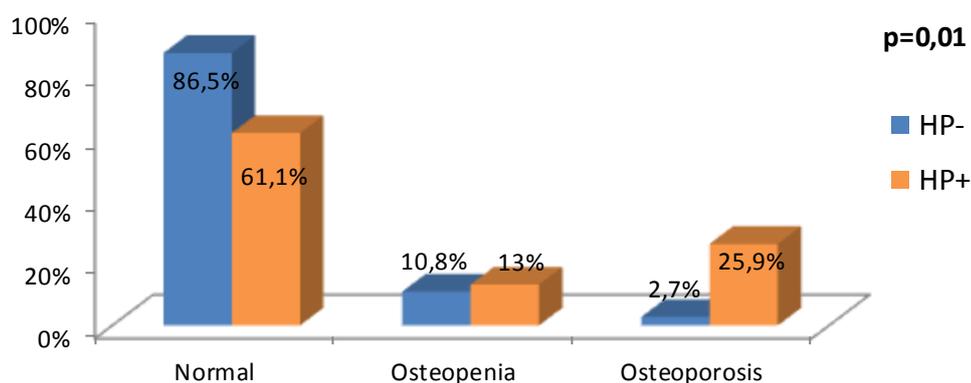


Figura 55. Grado de afectación ósea lumbar evaluada por el T-score según la presencia del Helicobacter Pylori.

También observamos que los sujetos con HP mostraban un porcentaje de alteraciones en la mineralización ósea en la región lumbar estudiadas mediante el Z-score dos veces

superior que aquellos individuos que no tenían esta bacteria, tal como puede observarse en la figura 56.

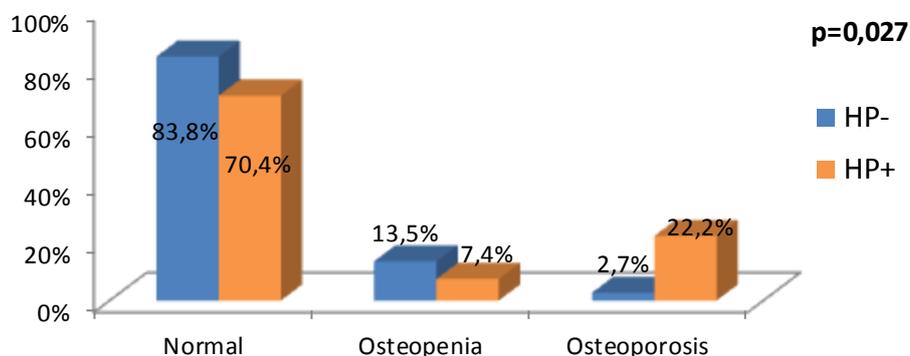


Figura 56. Alteraciones en la mineralización ósea lumbar determinadas mediante el Z-score según la presencia del Helicobacter Pylori.

Al analizar la mineralización ósea en la cadera, los familiares con infección por HP también evidenciaron un mayor porcentaje de lesiones (osteoporosis 18,5% y osteopenia 11,1%) determinadas mediante el T-score, que aquellos que no tenían formas bacilares (osteoporosis 5,4%, osteopenia 8,1%). Sin embargo, estos resultados no estadísticamente significativos como representa la figura 57.

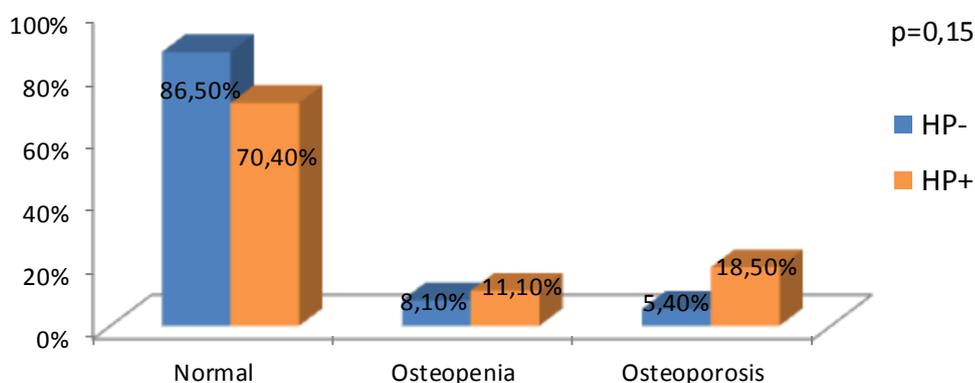


Figura 57. Relación entre la presencia del HP y las alteraciones óseas a nivel de la cadera detectadas mediante el T-score.

Mediante el Z-score, también se observó que los afectados por el HP presentaban en la cadera una proporción más elevada de alteraciones óseas (osteoporosis 11,1% osteopenia 11,1%) que los sujetos que carecían de esta bacteria. En estos familiares sin formas bacilares en las biopsias gástricas, el porcentaje de osteopenia descendía hasta el 8,1% y la osteoporosis

hasta el 2,7%. Estos resultados que no alcanzaron significación estadística pueden observarse en la figura 58.

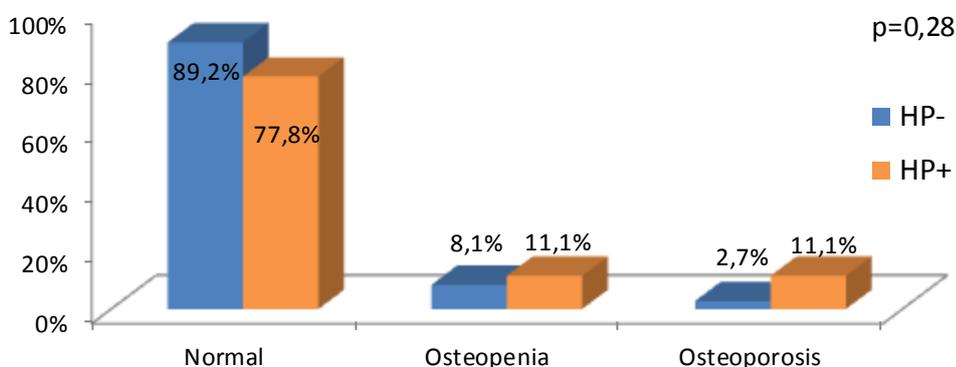


Figura 58. Afectación ósea determinada mediante el Z-score según la afectación por Helicobacter Pylori.

5. INFLUENCIA DE LA GENÉTICA

El 21,6% de los participantes no tenían una genética de riesgo para el desarrollo de la EC. Un riesgo genético bajo, definido como aquellos sujetos heterocigotos para el haplotipo HLA DQ2 o DQ8, estaba presente en el 63,3% de la muestra. Mientras que un alto riesgo genético, homocigoto para estos haplotipos de riesgo, afectaba al 15,1%. Al estudiar la distribución del componente genético según el sexo observamos que los individuos con alto riesgo eran en mayor porcentaje varones que aquellos en ausencia de genética o con bajo riesgo. Sin embargo, como puede observarse en la figura 59 esta relación no fue estadísticamente significativa.

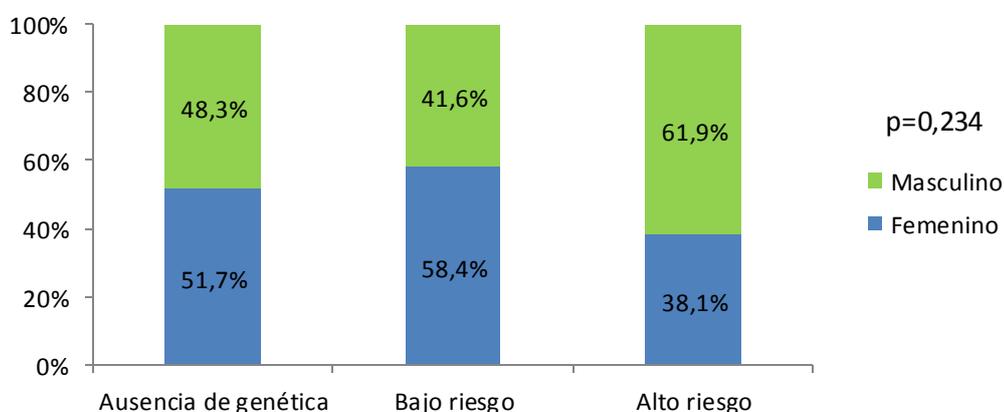


Figura 59. Relación entre el sexo y el componente genético de los familiares de primer grado de pacientes celíacos.

El desarrollo de enfermedades autoinmunes fue ligeramente superior en los familiares sin carga genética de riesgo, sin embargo no se demostró asociación estadística tal como refleja la figura 60.

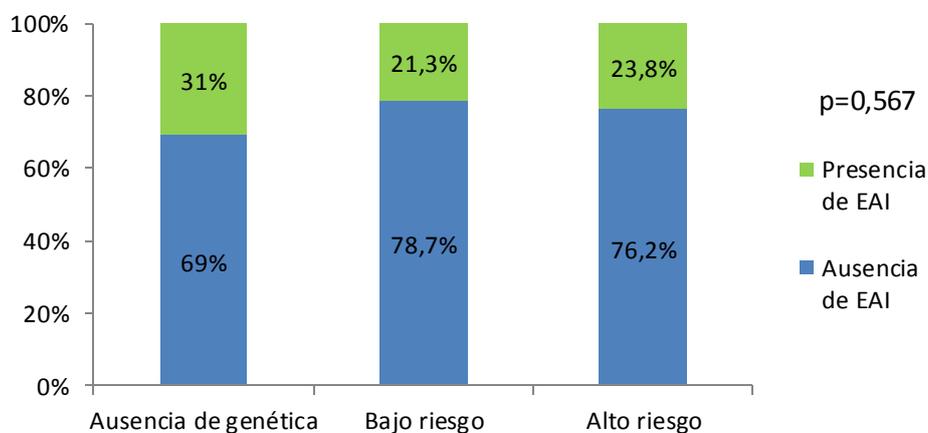


Figura 60. Influencia entre la genética de riesgo de la EC (enfermedad celíaca) y las EAI (enfermedades autoinmunes).

La presencia de sintomatología clínica no estaba relacionada con el componente genético. Aproximadamente un 40% de los familiares estudiados tenían síntomas asociados independientemente de haplotipo HLA detectado tal como describe en la figura 25.

Las alteraciones histológicas detectadas eran independientes de la carga genética que disponían los familiares. El 47,6% de los familiares con alto riesgo genético mostraban un incremento de los linfocitos intraepiteliales en contraposición del 28,2% en los sujetos con bajo riesgo genético y el 43,8% en los que no tenían una genética de riesgo. No obstante estos hallazgos no mostraron relación estadísticamente significativa como refleja la figura 61.

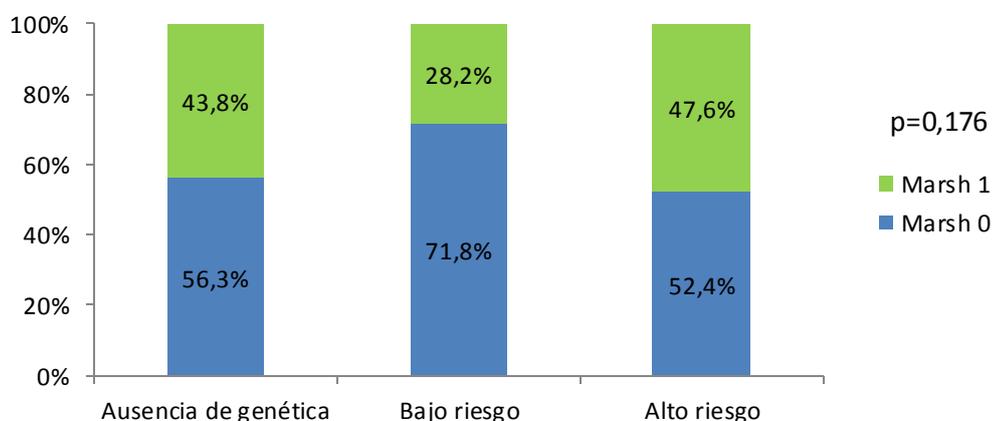


Figura 61. Presencia de la enteritis linfocítica según el riesgo genético.

La presencia del HP en las biopsias gástricas no se modificaba según la carga genética. La prevalencia del HP en familiares de alto riesgo y sin componente genético de riesgo era aproximadamente del 70%, mientras que en los participantes con bajo riesgo descendía hasta el 53%. En la figura 62 puede observarse la ausencia de una asociación estadísticamente significativa.

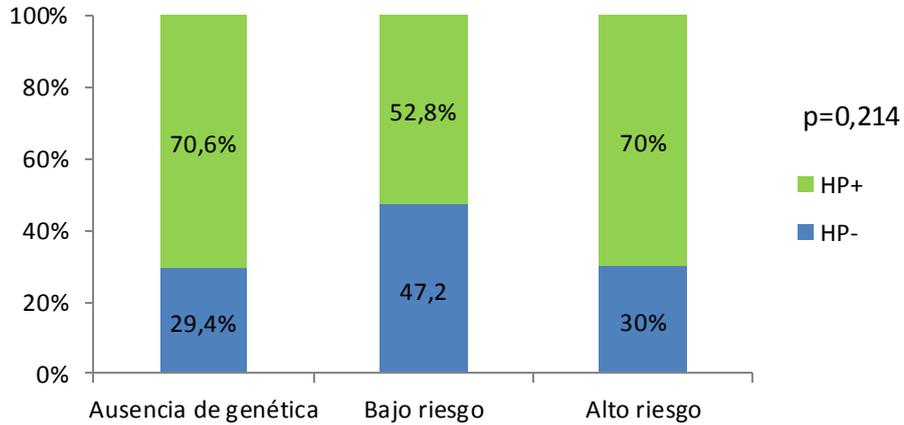


Figura 62. Relación entre el HP (Helicobacter Pylori) y el riesgo genético detectado.

El porcentaje de deposiciones líquidas en los familiares con heterocigotos para el haplotipo HLA DQ2-DQ8 fue del 37,4%, muy superior que los individuos sin genética de riesgo que descendía hasta el 30,3%. Ninguno de los sujetos con genética de alto riesgo presentó deposiciones líquidas. En la figura 63 puede observarse esta relación sin detectar asociación significativa.

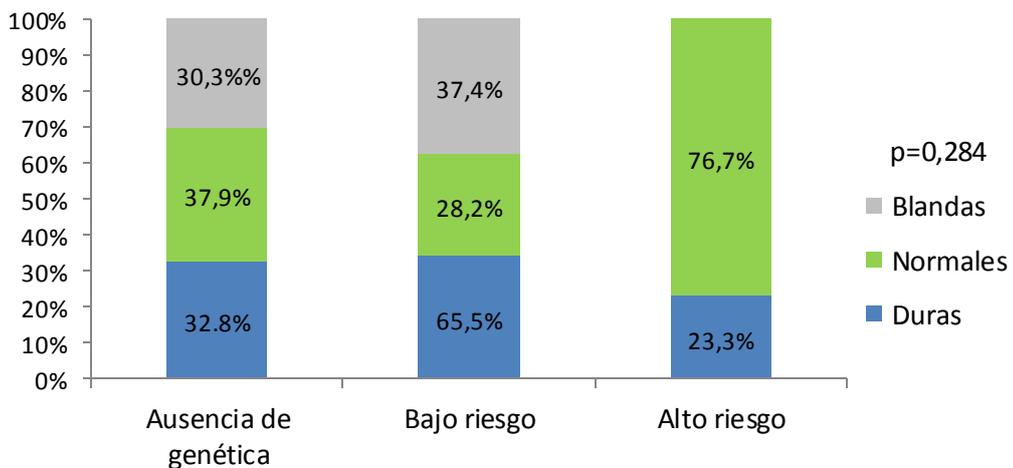


Figura 63. Características de las deposiciones según el componente genético de los familiares.

Los anticuerpos antitransglutaminasa (ATG) eran un 50% superior en los participantes de alto riesgo genético que en los otros dos grupos (ausencia de carga genética y bajo riesgo). Estos dos últimos conjuntos tenían un título de anticuerpos muy similar.

Los anticuerpos AAG deaminada IgA también presentaron una interacción similar. Los individuos con riesgo elevado tenían un título de anticuerpos 2,05 veces superior que los familiares sin componente genético. En los sujetos con bajo riesgo era 2,3 veces superior.

Al analizar los niveles de AAG deaminada IgG, observamos que el título de anticuerpos era muy similar. Los familiares con ausencia de genética compatible tenían unos niveles medios de 0,91mg/dl, en aquellos que presentaban un bajo riesgo era de 0,73mg/dl y cuando el riesgo genético era alto ascendía a 0,90mg/dl. No obstante, tal como refleja la figura 64, la relación de los niveles de los distintos tipos de métodos serológicos para el diagnóstico de la EC no demostró significación estadística.

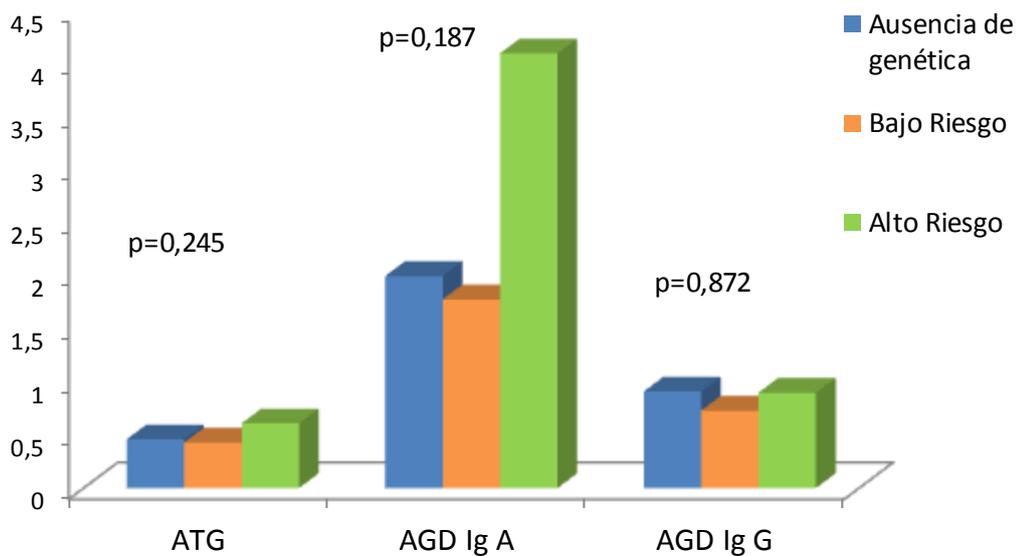


Figura 64. Influencia de la genética en el título de anticuerpos antitransglutaminasa y Antigliadina deaminada.

El tipo de componente genético no influía en los niveles de IgA total, hierro, ferritina, hemoglobina y colesterol. Los resultados obtenidos en estas variables según el componente genético están reflejados en la tabla 13.

VARIABLE	GENÉTICA	MEDIA	DESV TIP	ERROR TIP DE LA MEDIA	Valor p
IG A TOTAL	Ausente	223,2	97,1	18,3	p=0,101
	Bajo Riesgo	216,2	105,2	11,2	
	Alto Riesgo	272,1	112,6	25,2	
HIERRO	Ausente	75,6	30,8	5,7	p=283
	Bajo Riesgo	81,2	36,7	3,9	
	Alto Riesgo	81,7	38,9	8,7	
FERRITINA	Ausente	145,3	107,2	19,9	p=261
	Bajo Riesgo	117,5	107,0	11,5	
	Alto Riesgo	159,1	165,9	37,1	
HEMOGLOBINA	Ausente	13,5	1,5	6,8	p=0,395
	Bajo Riesgo	14,1	1,9	3,9	
	Alto Riesgo	13,9	1,9	10,2	
COLESTEROL	Ausente	207,1	36,4	6,8	p=389
	Bajo Riesgo	197,7	37,1	3,9	
	Alto Riesgo	207,2	46,5	10,2	

Tabla 13. Modificación de las variables analíticas según el riesgo genético.

6. HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

De la muestra que inicialmente comenzó el estudio, 141 familiares, dos sujetos abandonaron el mismo después de la primera visita. El resto completó el periodo de modificación dietética, y una alta proporción de participantes (n=113) accedieron a la realización de una EDA. A pesar de que todos tenían Ac antitransglutaminasa IgA negativos, en la biopsia duodenal presentaron alteraciones en la histología 42/113 (37,2%): 37 Marsh I y 5 Marsh IIIa. El 85% tenían con un haplotipo HLA compatible con la enfermedad celíaca. En los individuos con genética positiva, 35/96 (36,4%) tenían anomalías anatomopatológicas: 30 Marsh I y 5 Marsh IIIa. La siguiente figura representa los hallazgos histológicos detectados en los participantes.

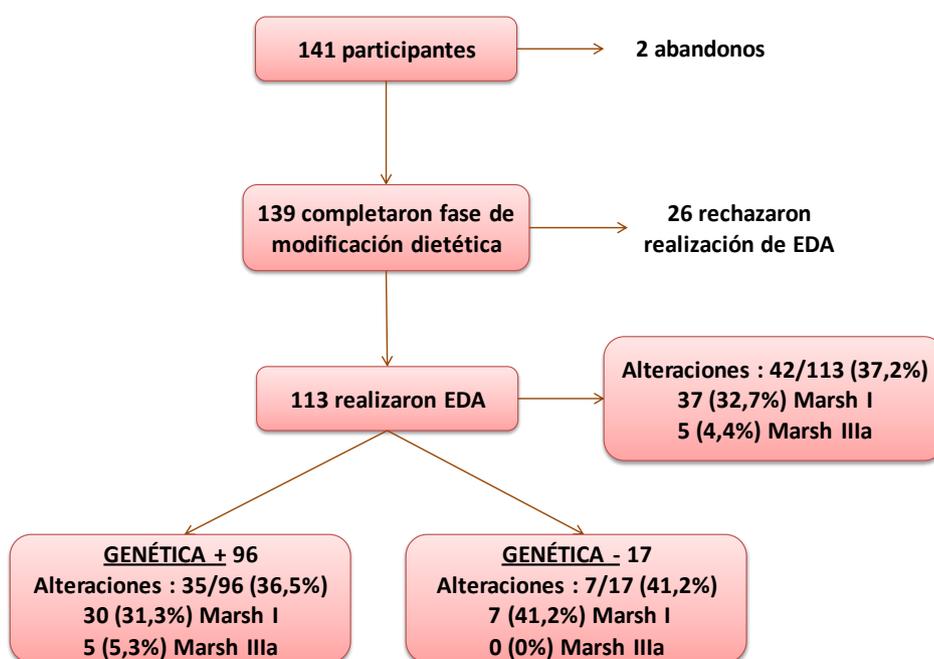


Figura 65. Diagrama de flujo que representa las alteraciones histológicas detectadas en los participantes del estudio según el haplotipo genético.

Al analizar las anomalías histológicas según el sexo, se observa un incremento del porcentaje de mujeres afectadas según aumenta la intensidad del daño histológico detectado. Es decir, las lesiones anatomopatológicas más graves afectaban de forma predominante al sexo femenino. No obstante estos hallazgos no alcanzaron significación estadística como refleja la figura 66.

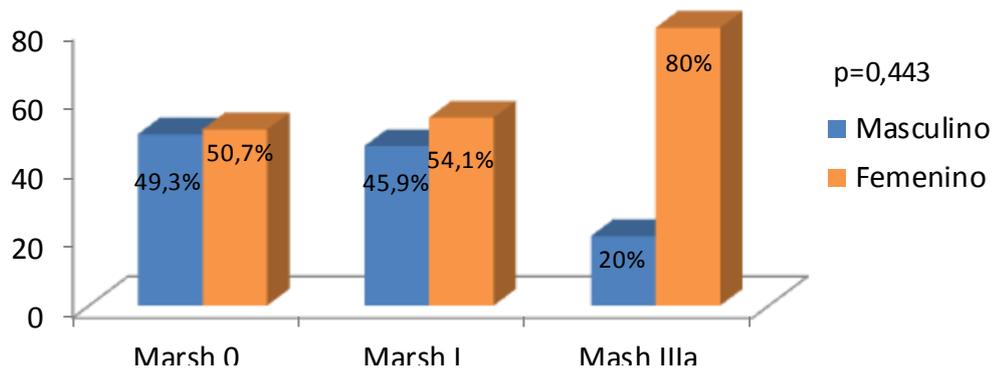


Figura 66. Alteraciones histológicas detectadas según el sexo de los participantes.

Las alteraciones histológicas detectadas no modificaban la sintomatología clínica descrita por los participantes. De manera que aproximadamente 60% de los familiares tenían síntomas clínicos asociados independientemente del resultado de las biopsias duodenales como se representaba en la figura 23.

De igual manera, tampoco el desarrollo de EAI mostró relación con el resultado histológico de las biopsias duodenales. La prevalencia de las EAI en los familiares sin alteraciones anatomopatológicas era de 22,5%, mientras que en los que tenían un incremento de los linfocitos intraepiteliales era del 27%. Ninguno de los participantes con atrofia intestinal presentó EAI asociadas. Estos resultados pueden observarse en la figura 67.

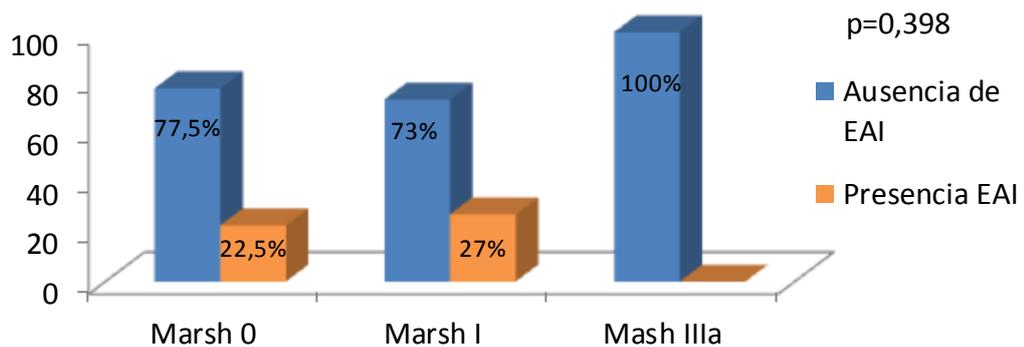


Figura 67. Influencia de hallazgos histológicos observados en el desarrollo de las enfermedades autoinmunes (EAI).

Las alteraciones anatomopatológicas más llamativas de las biopsias duodenales son observadas en las edades más tempranas. De manera que la edad media en los sujetos con Marsh 0 era de 42,9 años. Mientras que en los participantes que tenían enteritis linfocítica era

de 40,7 años y los que mostraron una atrofia vellositaria fue de 35 años. No obstante, como demuestra la figura 68 estos resultados no fueron estadísticamente significativos.



Figura 68. Influencia de la edad en la detección de las alteraciones histológicas.

Los sujetos con enteritis linfocítica (Marsh I) en la biopsia duodenal presentaban de forma estadísticamente significativa mayor presencia de HP en la biopsia gástrica. También se observa como los casos de atrofia vellositaria se asociaban con menor frecuencia a HP (figura 69).

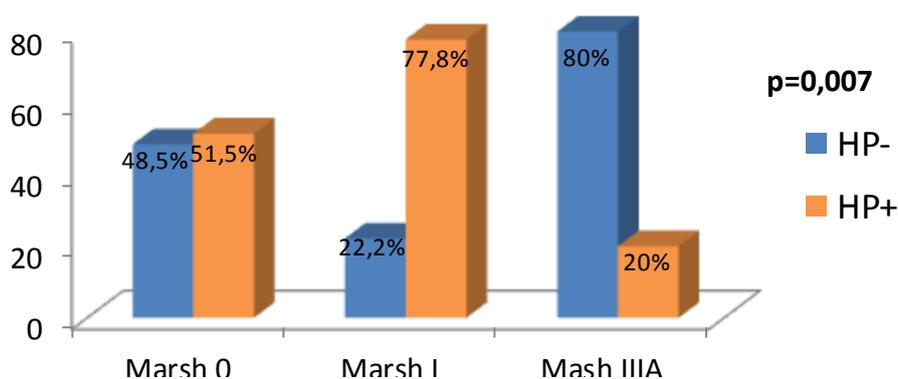


Figura 69. Detección del HP (Helicobacter Pylori) según los hallazgos histológicos duodenales.

Los familiares con atrofia vellositaria demostraron una mayor proporción de deposiciones de consistencia líquida que el resto de los participantes. El 40% de los sujetos con Marsh IIIA presentaron deposiciones líquidas mientras que esta disminución de la consistencia de las deposiciones fue observada en un 8,5% y en un 8,1% respectivamente de los que tenían Marsh 0 y Marsh I. Estos hallazgos no alcanzaron significación estadística como representa la figura 70.

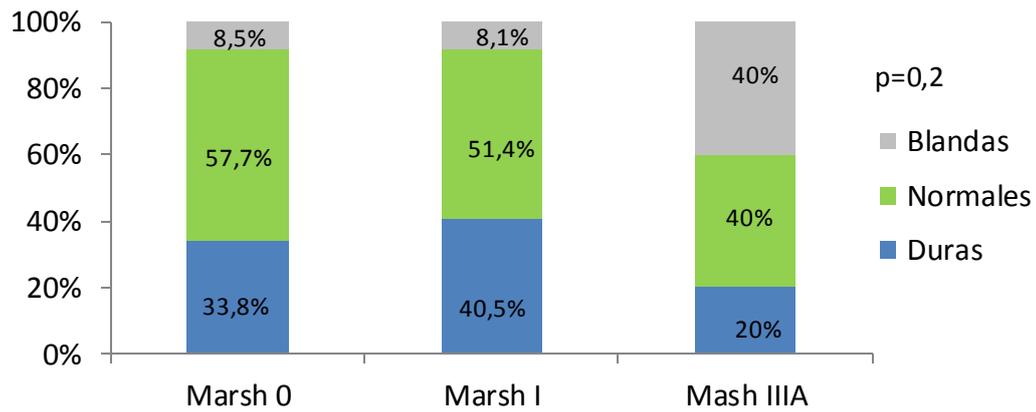


Figura 70. Modificación de la consistencia de las deposiciones según los hallazgos histológicos duodenales.

Los sujetos con genotipado positivo para la enfermedad celíaca mostraron una mayor frecuencia de lesiones histológicas. El 81,1% de los familiares con enteritis linfocítica tenían una genética compatible para la EC. Además todos los que presentaban atrofia intestinal tenían haplotipos positivo. Sin embargo, tal como refleja la figura 71, estos resultados no fueron estadísticamente significativos.

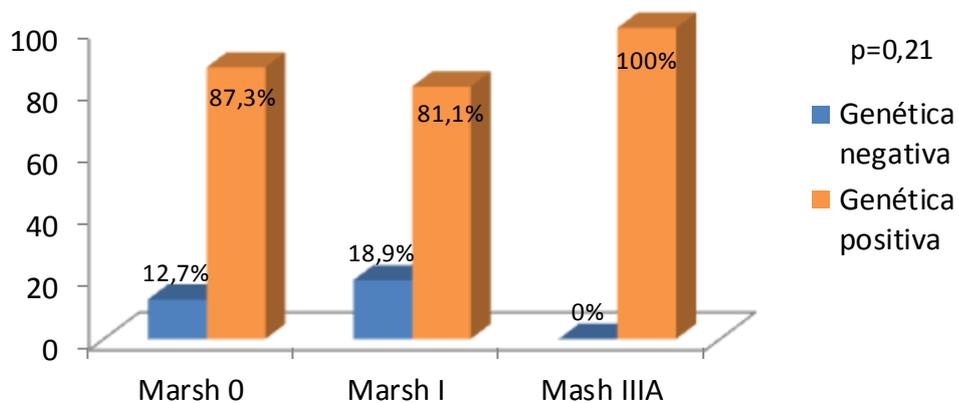


Figura 71. Distribución de las alteraciones histológicas según la genética presente.

La sintomatología clínica descrita mediante el cuestionario clínico GSRS antes de iniciar el estudio no permite identificar los individuos con un mayor riesgo de presentar alteraciones en las biopsias duodenales. Todos los familiares diagnosticados de EC refirieron síntomas leves. Mientras que en los sujetos con aumento de los linfocitos intraepiteliales y sin anomalías microscópicas relataron síntomas leves en un 89,2% y en un 88,7% respectivamente. Estos resultados pueden observarse en la figura 72.

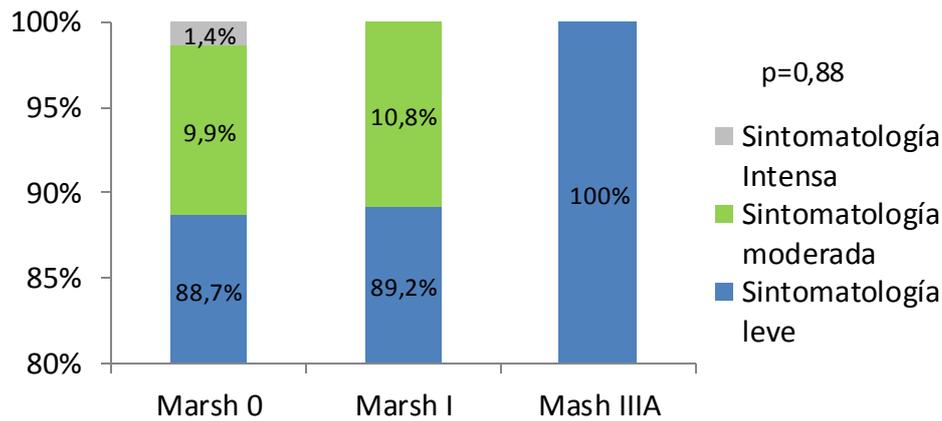


Figura 72. Relación entre hallazgos histológicos duodenales y la sintomatología evaluada mediante el cuestionario GSRS.

Tampoco la evaluación clínica a través del test CSI permitía seleccionar individuos con una probabilidad más elevada de tener alteraciones histológicas. Los familiares con Marsh 0 especificaron una mayor proporción de clínica asociada que los presentaron Marsh I y IIIA, tal como representa la figura 73.

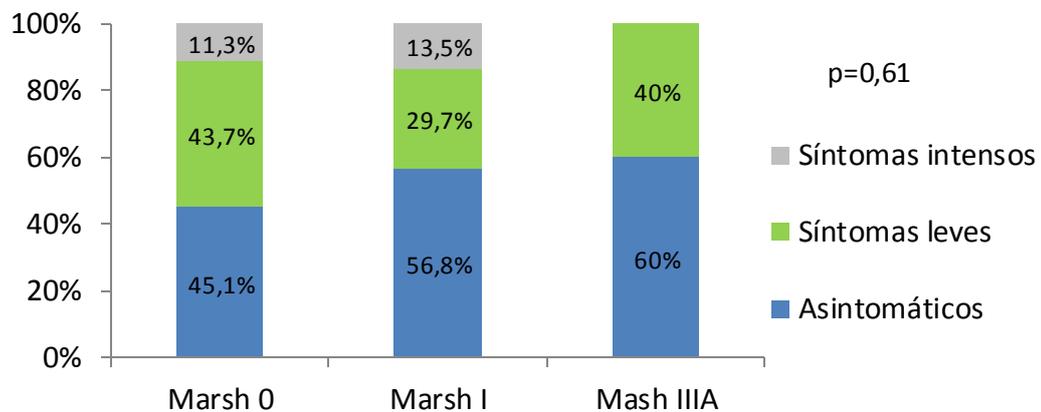


Figura 73. Influencia de las alteraciones anatomopatológicas en la clínica asociada evaluada mediante el test CSI.

Los sujetos con alteraciones anatomopatológicas en las biopsias duodenales mostraron valores en los anticuerpos AAG deaminada IgA, AAG deaminada IgG y ATG Ig A superiores a los que no tenían anomalías microscópicas. Hay que tener en cuenta que todos los niveles serológicos estaban dentro del rango de normalidad de nuestro laboratorio en los familiares que accedieron a realizar la EDA (Figura 74).

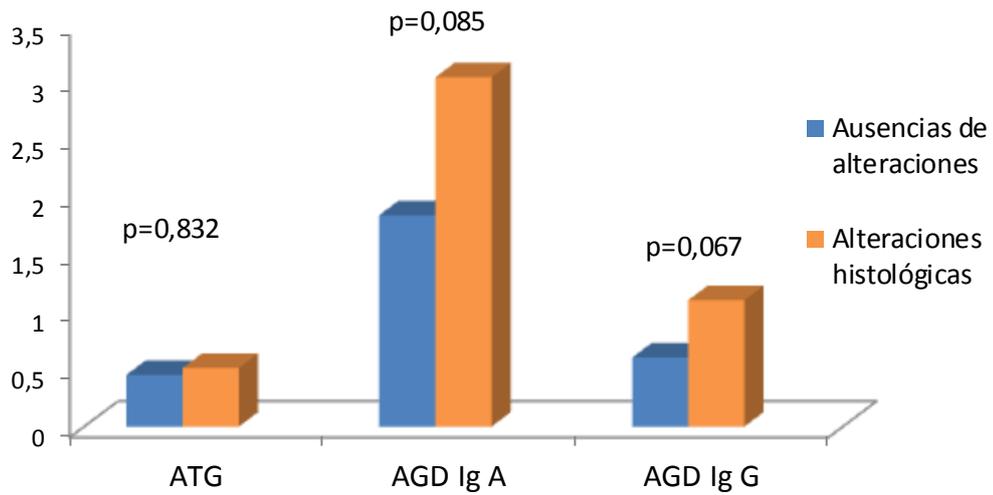


Figura 74. Modificación de los principales métodos serológicos para el diagnóstico de la EC según la presencia de alteraciones histológicas en las biopsias duodenales.

Los niveles de hemoglobina y hierro eran inferiores en los familiares con atrofia vellositaria, mientras que los valores de ferritina estaban aumentados en este grupos. Estos hallazgos están reflejados en la tabla 14.

VARIABLE	GENÉTICA	MEDIA	DESV TIP	ERROR TIP DE LA MEDIA	Valor p
IG A TOTAL	Marsh 0	228,9	119,4	14,2	0,48
	Marsh I	225,9	91,4	15,2	
	Marsh IIIA	207,8	60,4	27,0	
HIERRO	Marsh 0	83,5	33,6	4,0	0,66
	Marsh I	80,9	41,3	6,9	
	Marsh IIIA	68,6	20,5	9,2	
FERRITINA	Marsh 0	129,0	118,7	14,2	0,93
	Marsh I	130,6	132,7	22,1	
	Marsh IIIA	150,0	118,4	53,0	
HEMOGLOBINA	Marsh 0	14,0	1,8	0,2	0,22
	Marsh I	13,9	1,9	0,3	
	Marsh IIIA	12,6	1,6	0,7	

Tabla 14. Variaciones de las constantes analíticas según los hallazgos histológicos encontrados.

7. MODIFICACIÓN DIETÉTICA

En la primera consulta (V0), los participantes eran interrogados sobre la sintomatología que presentaban, características y número de deposiciones, contestaban los diferentes cuestionarios y eran informados de los objetivos del proyecto. Tras la firma del consentimiento informado comenzaban la fase experimental del estudio. Durante 4 semanas siguieron una DSG de manera estricta seguidas de otras 4 semanas con donde cumplieron la sobrecarga

de gluten, que consistía en añadir un suplemento diario controlado de 15 g de gluten repartido en las diferentes comidas. Los sujetos fueron evaluados en consulta al finalizar cada tipo de dieta: la segunda visita tras la DSG (V1), y la tercera visita tras la sobrecarga de gluten (V2). En estas consultas fue reevaluada la respuesta clínica a la modificación en la dieta, el número de deposiciones semanales y características de las heces, el grado de cumplimiento a la dieta y la frecuencia de transgresiones. Además los individuos respondían 2 cuestionarios clínicos, CSI y GRSR, para cuantificar y comparar el resultado clínico a las modificaciones dietéticas.

De los 141 familiares que accedieron a participar sólo 2 abandonaron el proyecto, el resto (139) completaron las diferentes modificaciones dietéticas.

El cumplimiento de la DSG fue elevado. El 88,4% de los sujetos declaró un seguimiento estricto de la dieta, mientras que el resto de los participantes refirió un cumplimiento parcial.

Además el número de transgresiones dietéticas fue limitado. Un total de 84 individuos manifestaron no haber realizado ninguna transgresión, 49 de ellos ocasionalmente, 4 semanal y 2 diaria. En la figura 75 están representados estos resultados.

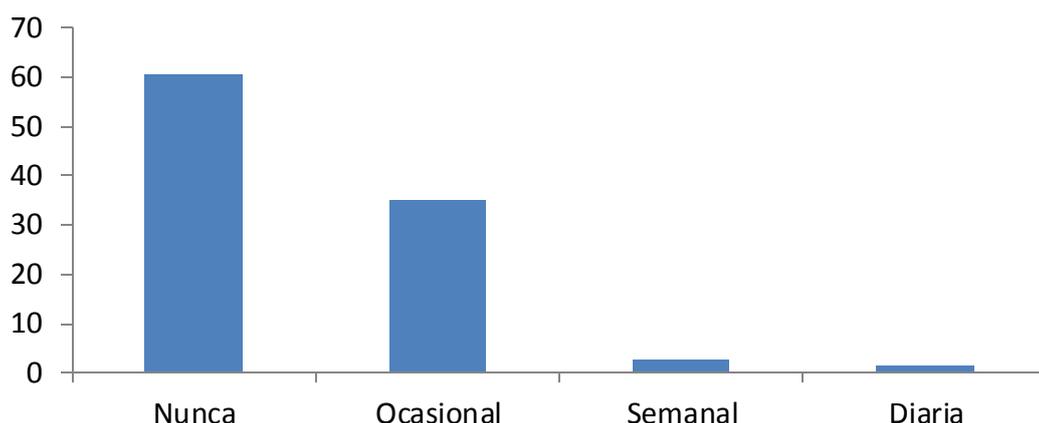


Figura 75. Transgresiones dietéticas realizadas durante el seguimiento de la DSG.

Durante la DSG la consistencia de las deposiciones predominante según la clasificación de Bristol era de heces blandas. Mientras que en situación basal había un mayor porcentaje de deposiciones con consistencia más dura (caprinas + duras + fragmentadas). En contraposición tras la realización de la sobrecarga de gluten se incrementaba las heces de composición líquidas (gelatina + mousse+ líquidas). Estos resultados como refleja la figura 76, alcanzó significación estadística.

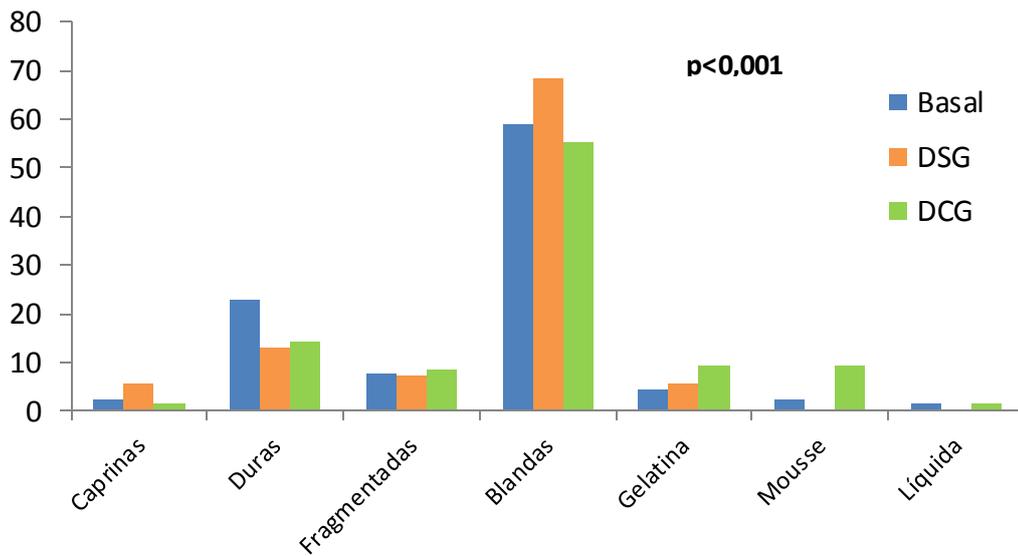


Figura 76. Modificación de las características de las deposiciones según la cantidad de gluten de la dieta.

Por otro lado, el número de deposiciones a la semana durante la DSG era significativamente menor que durante la sobrecarga de gluten y en situación basal. Al inicio del estudio la media de las deposiciones semanales era de 8,4 dep/sem, mientras que tras la realización de la DSG fue de 8,0 dep/sem y al finalizar la sobrecarga de gluten alcanzó las 9,8. Expresado de otra forma se puede decir que un mayor contenido de gluten en la dieta se asocia con un número superior de deposiciones semanales, sin embargo este resultado aunque alcance significación estadística tiene escasa relevancia clínica. (Figura 77).

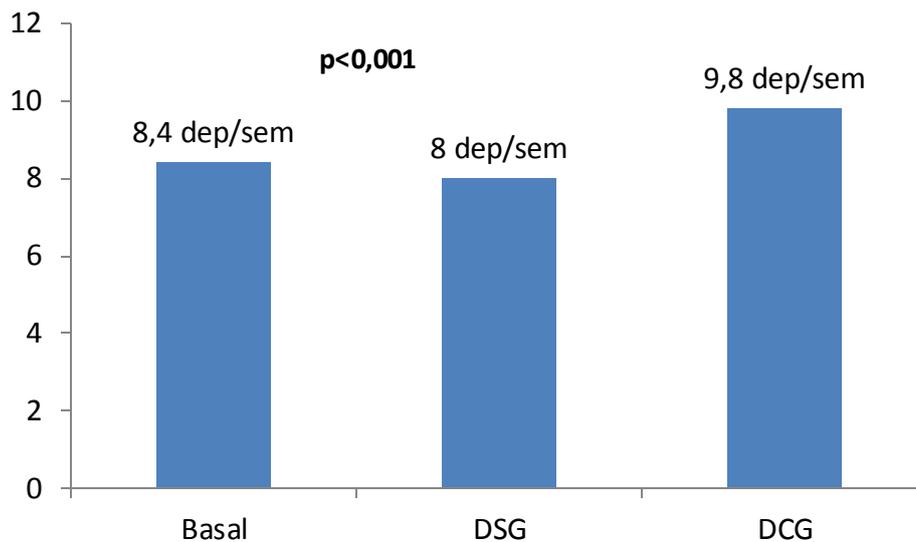


Figura 77. Número de deposiciones a la semana durante la modificación dietética.

Durante el seguimiento de la DSG los participantes expresaron una mejoría de la clínica asociada evaluada mediante el cuestionario GRSR, escala de valoración de síntomas gastrointestinales. Este test era contestado en situación basal, tras la realización de DSG durante 4 semanas y después cumplimentar la dieta con sobrecarga de gluten durante otras 4 semanas. El cuestionario evaluaba la frecuencia, duración e intensidad de diferentes síntomas gastrointestinales como respuesta a las diferentes modalidades dietéticas. La puntuación total variaba desde 0 (que indica ausencia de sintomatología) a 90 (síntomas insoportables). La obtención de valores inferiores a 30 están relacionados con una óptima calidad de vida. Puntuaciones superiores de 60 se corresponden con una pobre calidad de vida. En situación basal un 91,4% de los sujetos refirieron síntomas leves, en del 97,1% tras el seguimiento de la DSG y el 89,9% después de cumplir la sobrecarga de gluten. Estos hallazgos, tal como representa la figura 78, fueron significativos.

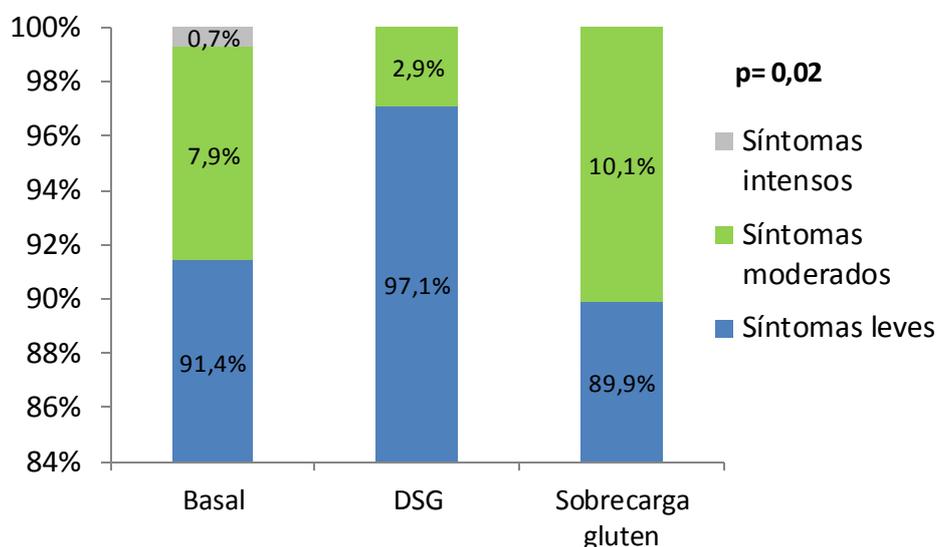


Figura 78. Respuestas al cuestionario GRSR a las distintas modalidades dietéticas del estudio.

De igual manera, los participantes durante el cumplimiento estricto de la DSG, experimentaron una mejoría de la sintomatología asociada, evaluada mediante el test CSI. Este cuestionario era completado junto al GRSR en cada una de las 3 visitas con el objeto de valorar la respuesta clínica en la situación basal, a la DSG o a la sobrecarga de gluten. El CSI evaluaba síntomas relacionados con la EC y salud general. La puntuación total varía desde 16 (ausencia de sintomatología) a 80 (clínica insoportable). Valores inferiores a 30 están asociados con una menor sintomatología. Por otro lado puntuaciones superiores a 45 están relacionadas con una intensa sintomatología. Al inicio del estudio el 54,7% de los familiares permanecían asintomáticos. Con la DSG el porcentaje de sujetos con ausencia de síntomas ascendió al

75,5%. Posteriormente, el 61,9% no presentó clínica asociada con la sobrecarga de gluten (figura 79).

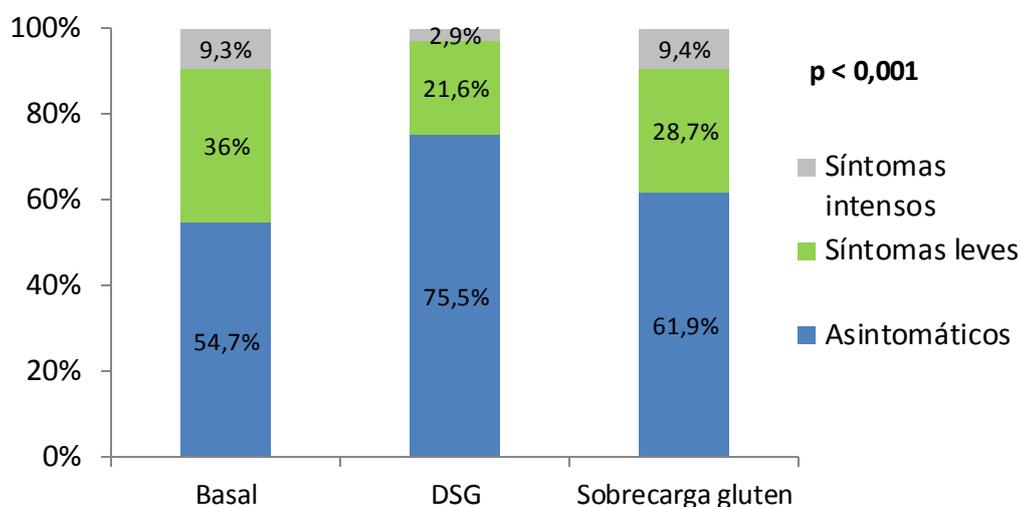


Figura 79. Puntuación del cuestionario CSI en las distintas fases dietéticas del estudio.

7.1 EVALUACIÓN SEGÚN LA SINTOMATOLOGÍA INICIAL

7.1.1 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS ASINTOMÁTICOS

Antes de comenzar el estudio 59 familiares no presentaban sintomatología asociada. Todos estos participantes tenían una dieta sin restricciones dietéticas previas excepto 2 sujetos (3,4%) que reconocieron cumplir una DSG antes de incorporarse a este proyecto. Tras la finalización de la DSG el 84,7% manifestaron un seguimiento estricto de la dieta y el resto cumplimiento parcial. Además hasta un 59,3% (35/59) no cometieron ninguna transgresión dietética y el 37,3% reconocieron ingesta de gluten de forma ocasional. Un participante informó de la realización de transgresiones semanales y otro sujeto ingería gluten diariamente. En la figura 80 están reflejadas las transgresiones dietéticas realizadas por los familiares que inicialmente estaban asintomáticos durante la DSG.

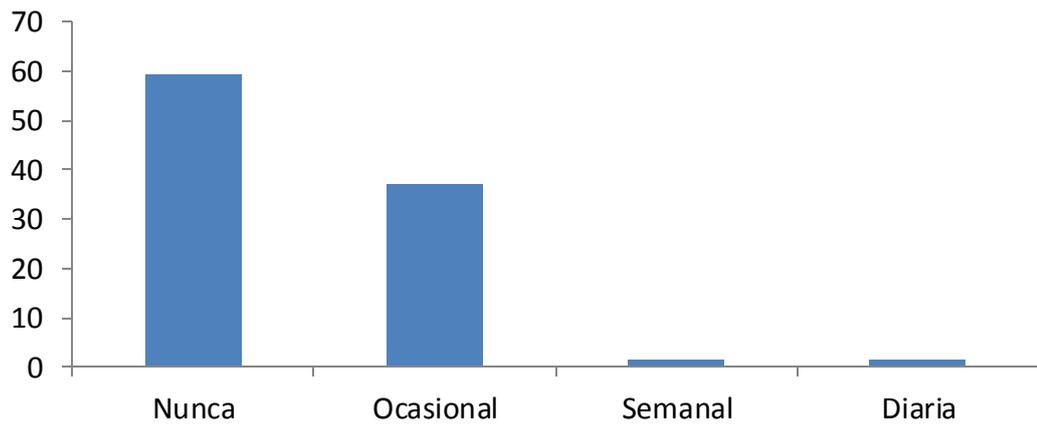


Figura 80. Transgresiones dietéticas durante la DSG en los familiares sin sintomatología previa.

Durante las diferentes fases de la modificación dietética la proporción de deposiciones de consistencia blanda era similar (69,5%-76,3%). Sin embargo, antes de comenzar el estudio presentaba un porcentaje ligeramente superior de deposiciones con aumento de la consistencia (caprinas + duras + fragmentadas de la clasificación de Bristol). Además tras la realización de sobrecarga de gluten los familiares tenían un incremento de las deposiciones con una consistencia disminuida (gelatina + mousses + líquidas de la clasificación de Bristol). Estos resultados están reflejados en la figura 81.

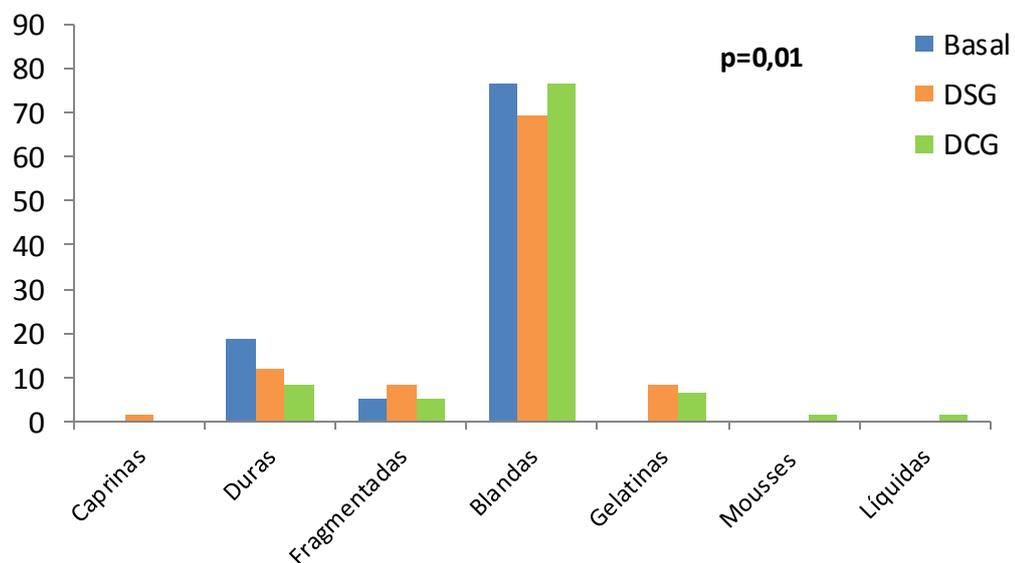


Figura 81. Consistencias de las deposiciones durante las diferentes fases de la modificación dietética según la clasificación de Bristol.

El número de deposiciones semanales tanto antes de comenzar en el estudio como durante el periodo de cumplimiento de la DSG era similar (7,8 vs 7,9 deposiciones semanales). Sin embargo, al igual que se había observado en el análisis de toda la muestra de sujetos, el número de deposiciones semanales aumentaba significativamente durante la realización de la sobrecarga de gluten. En la figura 82 están representados el número medio de deposiciones semanales durante las diferentes fases del intervencionismo dietético.

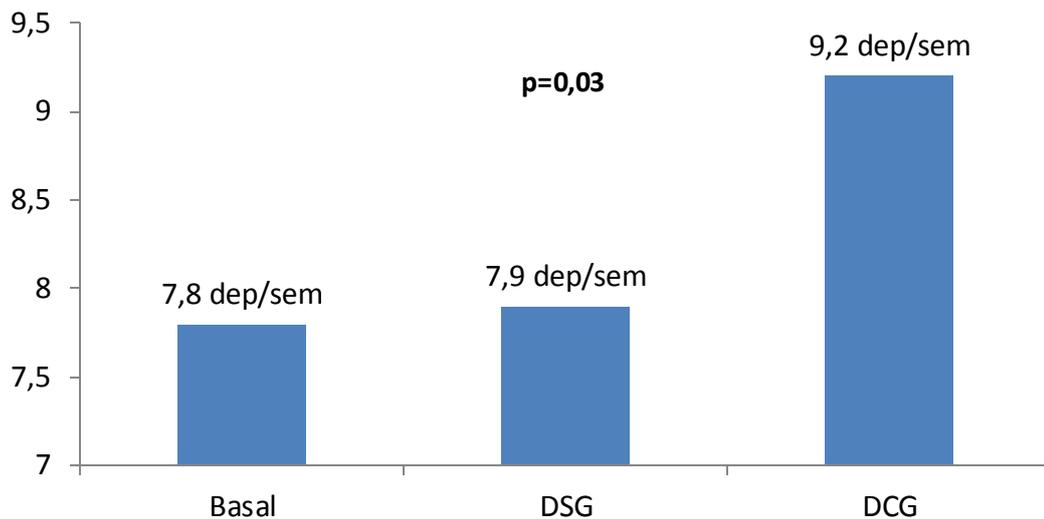


Figura 82. Número medio de deposiciones semanales durante la modificación dietética.

Mediante el cuestionario GSRS fue cuantificada la situación clínica de los participantes que inicialmente refirieron ausencia de sintomatología tras los distintos periodos de modificación dietética. Tras la DSG el 100% de los familiares presentaron síntomas leves (mejor estado de salud del cuestionario GSRS). Sin embargo, tanto en situación basal como tras la sobrecarga de gluten los síntomas estaban incrementados disminuyendo el porcentaje de familiares con síntomas leves (98,3% vs 96,6%). Esta relación, en el grupo de sujetos que inicialmente fueron clasificados como asintomáticos, no fue significativa (Figura 83).

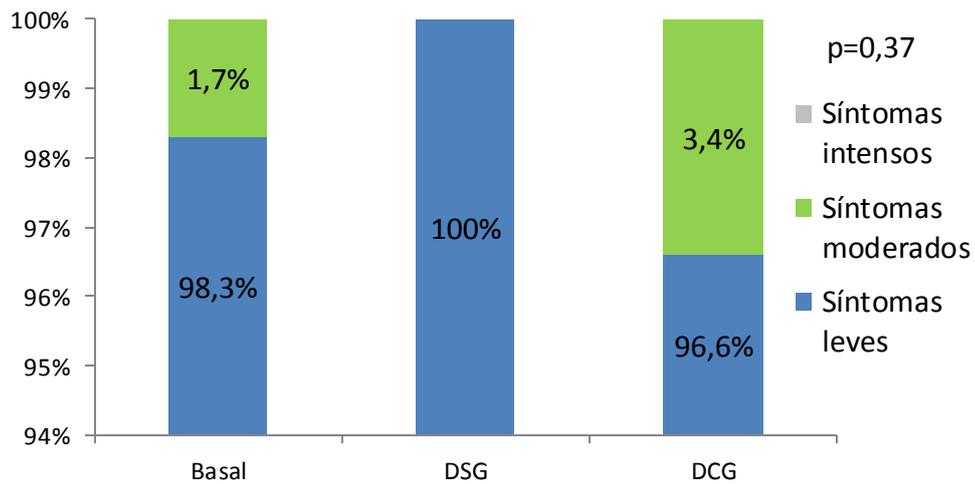


Figura 83. Resultados del cuestionario GRSR tras las diferentes fases dietéticas.

La utilización del cuestionario CSI, para objetivar la sintomatología existente y la respuesta clínica a las diferentes fases de la modificación dietética, permitió obtener resultados semejantes a los conseguidos con el anterior test. El 83,1% permaneció asintomático tanto en situación basal como con DSG. Sin embargo, tras la realización de sobrecarga de gluten el porcentaje de familiares asintomáticos descendió al 79,7%. En la figura 84 están descritos los resultados obtenidos en el cuestionario CSI en las diferentes fases de intervención dietética.

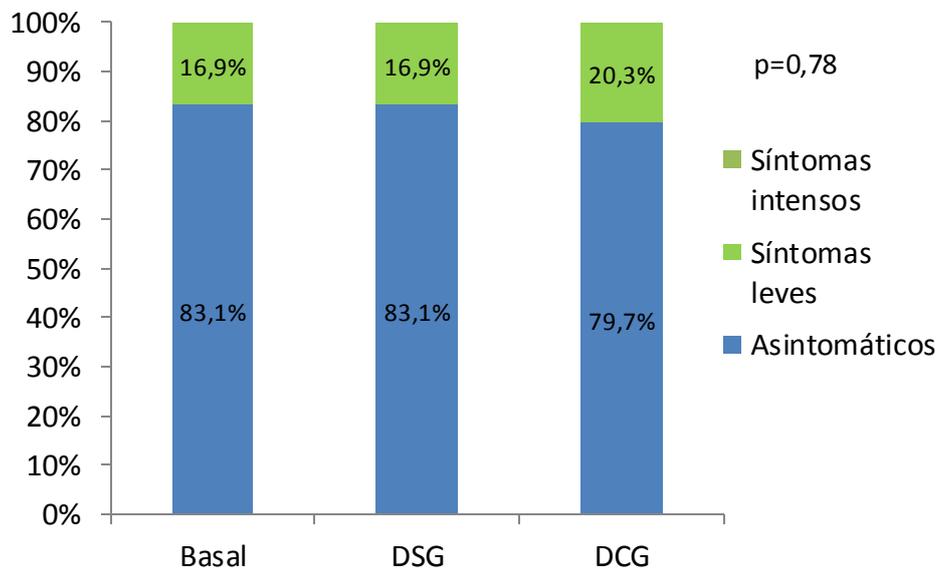


Figura 84. Resultados obtenidos con el cuestionario CSI en las diferentes fases dietéticas.

7.1.2 ANALISIS DEL GRUPO DE FAMILIARES SINTOMÁTICOS

Al comenzar el estudio 80 familiares tenían clínica asociada. Los principales síntomas que presentaban eran: 23 (28,8%) distensión abdominal, 21 (26,3%) estreñimiento, 19 (23,8%) diarrea y 8 (10%) dolor abdominal. Antes de comenzar el estudio 4 (5%) familiares cumplían una DSG. El resto de los participantes no tenían restricciones dietéticas. El cumplimiento de la DSG fue estricto en el 91,3% de los sujetos, mientras que en el 8,8% fue parcial. El 62,5% no cometió ninguna transgresión dietética y el 32,5% (26/80) las efectuó de manera ocasional. Tres familiares realizaban transgresiones semanales y uno diariamente. En la figura 85 están representadas las trasgresiones durante la DSG de los familiares con síntomas previos.

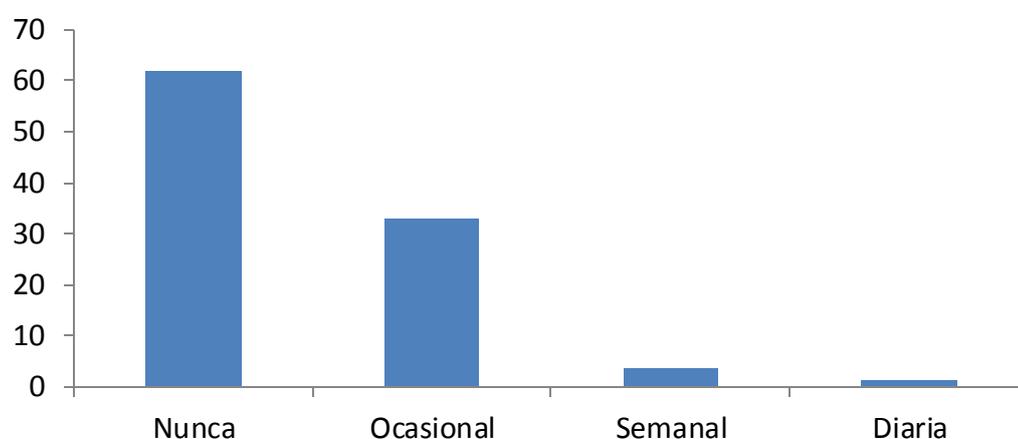


Figura 85. Transgresiones dietéticas de los familiares con clínica asociada durante la DSG.

La consistencia de las heces fue evaluada mediante la clasificación de Bristol. Durante la DSG la consistencia más frecuente era la blanda (67,5%). Sin embargo, inicialmente los familiares tenían un mayor porcentaje (40,1%) de heces con consistencia aumentada (caprinas + duras + fragmentadas). Además, en la sobrecarga de gluten se observó que una proporción elevada de familiares (27,6%) mostraban una disminución de la consistencia de las deposiciones (gelatinas + mousses + líquidas). Estos resultados están representados en la figura 86.

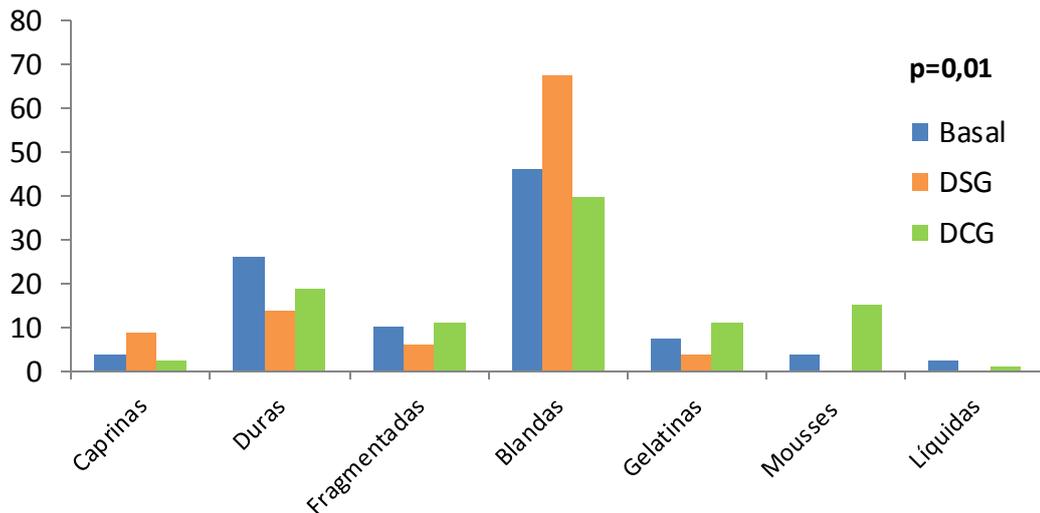


Figura 86. Consistencia de las deposiciones según la clasificación de Bristol durante las diferentes fases dietéticas.

El número medio de deposiciones semanales era significativamente menor durante la DSG (8 dep/sem) que inicialmente o tras la sobrecarga de gluten. Inicialmente el número de deposiciones a la semana era de 8,7 dep/sem, sin embargo en la fase con sobrecarga de gluten se observó un llamativo incremento de las deposiciones semanales (10,3 dep/sem). En la figura 87 puede observarse la variación del número de deposiciones semanales a lo largo de las distintas etapas del estudio, no obstante estos hallazgos aunque fueron significativos no tienen transcendencia clínica.

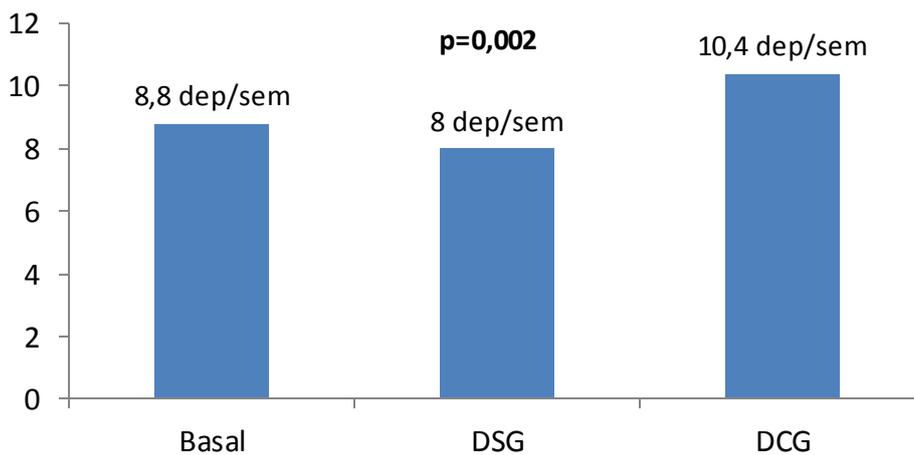


Figura 87. Modificación del número medio de deposiciones semanales según la dieta realizada.

Al evaluar la situación clínica mediante el cuestionario GSRS, se observó que durante la DSG había una menor proporción de síntomas importantes, que en situación basal o tras la

sobrecarga de gluten. De esta manera tras la restricción dietética se advirtió que el 95% tenían síntomas leves (mejor nivel de salud estratificado mediante el cuestionario GSRS). Al inicio del estudio o tras el incremento de gluten de la dieta fue percibida una mayor proporción de síntomas intensos, presentando síntomas leves el 86,3% y el 85% respectivamente. Los resultados obtenidos en este índice en las diferentes fases del estudio están descritos en la siguiente figura .

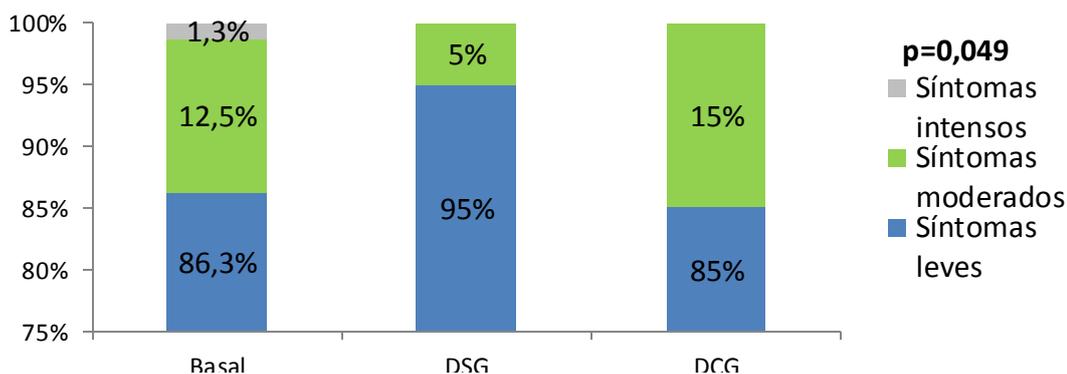


Figura 88. Resultados obtenidos en el cuestionario GSRS durante la modificación dietética.

Al utilizar el cuestionario CSI para evaluar la sintomatología existente en cada una de las fases de la modificación dietética, se observó un mejor estado de bienestar durante la DSG. En situación basal el 33,8% de los familiares refirió ausencia de sintomatología, no obstante tras la instauración de la DSG este porcentaje de sujetos asintomáticos era el doble. Al introducir la sobrecarga de gluten en la dieta los individuos mostraron un aumento de la clínica asociada. En la figura 89 puede estar representada la sintomatología que tenían los familiares durante la modificación dietética.

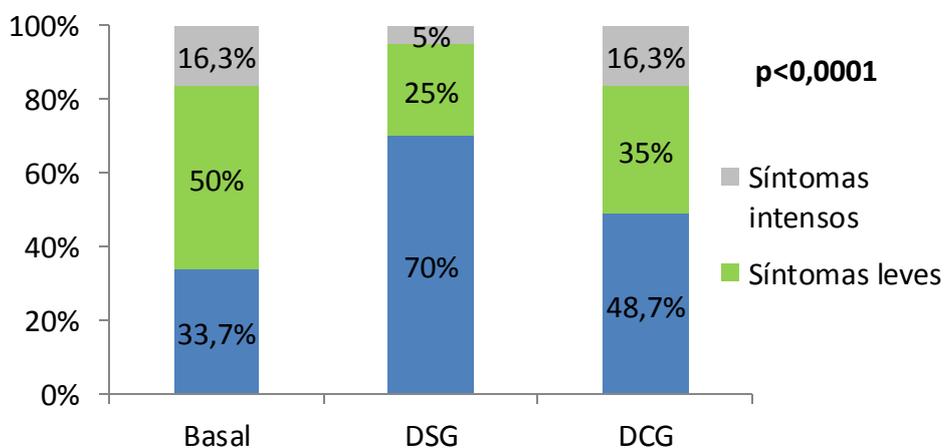


Figura 89. Modificaciones en los resultados obtenidos en el cuestionario CSI en las diferentes fases dietéticas.

7.2 EVALUACIÓN SEGÚN EL RIESGO GENÉTICO

7.2.1 ANALISIS DEL GRUPO DE FAMILIARES CON AUSENCIA DE RIESGO GENÉTICO

Veintinueve familiares carecían de riesgo genético para el desarrollo de la EC, es decir tenía un haplotipo HLA diferente a HLA DQ2/DQ8. Todos los sujetos con ausencia de un genotipado de riesgo seguían una dieta sin restricciones dietéticas. El 82,8% (24/29) de estos los participantes refirieron un cumplimiento estricto de la DSG, mientras que el resto realizaron la dieta de forma parcial. Hasta el 51,7% (15/29) de los familiares con genética negativa no efectuaron ninguna transgresión dietética durante la DSG y el 41,4% ingerían alimentos con gluten de forma ocasional. Un sujeto realizó transgresiones semanalmente y otro diariamente. Las transgresiones dietéticas realizadas durante la DSG en los familiares con ausencia de riesgo genético están representadas en la figura 90.

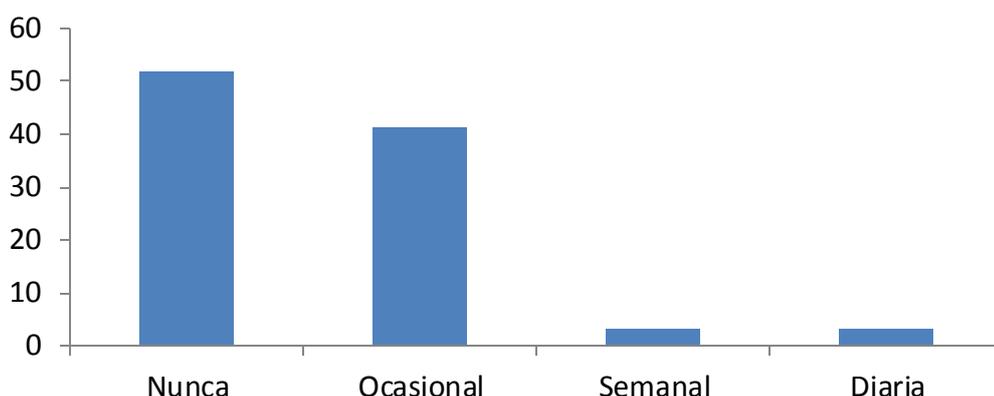


Figura 90. Transgresiones dietéticas realizadas por los familiares con ausencia de riesgo genético durante la dieta sin gluten.

La consistencia de las deposiciones, según la clasificación de Bristol, no presentaba significativas modificaciones a lo largo de las diferentes fases de la modificación dietética en los familiares sin riesgo genético. Sin embargo, durante la sobrecarga de gluten se incrementó las deposiciones con disminución de la consistencia (gelatinas + mousses + líquidas de la clasificación de Bristol). El 3,4% de estos sujetos presentaban heces de consistencia disminuida al inicio del proyecto. Durante la DSG el 6,4% tenían deposiciones con baja consistencia y al realizar la sobrecarga dietética este porcentaje ascendía hasta el 17,1%. Las características de las deposiciones a lo largo del proyecto están descritas en la figura 91.

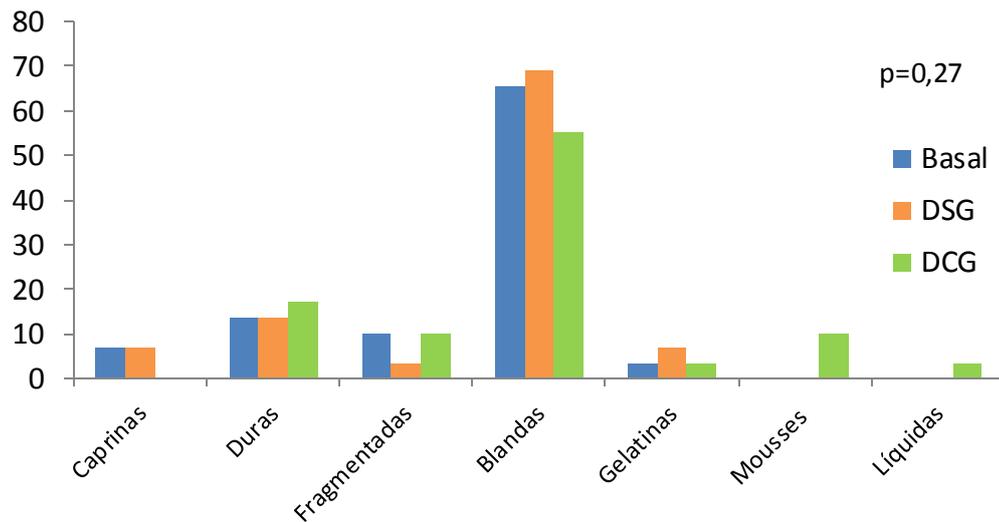


Figura 91. Consistencia de las deposiciones según la clasificación de Bristol en los familiares sin riesgo genético.

El número medio de deposiciones semanales durante la sobrecarga de gluten era significativamente superior a las otras fases, en los familiares con genética negativa. En situación basal y durante la DSG la media de deposiciones semanales era semejante (7,7 vs 7,5 deposiciones semanales). Sin embargo, tras el incremento de la ingesta de gluten aumentaba hasta 9,5 dep/sem. En la figura 92 puede observarse el número medio de deposiciones semanales durante las diferentes etapas dietéticas e igualmente a lo que sucede de forma global en el estudio no tiene una elevada transcendencia clínica.

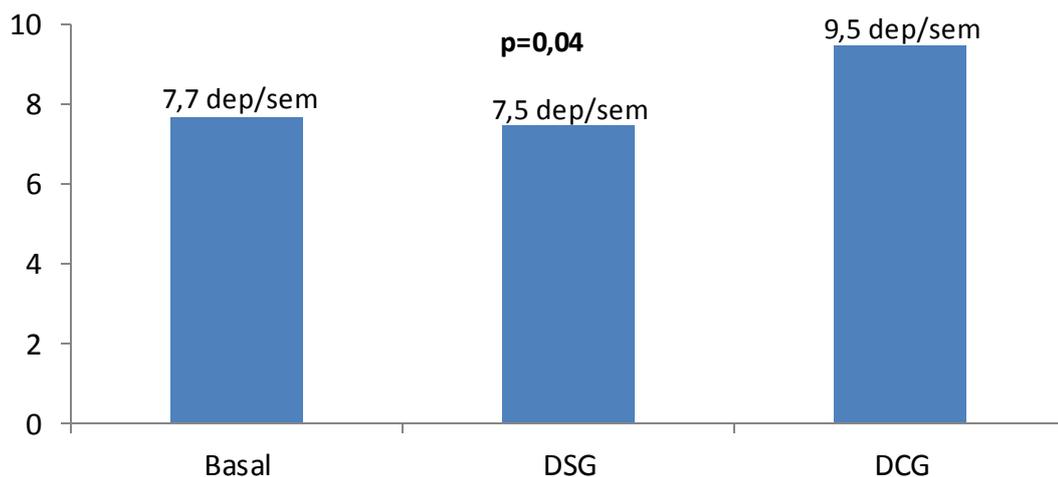


Figura 92. Número medio de deposiciones semanales en los familiares sin riesgo genético a lo largo del estudio.

En los participantes que carecían de riesgo genético, la clínica asociada fue evaluada mediante el cuestionario GSRS. Tal como observamos en la figura 93 los resultados obtenidos en las distintas etapas dietéticas prácticamente no se modificaban. El 93,1% de estos individuos tenían síntomas leves (mejor nivel de salud descrito por este cuestionario) en situación basal y también durante la fase de sobrecarga. En la fase de DSG el porcentaje de sujetos con síntomas leves era de 96,6%.

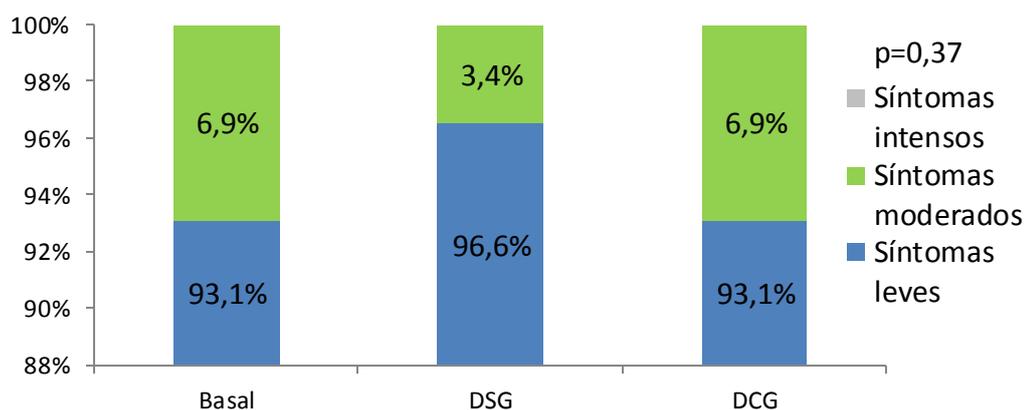


Figura 93. Resultados del cuestionario GSRS en los familiares sin riesgo genético durante la modificación dietética.

Las repercusiones clínicas del intervencionismo dietético fueron analizadas mediante el cuestionario CSI. Durante la realización de la DSG una mayor proporción de familiares sin componente genético estaban asintomáticos respecto a las otras fases como observamos en la figura 94. Inicialmente el 58,6% de estos individuos estaban asintomáticos. Tras la realización de la DSG este porcentaje aumentó hasta el 82,8%. Posteriormente al cumplimiento de la sobrecarga dietética el 69% de los sujetos permanecieron asintomáticos.

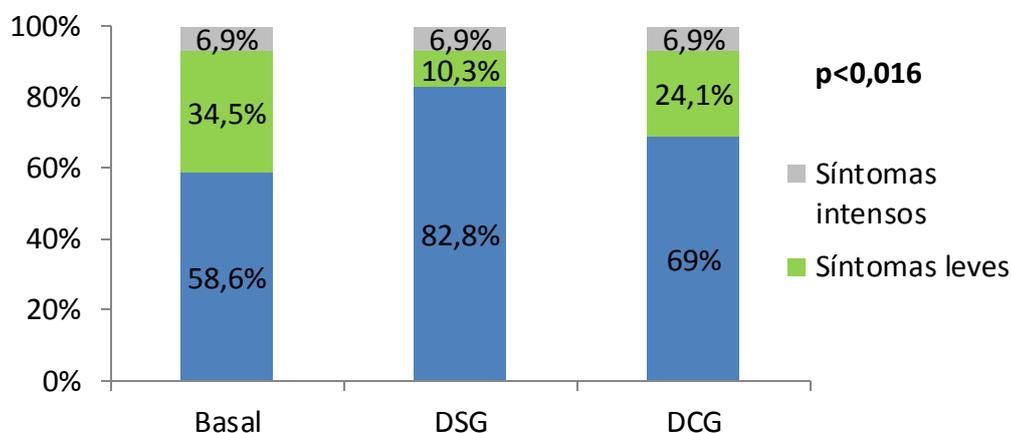


Figura 94. Valores obtenidos en el cuestionario CSI en los familiares sin genética de riesgo en las diferentes fases del estudio.

7.2.2 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS CON BAJO RIESGO GENÉTICO

Un riesgo genético bajo viene definido por la presencia de un único alelo del haplotipo HLA DQ2 o DQ8. En total 89 familiares eran heterocigotos para estos genotipos. El 4,5% (4/89) de estos participantes efectuaban una DSG antes de comenzar el estudio, mientras que el resto no tenían restricciones alimentarias. El 89,9% de los sujetos realizó la dieta de forma restrictiva y el 10,1% parcialmente. No realizaron transgresiones dietéticas el 67,4% (60/89) de los familiares, mientras que el 28,1% reconocieron cometer transgresiones ocasionales. Hasta 3 sujetos ingerían gluten semanalmente y otro diariamente. En la figura 95 pueden observarse las transgresiones dietéticas realizadas por los participantes con bajo riesgo genético.

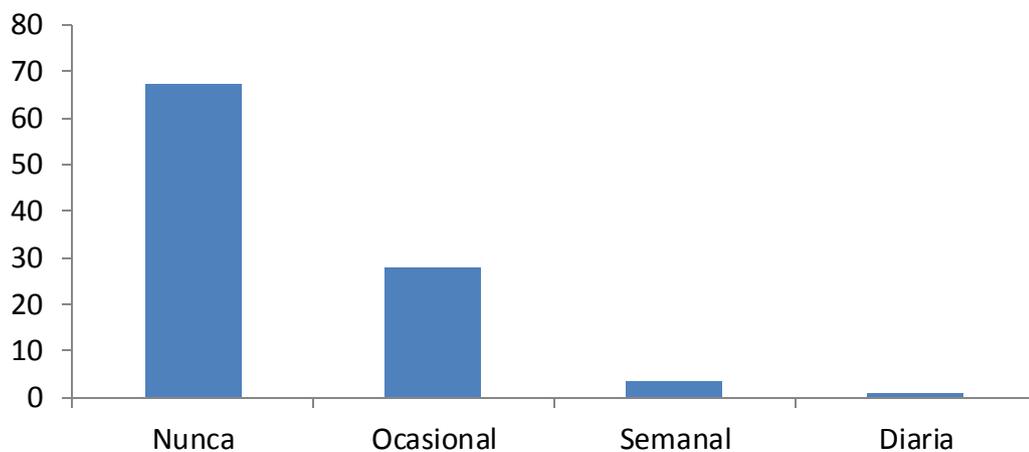


Figura 95. Transgresiones realizadas por los familiares con bajo riesgo genético durante la DSG.

El tipo de dieta modificaba la consistencia de las deposiciones, según la escala de Bristol, en los familiares heterocigotos para el haplotipo HLA DQ2/DQ8. Durante la DSG los participantes tenían un predominio de deposiciones blandas, sin embargo al inicio del estudio y con la sobrecarga de gluten mostraron una menor proporción de deposiciones blandas, debido a un incremento significativo de las deposiciones con una menor consistencia (gelatinas + mousses + líquidas). En la figura 96 se representan la consistencia de las deposiciones en las diferentes fases dietéticas del estudio en los participantes con bajo riesgo genético, según la clasificación de Bristol.

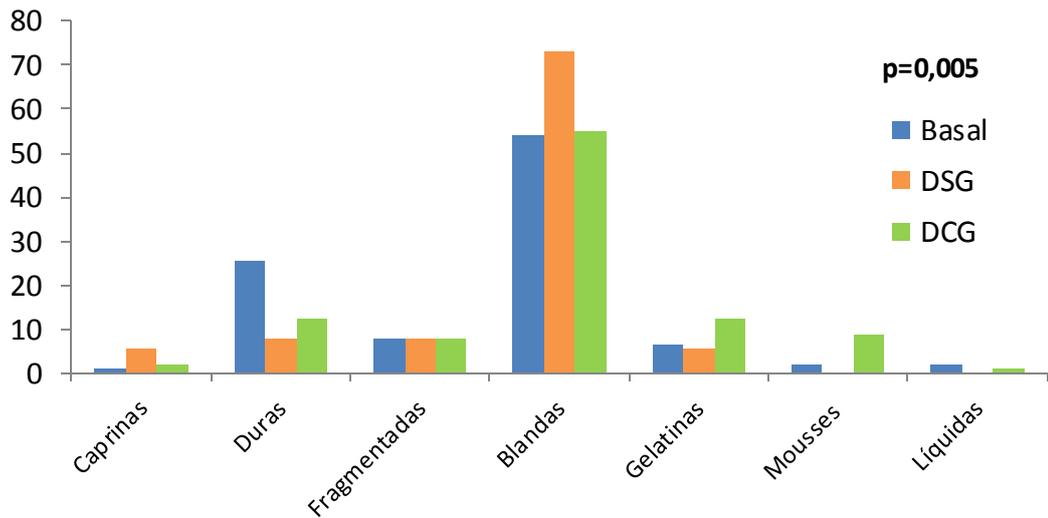


Figura 96. Influencia de la modificación dietética en las características de las deposiciones en los familiares heterocigotos.

El número de deposiciones semanales aumentó significativamente durante el cumplimiento de la dieta con exceso de gluten. Al comienzo de proyecto y durante la DSG el número medio de deposiciones semanales no presentó modificaciones (8,7 vs 8,4 deposiciones semanales). En el transcurso de la sobrecarga dietética los familiares tenían hasta más de 2 deposiciones semanales que en las otras fases dietéticas como puede observarse en la figura 97.

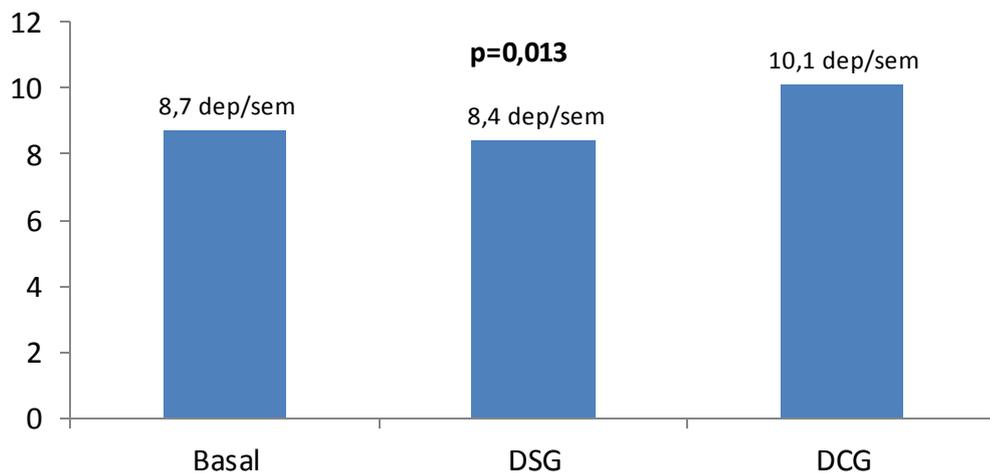


Figura 97. Número medio de deposiciones semanales en los familiares con bajo riesgo.

La respuesta clínica durante las diferentes fases del estudio fue evaluada mediante el cuestionario GSRS. Durante la DSG los participantes mostraron un mejor nivel de salud que al inicio del estudio o tras la sobrecarga dietética sin alcanzar significación estadística como

refleja la figura 98. De tal manera que durante la restricción de gluten el 96,6% de los sujetos heterocigotos refirió síntomas leves (mejor nivel de salud descrito por este cuestionario), sin embargo, al inicio del estudio este porcentaje era del 91% y tras la sobrecarga dietética descendió hasta el 89%.

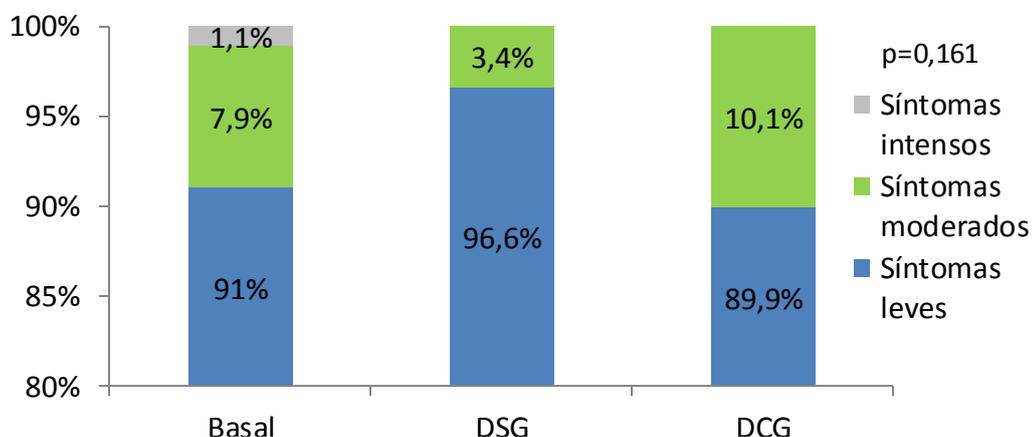


Figura 98. Resultados del cuestionario GSRS durante la modificación dietética en los familiares con bajo riesgo genético.

El análisis del estado clínico en los sujetos heterocigotos fue evaluado a través del cuestionario CSI. Los resultados de este índice demostraron que la proporción de familiares asintomáticos con DSG era un 25% superior que en las otras etapas del estudio. El 74,2% de familiares no reflejaron sintomatología en este cuestionario tras la DSG, sin embargo en situación basal y tras finalizar la sobrecarga dietética este porcentaje era muy inferior, 52,8% y 59,6% respectivamente. Los resultados obtenidos en cuestionario CSI en los participantes que tenían un bajo riesgo genético estén representados en la figura siguiente.

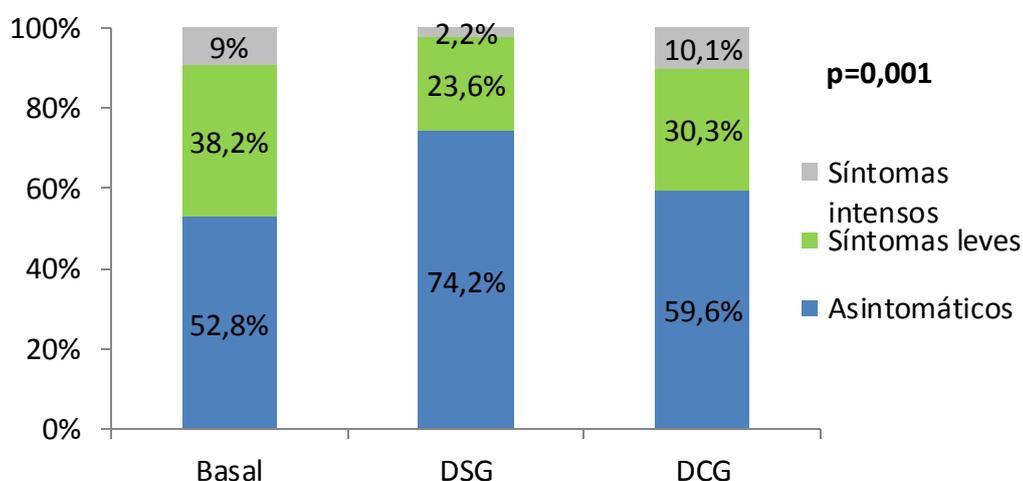


Figura 99. Evaluación mediante el cuestionario CSI de la respuesta clínica durante la modificación dietética en los familiares heterocigotos.

7.2.3 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS CON ALTO RIESGO GENÉTICO

El riesgo genético alto viene definido por la presencia de dos alelos del haplotipo de riesgo de la EC (HLA DQ2 o DQ8). Veintiuno familiares eran homocigotos para estos genotipos (o presentaban una copia de cada uno de ellos). Ningún familiar con una genética de riesgo elevado efectuaba una DSG antes de comenzar el estudio. El 90,5% (19/21) de estos participantes cumplieron la dieta de forma estricta, el resto (9,5%) reconoció cumplirla de forma parcial. El 52,4% (11/21) no cometieron ninguna transgresión dietética durante la DSG y el 47,6% efectuó transgresiones ocasionalmente.

Durante la DSG, las deposiciones de los individuos con genética de alto riesgo, presentaron mayor consistencia (según la clasificación de Bristol) que en las otras fases del experimento. Al comienzo del estudio las heces eran predominantemente blandas (71,4%). Al realizar la DSG el 47,6% de estos participantes presentaron un incremento de la consistencia de las heces (caprinas + duras + fragmentadas). Posteriormente, durante la sobrecarga de gluten, el 14,3% tenían deposiciones con consistencia disminuida (gelatinas + mousses + líquidas). Las características de las heces a lo largo de las diferentes variedades dietéticas están descritas en la figura 100.

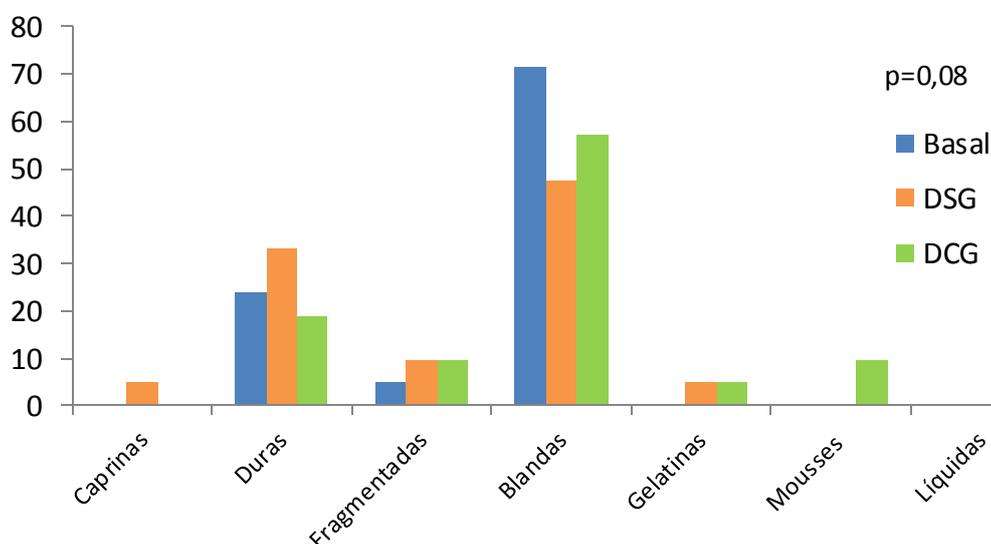


Figura 100. Características de las deposiciones en los familiares con alto riesgo genético durante la modificación de la dieta.

Durante la sobrecarga dietética, los familiares con un genotipado HLA de riesgo elevado para la EC, presentaron un incremento del número medio deposiciones semanales que en las otras fases como refleja la figura 101. Inicialmente estos individuos tenían 7,6 deposiciones a

la semana. Tras la instauración de la DSG el número de evacuaciones semanales era de 7,3. Al iniciar fase de sobrecarga dietética las defecaciones aumentaron a 9,1 dep/sem.

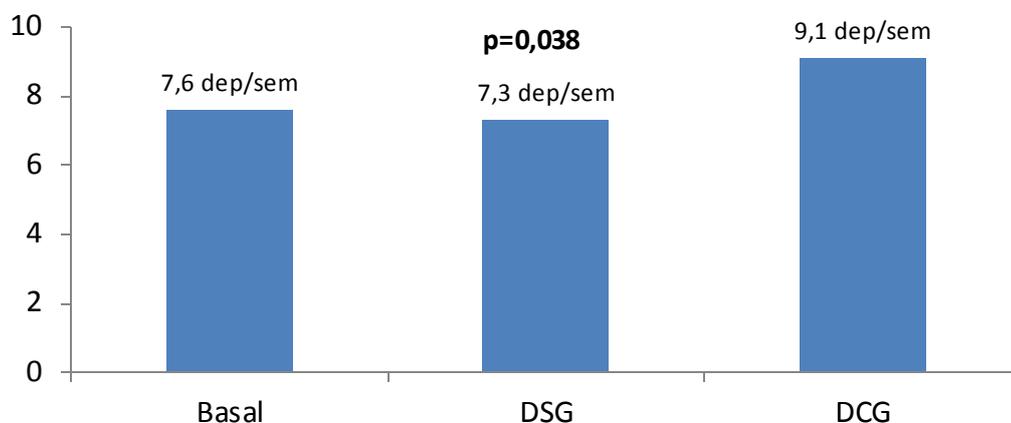


Figura 101. Número medio de deposiciones semanales a lo largo del estudio en los familiares con alto riesgo genético.

Según se incrementaba la ingesta de gluten, los familiares de alto riesgo presentaban mayor afectación sintomática, objetivada mediante el cuestionario GSRS. Tras la realización de DSG, el 100% de estos individuos presentó síntomas leves (mayor nivel de salud descrito en el cuestionario GSRS). En situación basal, el 90,5% (19/21) tenía síntomas leves. No obstante tras la sobrecarga de gluten este porcentaje descendía hasta el 85,7% tal como refleja la figura 102.

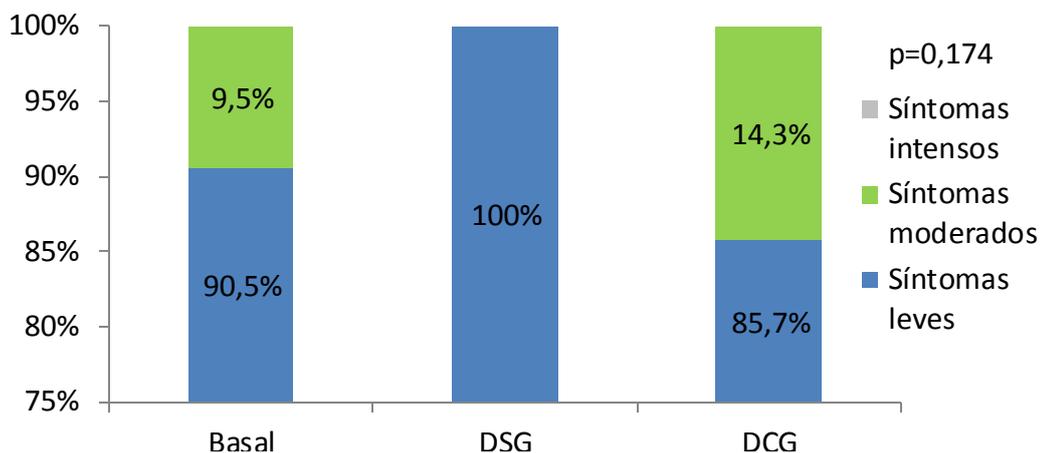


Figura 102. Respuesta clínica, evaluada mediante el cuestionario GSRS, a las diferentes fases de la modificación dietética en los familiares con alto riesgo genético.

De igual manera, al evaluar la respuesta clínica en las diferentes etapas dietéticas, se observa una menor proporción de síntomas durante la DSG, como refleja la figura 103. Al comienzo, el 57,1% de los familiares con alto riesgo permanecían asintomáticos. Tras la

realización de la DSG este porcentaje aumentaba hasta el 71,4%. Después de la sobrecarga de gluten el 61,9% de estos sujetos no presentaban clínica asociada.

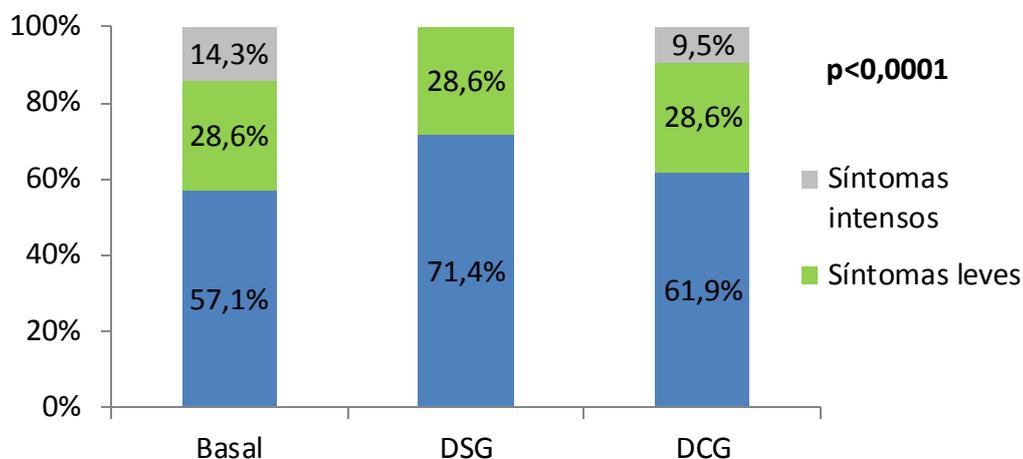


Figura 103. Resultados del cuestionario CSI en los familiares con alto riesgo genético durante la modificación dietética.

7.3 EVALUACIÓN SEGÚN LA HISTOLOGÍA

7.3.1 ANÁLISIS DEL GRUPO DE FAMILIARES CON AUSENCIA DE ALTERACIONES HISTOLÓGICAS

De los 139 sujetos que comenzaron el estudio, 113 (81,3%) realizaron la gastroscopia con toma de biopsias duodenales. No presentaron alteraciones anatomopatológicas en las muestras intestinales 71 (62,8%) de estos sujetos. Dos de los familiares que no presentaron alteraciones histológicas en las muestras intestinales, realizaban una DSG antes de iniciar del experimento. El resto (95,8%) no efectuaban restricciones dietéticas previas. Tras la DSG el 91,5% (65/71) de los participantes reconocieron realizar un cumplimiento estricto de la dieta, mientras que en el 8,5% fue parcial. El 64,8% de los individuos no realizó transgresiones durante la DSG, sin embargo el 32,4% las efectuaron ocasionalmente. Además un sujeto practicó transgresiones semanalmente y otro de forma diaria como representa la figura 104.

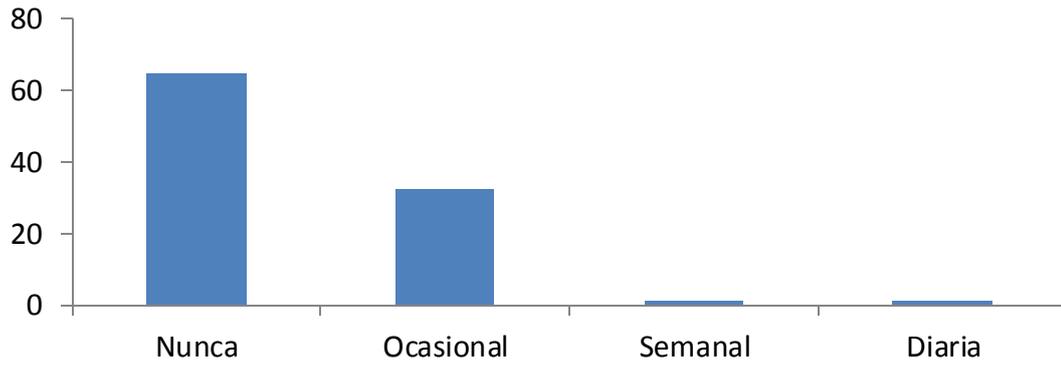


Figura 104. Transgresiones dietéticas efectuadas por los familiares sin alteraciones histológicas.

Durante la DSG, en los familiares sin alteraciones anatomopatológicas, las heces tenían consistencia principalmente blanda, sin embargo, al introducir el gluten en la dieta aumentaron las deposiciones tanto de mayor como de menor consistencia como tal como refleja la figura 105. En situación basal el 33,8% de estos sujetos presentaron una mayor consistencia de las heces (caprinas + duras + fragmentadas), sin embargo durante la DSG este porcentaje descendió al 22,5%. Posteriormente, en la sobrecarga de gluten, el 26,8% tuvieron heces de con incremento de la solidez, pero también se observó un aumento significativo de la proporción de deposiciones (25,4%) con menor textura (gelatinas + mousses + líquidas).

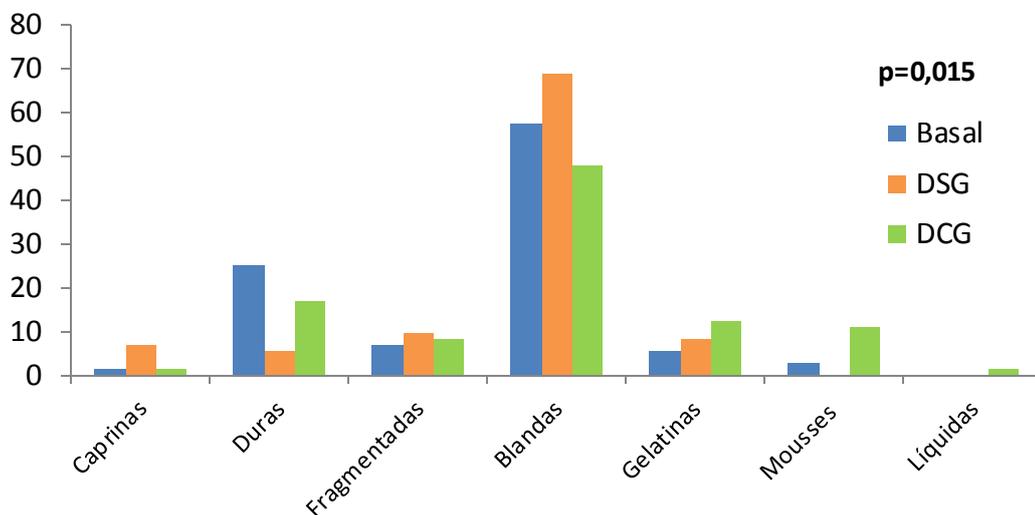


Figura 105. Características de las deposiciones durante la modificación dietética en los familiares sin alteraciones histológicas.

En los familiares sin alteraciones histológicas, el número medio de evacuaciones semanales durante la sobrecarga dietética aumentó significativamente respecto a las otras etapas del estudio. Inicialmente el número de deposiciones semanales era de 8,4. Durante la

DSG tenían similar número de evacuaciones a la semana (8,2 dep/sem), sin embargo, durante la sobrecarga de gluten se incrementó significativamente hasta 10 dep/sem, como demuestra la figura 106.

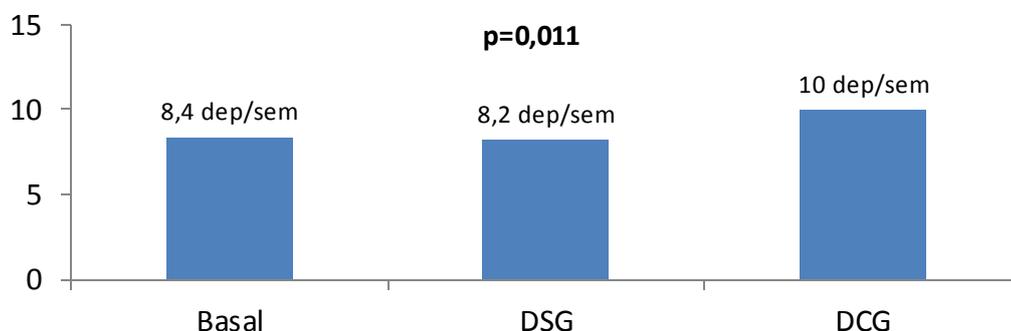


Figura 106. Número de deposiciones semanales en los familiares sin alteraciones anatomopatológicas.

En este grupo, mediante el cuestionario GSRS, se observó una mejor respuesta clínica durante el cumplimiento de la DSG que en los otros períodos, sin alcanzar significación estadística. En la fase de restricción dietética el 95,8% de estos sujetos presentaron síntomas leves (mayor nivel de salud descrito por este test), sin embargo inicialmente y tras la sobrecarga de gluten este porcentaje era del 88,7% y 87,3% respectivamente. Los resultados obtenidos en este índice están representados en la siguiente figura.

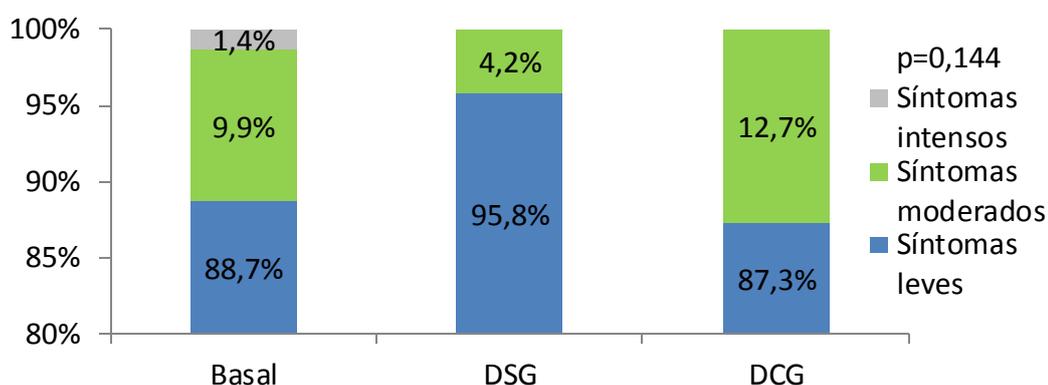


Figura 107. Resultados del cuestionario GSRS en los familiares sin alteraciones histológicas en las diferentes fases dietéticas.

Al evaluar el estado clínico mediante el cuestionario CSI, se demuestra una mayor proporción de participantes asintomáticos durante la DSG. Al comienzo del experimento el 45,1% de los sujetos sin alteraciones histológicas no tenían síntomas asociados. Tras la instauración de la DSG este porcentaje aumentó significativamente hasta el 67,6%, no

obstante tras iniciar la sobrecarga de gluten sólo el 54,9% permaneció asintomático. En la figura 108 están reproducidos los resultados obtenidos mediante el test CSI en este grupo seleccionado.

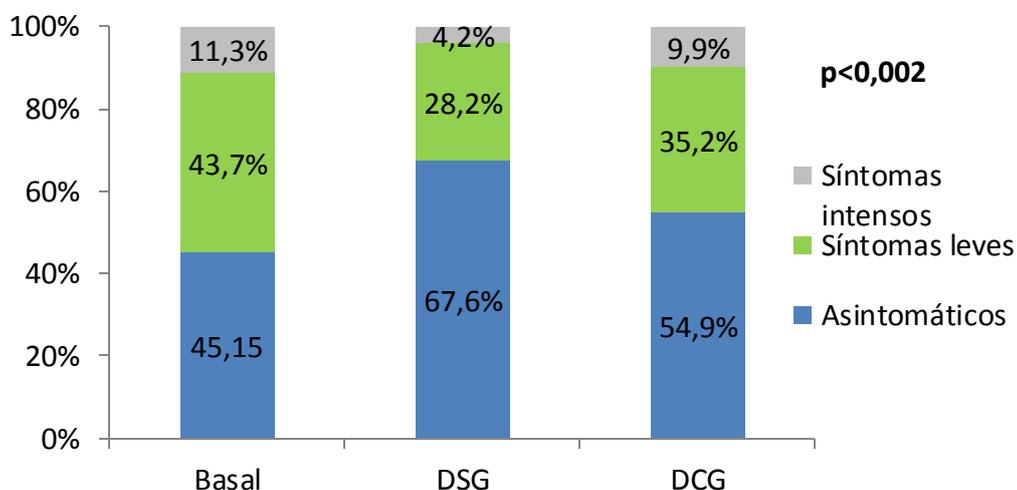


Figura 108. Variaciones clínicas, objetivadas mediante el cuestionario CSI, durante la modificación dietética, en los familiares que no tenían alteraciones histológicas.

7.3.2 ANÁLISIS DEL GRUPO DE SUJETOS CON PRESENCIA DE ALTERACIONES HISTOLÓGICAS

En total 113 familiares realizaron endoscopia digestiva alta (EDA) con toma de biopsias duodenales. De estos sujetos 42 tenían alteraciones histológicas: 37 Marsh I y 5 Marsh IIIA.

Dos de los participantes con anomalías en la biopsia, realizaban antes de iniciar el estudio DSG, el resto (40/42) no efectuaban ninguna limitación en la dieta. El 88,1% (37/42) cumplía la DSG estrictamente, en contraposición a 5 (11,9%) que realizaban la dieta parcialmente. El 54,8% no cometió ninguna transgresión dietética, mientras que el 40,5% la efectuaba ocasionalmente. Un familiar ingería gluten semanalmente y otro confesó hacerlo diariamente. En la figura 109 están representadas las transgresiones dietéticas cometidas por los individuos con alteraciones histológicas.

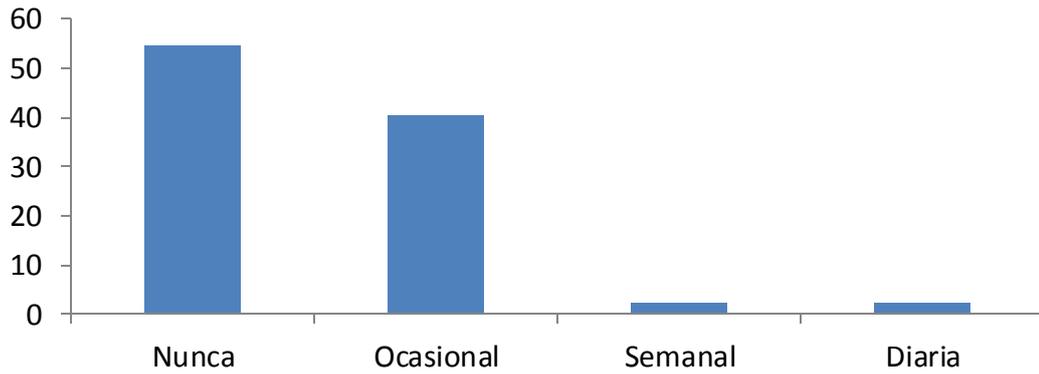


Figura 109. Transgresiones dietéticas de los familiares con alteraciones histológicas.

En los familiares con alteraciones histológicas, la incorporación de gluten en la dieta incrementaba las evacuaciones con una consistencia disminuida (gelatinas + mousses + líquidas de la clasificación de Bristol). Inicialmente, el 12% de estos sujetos tenían heces de menor solidez. Durante la DSG, el 2% de los familiares mostraron deposiciones de textura disminuida, sin embargo al realizar la sobrecarga de gluten, el 21,4% presentaron heces con estas características. La consistencia de las deposiciones en las diferentes fases del estudio está descrita en la figura 110.

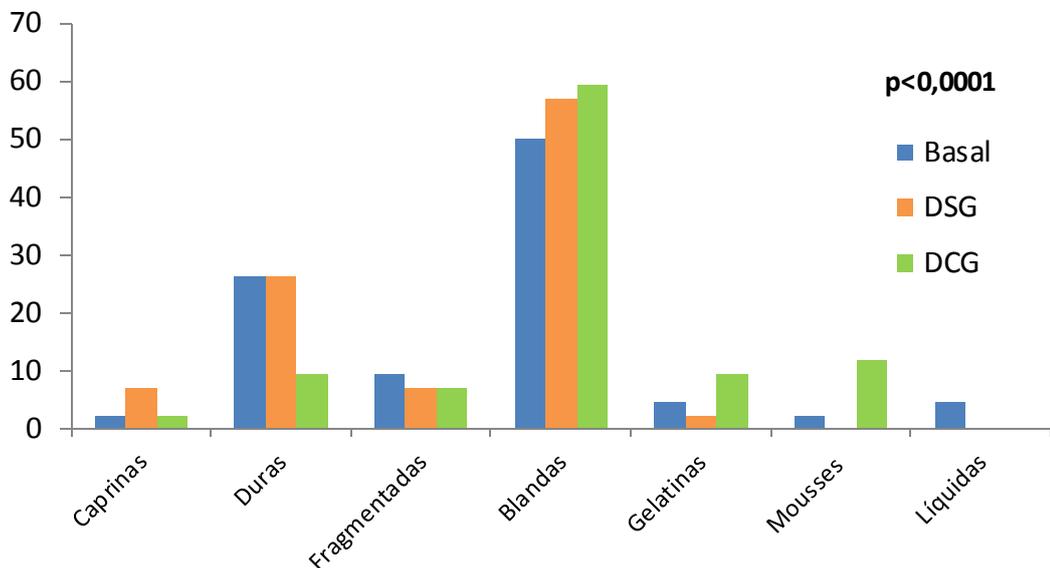


Figura 110. Variación en las características de las heces durante la modificación dietética en los participantes con alteraciones anatomopatológicas.

El número medio de evacuaciones semanales se incrementaba según aumentaba la cantidad de gluten ingerida, en los individuos con alteraciones histológicas. Al comienzo del proyecto, el número de deposiciones semanales era de 8,1 dep/sem. Tras comenzar la DSG

descendía hasta 7,2 dep/sem, pero al iniciar la fase de sobrecarga aumentaba llamativamente hasta 9,6 dep/sem. La figura 111 refleja el número defecaciones semanales de este subgrupo seleccionado.

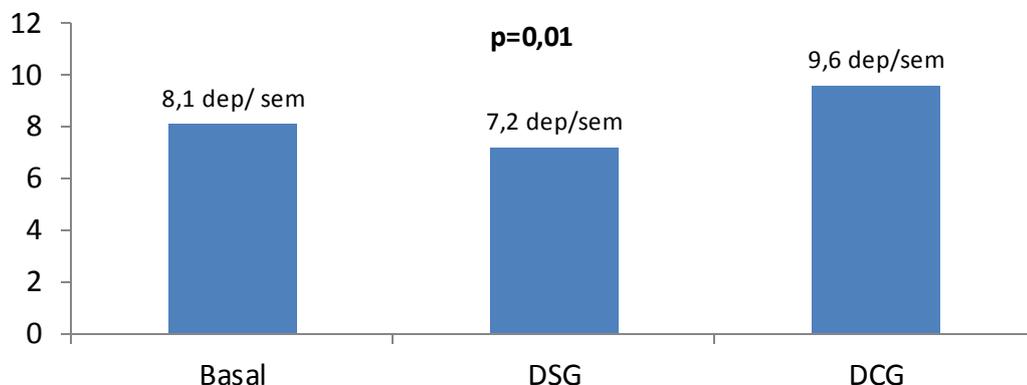


Figura 111. Cuantificación de las deposiciones semanales en los familiares con alteraciones histológicas.

Mediante el cuestionario GSRS se analizó la respuesta clínica a las diferentes modalidades dietéticas. Durante la DSG los familiares con alteraciones histológicas presentaron un mejor estado clínico que en las otras fases, como aparece representado en la figura 112. En situación basal y con la sobrecarga dietética, el 90,5% de estos individuos tenían síntomas leves (mejor estado clínico de salud definido por este test). No obstante, durante la DSG el 97,6% de los sujetos objetivaron a través del cuestionario GSRS síntomas leves.

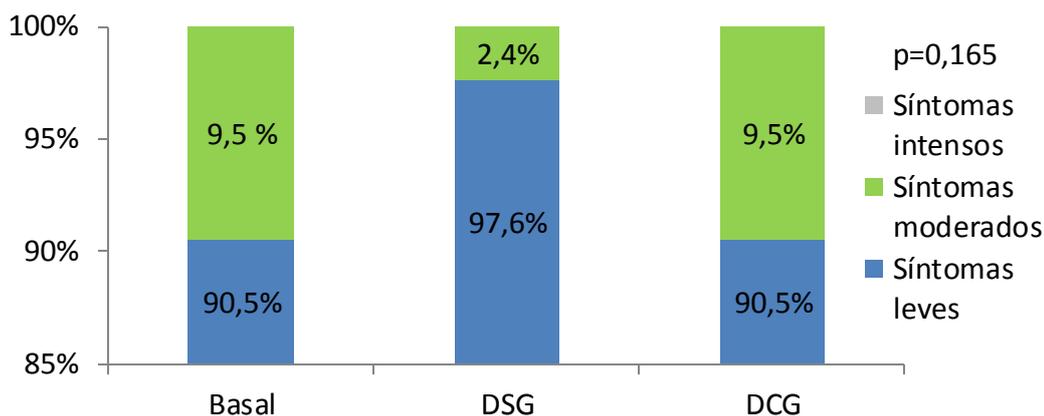


Figura 112. Resultados del test GSRS durante la modificación dietética en los participantes con alteraciones histológicas.

A través del cuestionario CSI, se observó una mejor respuesta clínica a la DSG que a las otras modalidades dietéticas, tal como refleja la figura 113. Inicialmente el 57,1% de los

sujetos con anomalías anatomopatológicas no presentaban síntomas asociados. Tras la DSG este porcentaje ascendió hasta el 78,6%, sin embargo al comenzar la sobrecarga de gluten sólo el 59,5% de estos individuos permaneció asintomático.

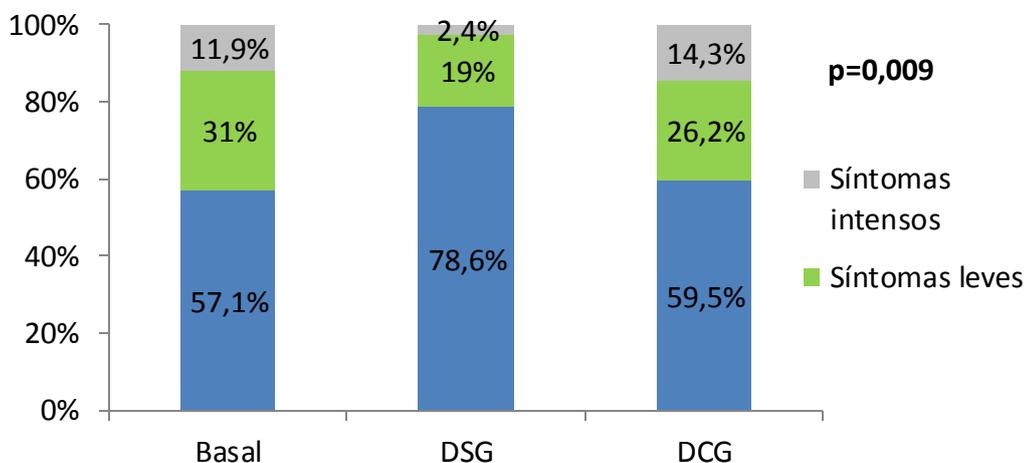


Figura 113. Impacto clínico de las diferentes modalidades dietéticas en los familiares con alteraciones microscópicas, evaluado mediante el cuestionario CSI.

7.4 DIFERENCIAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS TRAS REALIZACIÓN DE LA DSG

Tras el seguimiento estricto de la DSG, se observó una mejoría respecto a la situación basal cuantificada mediante los cuestionarios clínicos (GSRS y CSI). En este apartado está representada la diferencia en la puntuación de los diferentes cuestionarios anteriormente mencionados. Para calcular las diferencias entre las diferentes fases de la modificación dietética se restaba la puntuación obtenida en los diferentes cuestionarios en situación basal respecto a las detectadas tras la supresión dietética del gluten. A mayor diferencia entre las puntuaciones logradas en los cuestionarios clínicos, superior eficacia de la DSG para mejorar la sintomatología de los participantes.

Los familiares celíacos que tenían clínica asociada presentaron una mejor respuesta a la DSG que los sujetos asintomáticos. Tenían una mayor diferencia entre las puntuaciones obtenidas en situación basal y tras la realización de la DSG tanto en el cuestionario GSRS como sobretodo con el CSI como está representado en la figura 114.

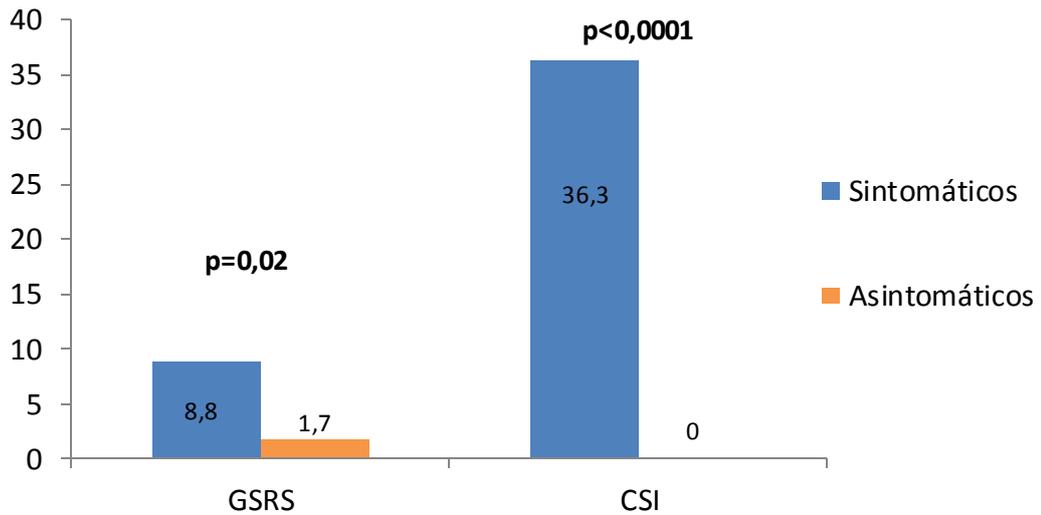


Figura 114. Diferencia en las puntuaciones de los cuestionarios GSRS y CSI tras la realización de la DSG entre los sujetos con síntomas y los asintomáticos.

Respecto a la mejoría clínica de los familiares según el riesgo genético, observamos que las diferencias entre los resultados obtenidos en el cuestionario GSRS basal y tras la DSG aumentan según se incrementa el riesgo genético, de manera que los sujetos homocigotos presentan mayores diferencias. Sin embargo, mediante el cuestionario CSI no observamos este fenómeno, si no que al contrario de lo esperado, los individuos sin componente genético obtienen mayores diferencias que los tienen un alto riesgo genético. Tal como demuestra la figura 115, estos resultados no fueron estadísticamente significativos.

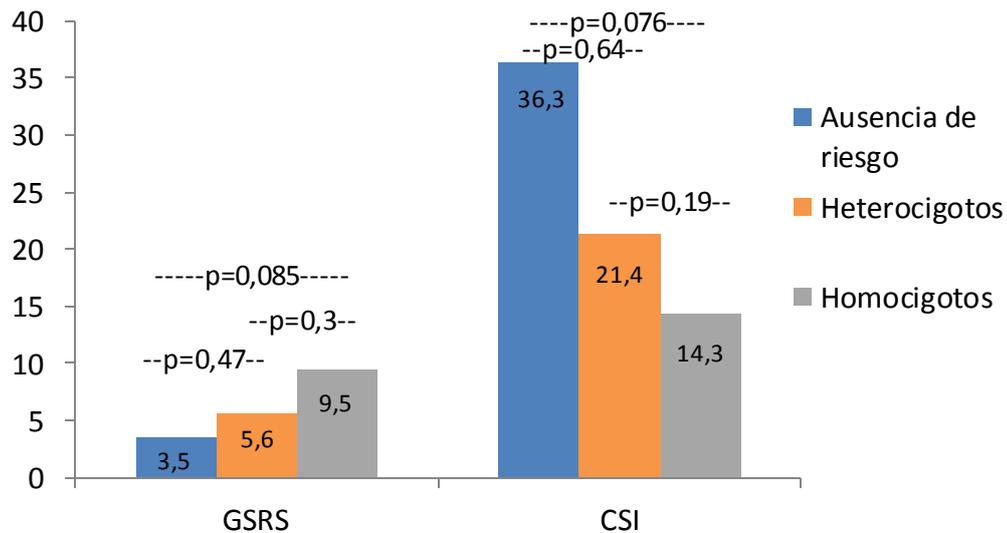


Figura 115. Mejoría clínica tras la DSG según el genotipado HLA evaluada mediante los cuestionarios clínicos (GSRS y CSI).

La mejoría de la sintomatología tras la DSG objetivada mediante los cuestionarios GSRS y CSI no presentaba relación con los hallazgos histológicos encontrados. En la figura 116 está representadas las diferencias obtenidas entre la situación basal y tras la restricción dietética en estos dos cuestionarios. Observamos como el alivio sintomático originado por la DSG era cuantitativamente igual entre los sujetos con y sin alteraciones histológicas duodenales.

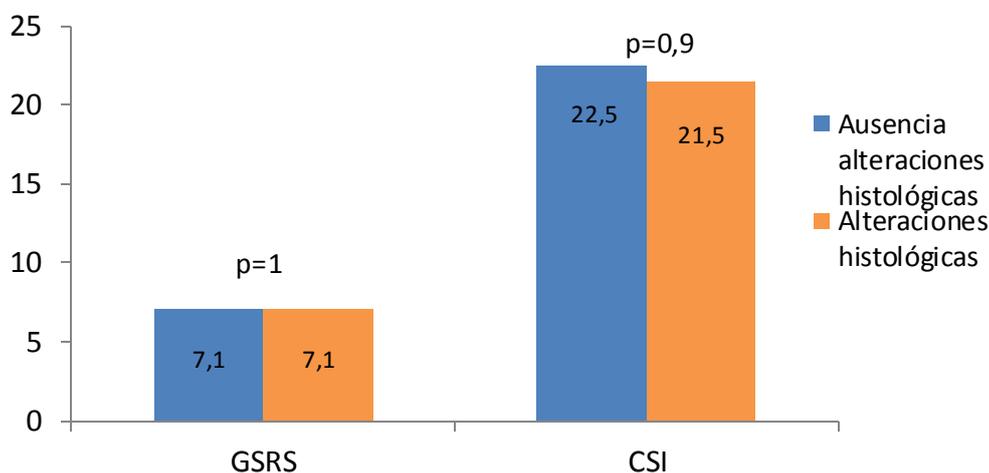


Figura 116. Influencia de la DSG en la sintomatología de los familiares de primer grado de los pacientes celíacos evaluadas mediante los cuestionarios GSRS y CSI según los hallazgos histológicos detectados.

7.5 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA A LA DSG MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE LOS CUESTIONARIOS CLÍNICOS

7.5.1 CSI

El efecto a la DSG fue evaluado utilizando el cuestionario CSI. Se comparó el resultado obtenido en este test clínico en situación basal y tras la finalización de la restricción de gluten en la dieta. Se consideró una respuesta superior al 20% cuando la puntuación obtenida en el cuestionario tras la DSG era un 20% inferior a la alcanzada en situación basal. El 26,6% (37/139) de los familiares presentaron una respuesta clínica a la DSG superior al 20% objetivada a través del test CSI tal como representa la figura 117.

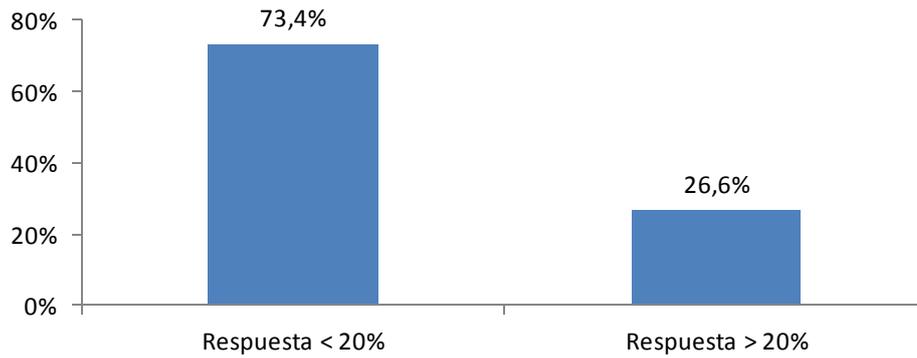


Figura 117. Proporción de familiares que presentaron una respuesta a la DSG superior al 20%, determinada mediante el cuestionario CSI.

La proporción de mujeres que tenían una puntuación en el cuestionario CSI un 20% inferior tras la DSG respecto a la situación basal era el doble que la proporción de varones. El 34,7% de las mujeres reflejaron una respuesta mayor al 20%, mientras que en los hombres este porcentaje descendió al 17,2%, como está representado en la figura 118.

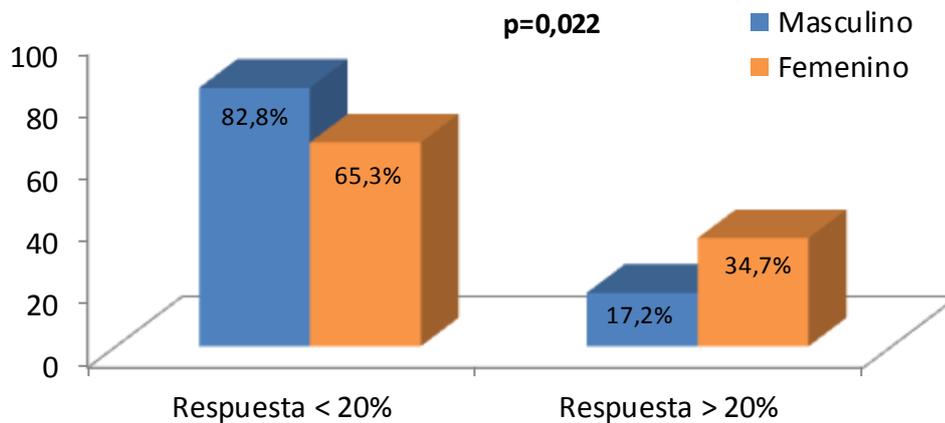


Figura 118. Diferencias en cuanto al sexo de la respuesta superior al 20% en el cuestionario CSI.

La presencia de una enfermedad de origen autoinmune (EAI) no modificaba la respuesta obtenida en el score clínico CSI. El 21,2% de los individuos con una EAI mostraron una puntuación en el cuestionario CSI tras la realización de DSG un 20% inferior a la obtenida basalmente, en contraposición al 28,3% de los familiares que no tenían una EAI. La influencia de las EAI sobre la respuesta a la DSG puede observarse en la figura 119.

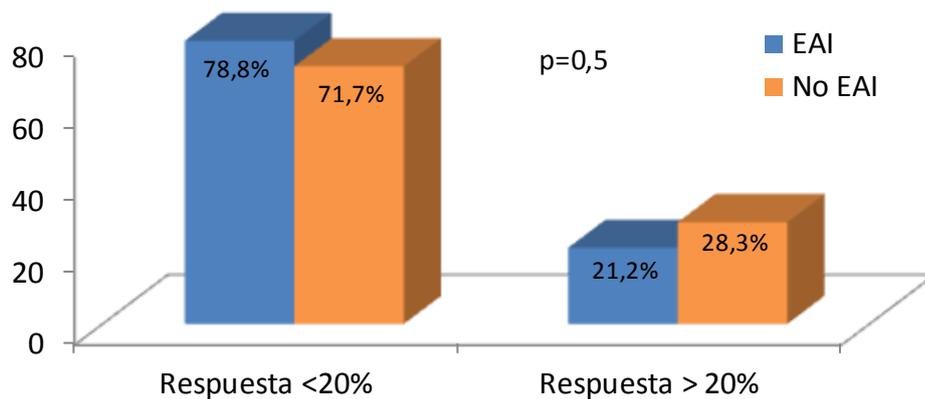


Figura 119. Modificación de la respuesta a la DSG (dieta sin gluten) según la presencia de EAI (enfermedades autoinmunes).

Una mejor respuesta clínica a la DSG, evaluada mediante el cuestionario CSI se asoció con una menor edad de los participantes. De tal manera que los individuos con una puntuación en el CSI al finalizar la DSG un 20% inferior a los valores basales, tenían una edad media de 39 años. Aunque la edad de los familiares que tuvieron una peor respuesta a la DSG era de 43,2 años. Tal como refleja la figura 120 estos resultados alcanzaron significación estadística.

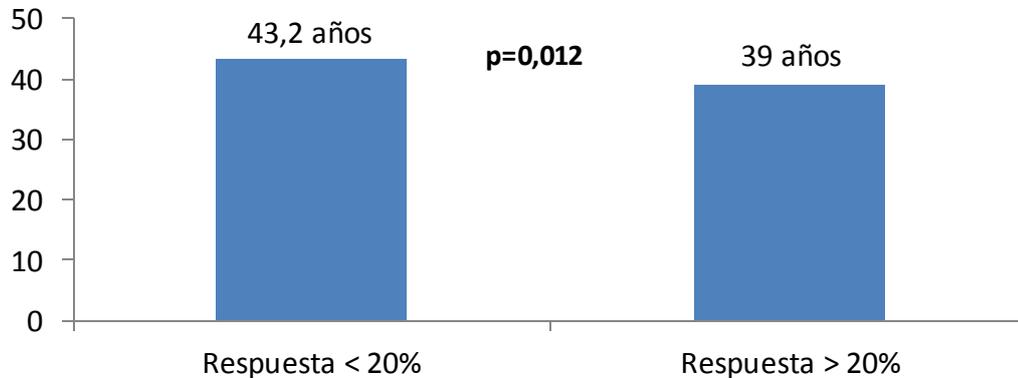


Figura 120. Influencia de la edad en la respuesta a la DSG, evaluada mediante el cuestionario CSI.

El HP no modificó el resultado test CSI tras la retirada del gluten de la dieta. El 29,7% de los familiares con HP en las biopsias gástricas, presentó una respuesta clínica cuantificada mediante el cuestionario CSI superior al 20% respecto al estado basal. No obstante, el 35,6% de los individuos sin presencia de formas bacilares presentaron una mejoría mayor del 20%. En la figura 121 está representada esta relación y la ausencia significación estadística.

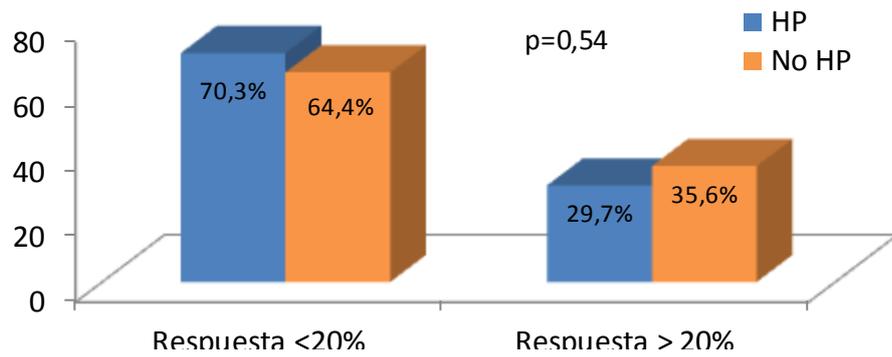


Figura 121. Evaluación a la DSG mediante el CSI según la presencia del HP (*Helicobacter pylori*).

La respuesta a la restricción dietética del gluten fue independiente de los hallazgos endoscópicos observados. El 32,6% de los sujetos que presentaron alteraciones endoscópicas, mostraron una recuperación clínica tras la DSG superior al 20%, objetivada mediante el test CSI. Sin embargo, como observamos en la tabla 15, el 30% de los familiares con ausencia de lesiones en la EDA, mostró una óptima respuesta a la DSG.

	ANOMALÍAS EN EDA	SIN ANOMALÍAS EN EDA	VALOR P
RESPUESTA SUPERIOR AL 20%	2,6%	30,0%	0,84
RESPUESTA INFERIOR AL 20%	67,4%	70,0%	

Tabla 15. Mejoría sintomática evidenciada a través del cuestionario CSI según la detección de lesiones en la EDA (endoscopia digestiva alta).

Tampoco las lesiones histológicas observadas modificaban la respuesta tras la intervención dietética. El 33,3% de los familiares que tenían lesiones histológicas evidenció valores en el cuestionario CSI tras la DSG, un 20% inferior a las puntuaciones iniciales. No obstante, el 29,6% de los sujetos que no presentaban anomalías anatomopatológicas mostraron una respuesta clínica adecuada. En la figura 122 se observa la ausencia de asociación estadística entre ambas variables.

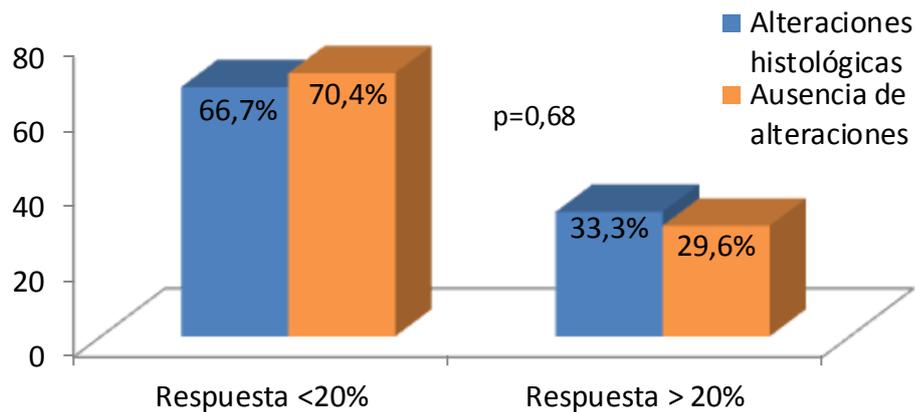


Figura 122. Modificación de la respuesta a la DSG según los hallazgos histológico detectados.

El número medio de deposiciones semanales era ligeramente superior en los familiares que presentaron una mejoría clínica superior al 20% objetivada mediante el cuestionario CSI. Los participantes que mostraron una respuesta a la DSG mayor al 20% tenían 9,4 deposiciones/sem antes de iniciar las diferentes fases de la modificación dietética. Sin embargo, el número de deposiciones en los sujetos que no mostraron una buena respuesta clínica fue de 7,9 dep/sem. Estos resultados están representados en la figura 123.

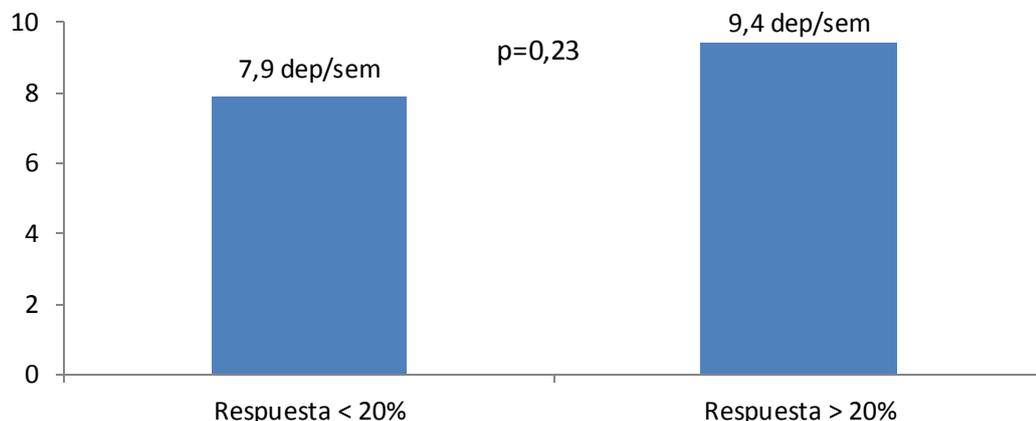


Figura 123. Número medio de deposiciones semanales según el grado de respuesta a la DSG.

Los participantes que mostraron una mejoría a la DSG evidenciaron inicialmente un aumento de las deposiciones con consistencia disminuida (gelatina, mousse, líquida de la clasificación de Bristol). El 21,4% de los individuos con puntuaciones en el CSI al finalizar la restricción dietética un 20% inferior de la situación basal, tenían una disminución de la textura.

Mientras que en los sujetos que no respondieron a la DSG sólo el 3% presentó una disminución de la consistencia tal como refleja la figura 124.

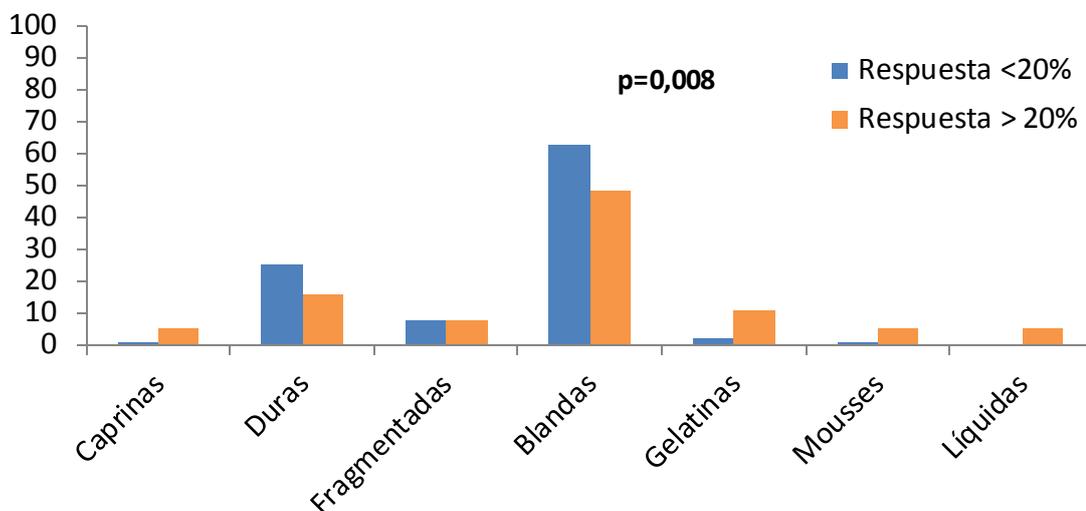


Figura 124. Consistencia de las deposiciones iniciales según el grado de respuesta a la DSG (dieta sin gluten).

El genotipado HLA no influía en la respuesta clínica a la DSG evaluada mediante el cuestionario CSI. El 13,5% de los familiares con una genética de alto riesgo (homocigoto para el genotipado HLA DQ2/8), presentó un descenso en la puntuación del cuestionario CSI tras la realización de la DSG superior al 20%, respecto a la situación basal. Sin embargo, los sujetos heterocigotos para el haplotipo HLA DQ2/8, que presentaban una respuesta clínica superior al 20%, fueron del 73%. Los individuos que carecían de carga genética de riesgo mostraron tasas de respuesta a la DSG del 13,5%. Estos resultados están descritos en la figura 125.

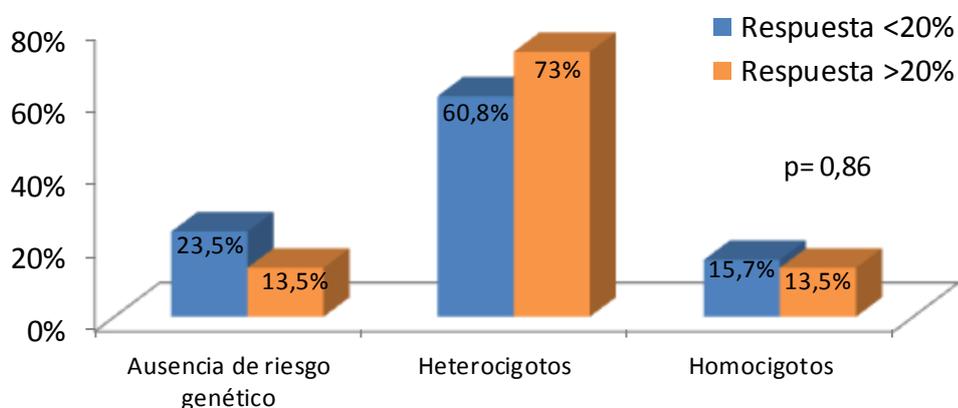


Figura 125. Influencia de la carga genética sobre la respuesta a la DSG, según el cuestionario CSI.

Los individuos que tenían alteraciones histológicas y una genética de riesgo para la EC presentaron una mayor tasa de respuesta a la restricción dietética superior al 20%. El 10,8% de los participantes con alteraciones anatomopatológicas y de una carga genética de riesgo presentaron una respuesta a la DSG superior al 20%. En contraposición, el 5,9% de individuos con alteraciones genéticas e histológicas no respondían a la restricción dietética de gluten. Sin embargo, tal como está representado en la figura 126 estos resultados no adquirieron significación estadística.

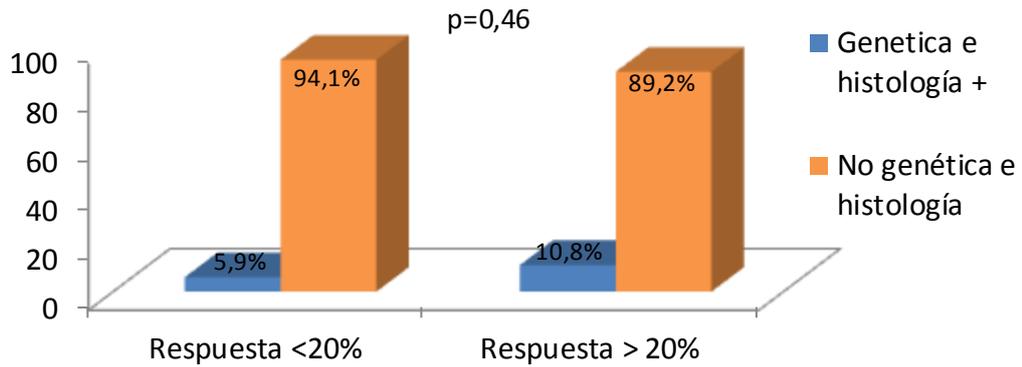


Figura 126. Modificación de la respuesta a la DSG en los familiares que presentaban una genética de riesgo y alteraciones histológicas evaluada mediante el cuestionario CSI.

Los familiares con una respuesta a la DSG mayor del 20%, determinada mediante el cuestionario CSI mostraban un título de anticuerpos antigliadina y antitransglutaminasa basales inferior que aquellos que no respondieron a la dieta. No obstante, tal como se demuestra en la figura 127, solo en los anticuerpos Antigliadina Ig A se demostró asociación estadísticamente significativa.

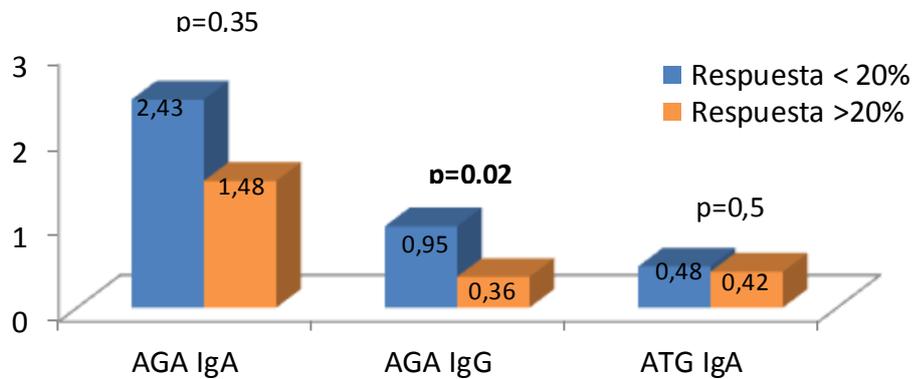


Figura 127. Serología celíaca al inicio del estudio según la respuesta a la DSG evaluada mediante el test CSI.

7.5.2 GSRS

El cuestionario GSRS también se utilizó para evaluar la respuesta clínica a la DSG. Se consideró que los familiares presentaban una respuesta mayor al 20% cuando la puntuación en el test GSRS tras la realización de la DSG era un 20% inferior al valor obtenido en este cuestionario al inicio del estudio. Tal como refleja la figura 128, el 51,8% de los participantes tenía una respuesta clínica superior al 20% evidenciada a través de este cuestionario, mientras que el 48,2% no evidenció mejoría clínica.

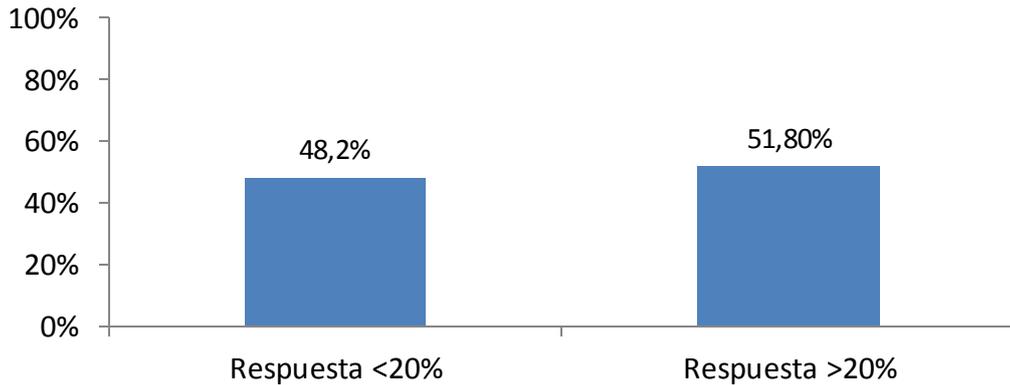


Figura 128. Porcentaje de familiares que mostraron una respuesta clínica superior al 20%, según el cuestionario GSRS.

El sexo de los individuos no modificó la respuesta clínica a la DSG evaluada a través del cuestionario GSRS. De manera que el 51,6% de los varones evidenciaron una respuesta clínica superior al 20%, mientras que la tasa de respuesta en mujeres fue muy similar (52%), como puede observarse en la figura 129.

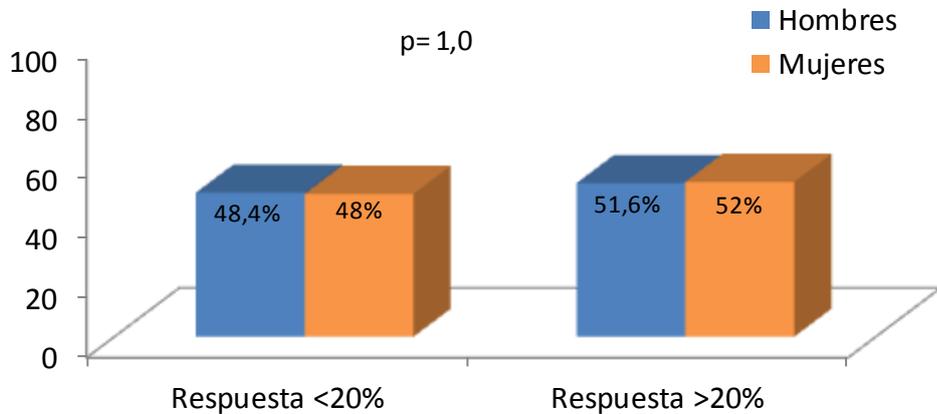


Figura 129. Influencia del sexo en la respuesta clínica a la DSG, según el cuestionario GSRS.

Los individuos con EAI (enfermedades autoinmunes), mostraron una respuesta a la DSG superior. El 66,7% de los sujetos que refirieron tener una EAI asociada evidenciaron puntuaciones en el test GSRS, al finalizar la restricción dietética, un 20% inferiores a la obtenida inicialmente. Sin embargo, en ausencia de patología de origen autoinmune el 47,2% presentó una respuesta clínica mayor al 20%, tal como representa la figura 130.

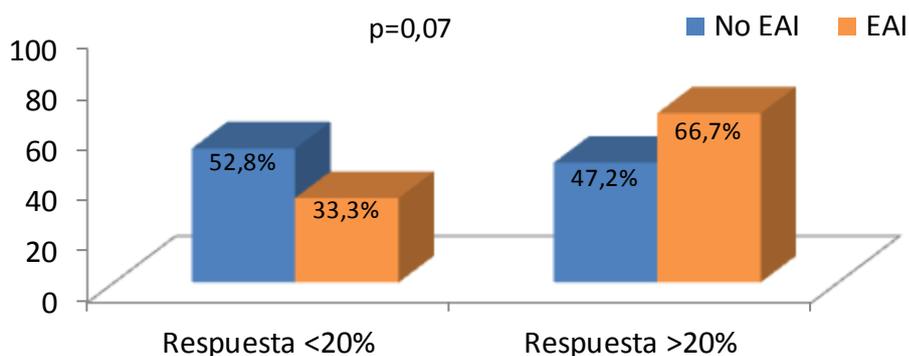


Figura 130. Diferencias clínicas a la DSG (dieta sin gluten) según la presencia de EAI (enfermedades autoinmunes).

La mejoría clínica evidenciada tras la finalización de la DSG fue independiente de la edad de los familiares, como puede observarse en la figura 131. En los individuos que mostraron una respuesta clínica superior al 20%, a través del score GSRS, la edad media fue de 42,2 años. Mientras que la edad media en aquellos que no presentaron respuesta clínica fue de 41,9 años.

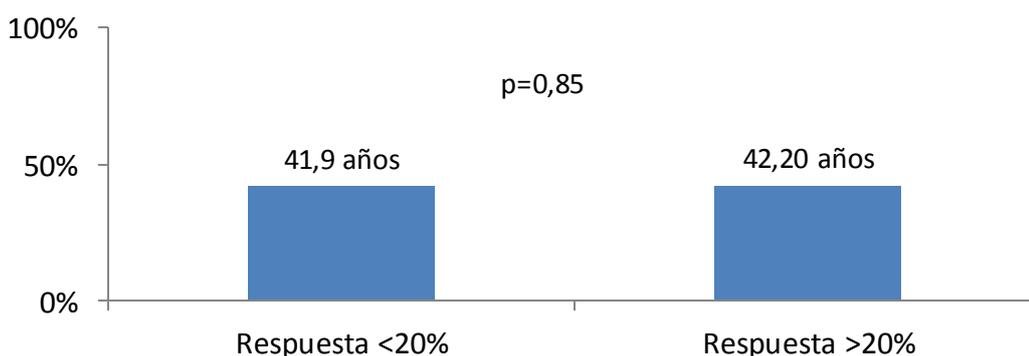


Figura 131. Influencia de la edad en la respuesta a la DSG, evaluada a través del cuestionario GSRS.

Los familiares en los que se detectó el HP en la biopsia gástrica, presentaron peor respuesta clínica a la DSG, sin lograr alcanzar significación estadística. El 53,1% de los afectados por el HP, tenían puntuaciones en el índice GSRS al finalizar la DSG un 20% inferior a los valores

obtenidos en situación basal. Sin embargo, en ausencia de formas bacilares, el 64,4% de los participantes presentó una respuesta a la DSG evaluada a través del cuestionario GSRS. En la figura 132 está representados los resultados obtenidos.

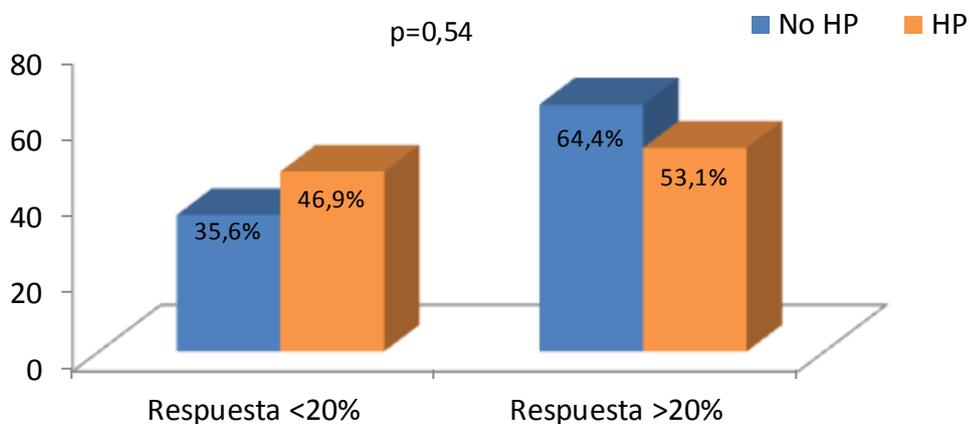


Figura 132. Modificaciones clínicas ocasionadas por la presencias de HP (*Helicobacter pylori*), según el GSRS.

Mediante la utilización del test GSRS, puede observarse una mayor disminución superior al 20% de los valores obtenidos en este cuestionario tras la DSG respecto a la situación basal, en los familiares que presentaban alteraciones en la EDA. El 69,8% de los sujetos que tenían alteraciones en la endoscopia mostraron una respuesta clínica a la restricción dietética de gluten, sin embargo esta tasa disminuía hasta un 50% en aquellos que no evidenciaron anomalías endoscópicas ($p < 0,05$). En la tabla 20 están descritos estos hallazgos.

	ANOMALÍAS EN EDA	SIN ANOMALÍAS EN EDA	VALOR P
RESPUESTA SUPERIOR AL 20%	69,8%	50,0%	0,05
RESPUESTA INFERIOR AL 20%	30,2%	50,0%	

Tabla 16. Influencia de los hallazgos endoscópicos en la respuesta clínica a la DSG, según el cuestionario GSRS.

La respuesta clínica a la restricción dietética de gluten, evaluada mediante el GSRS, fue independiente de los hallazgos histológicos observados como refleja la Figura 133. El 33,3% de

los familiares con alteraciones histológicas tenían puntuaciones en el cuestionario GSRS, al finalizar la DSG, un 20% inferior a los valores detectados al inicio del estudio. No obstante, los individuos que no presentaron alteraciones histológicas tenían una tasa de respuesta del 29,6%.

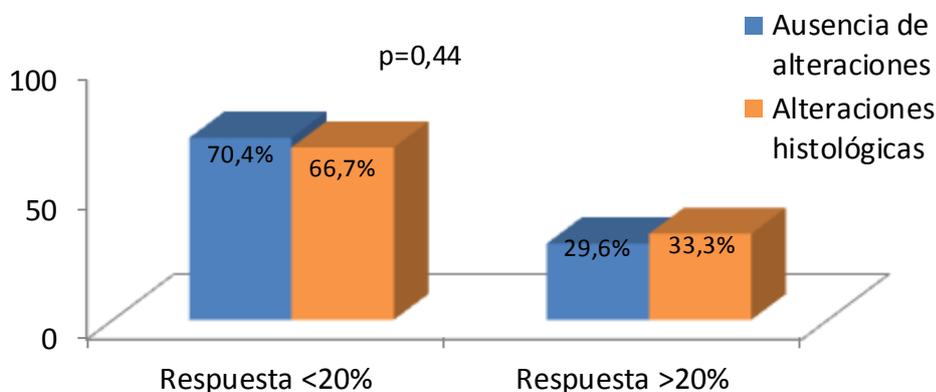


Figura 133. Modificación en la respuesta clínica determinada mediante el test GSRS, según la presencia de alteraciones histológicas.

El número medio de deposiciones semanales antes del inicio del ensayo no influían en la respuesta a la DSG, evaluada mediante el cuestionario GSRS. Los participantes que presentaron una respuesta superior al 20% determinada por el test GSRS tenían básicamente 8,34 deposiciones/sem. Sin embargo, no difería del número de deposiciones semanales de los individuos que no respondían a la dieta que presentaron 8,35 deposiciones/sem. En la figura 134 se observa la ausencia de diferencias en cuanto al número medio de deposiciones semanales según la respuesta a la DSG valorada mediante el GSRS.

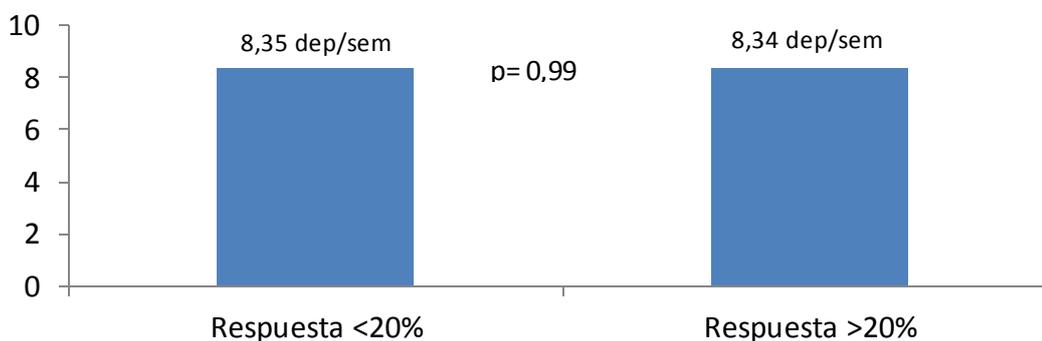


Figura 134. Número medio de deposiciones semanales según la respuesta a la DSG evaluada mediante el cuestionario GSRS.

Los familiares que mostraron una respuesta superior al 20% a través del cuestionario GSRS, tenían una mayor proporción de heces con una menor consistencia en situación basal. El

11,2% de los sujetos que mejoraron con la DSG tenían heces con una consistencia disminuida, en contraposición al 4,5% de los individuos que no respondieron a la dieta. Sin embargo, tal como refleja la figura 135, estos resultados no alcanzaron significación estadística.

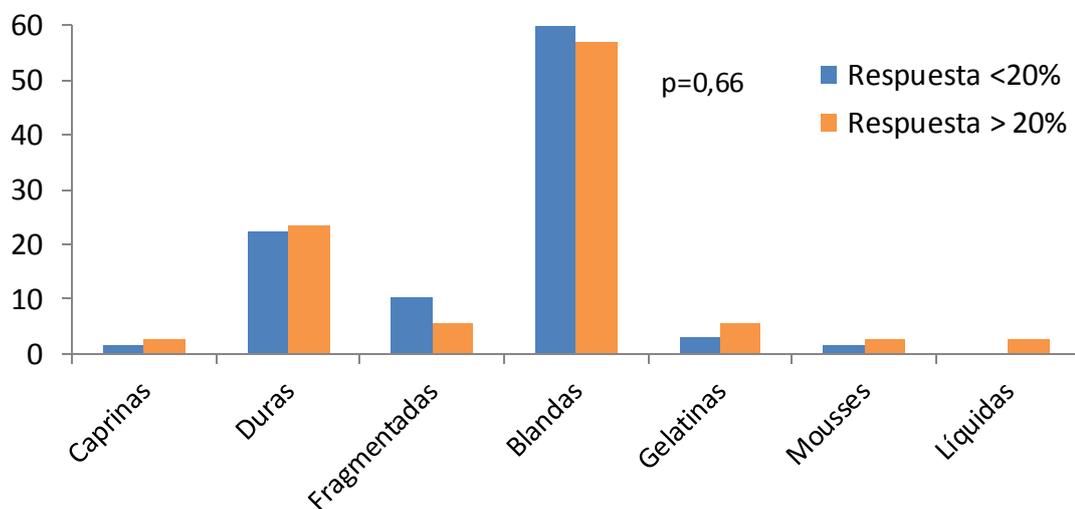


Figura 135. Consistencia de las deposiciones basales según la respuesta a la DSG evaluada mediante el cuestionario GSRS.

El genotipado HLA de los participantes no influía en la respuesta a la DSG. El 65,7% de los individuos que no respondieron a la dieta eran heterocigotos para los haplotipos HLA DQ2 o DQ8 y el 13,4% eran homocigotos para estos alelos. Sin embargo, en los familiares con una respuesta superior al 20% a la dieta, el 62,5% eran heterocigotos y el 16,7% homocigotos. En la figura 136 se observa la ausencia de relación en los resultados obtenidos.

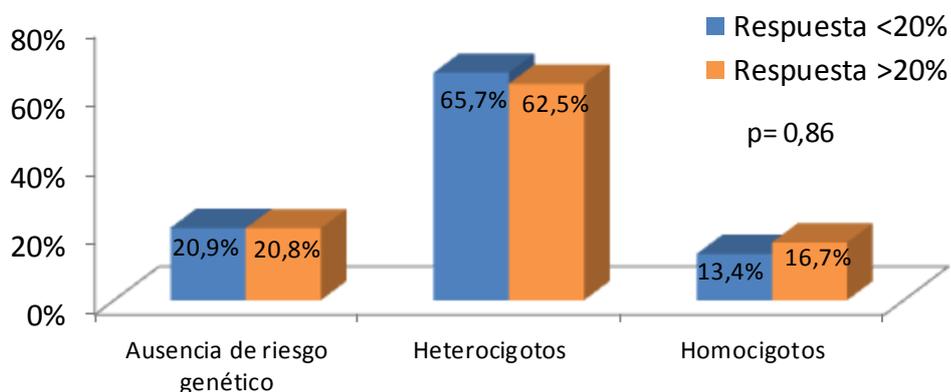


Figura 136. Influencia del genotipado HLA en el grado de respuesta a la DSG.

Los familiares con genética de riesgo y alteraciones histológicas tenían una superior respuesta a la DSG evaluada a través del cuestionario GSRS sin embargo como está reflejado en la figura 137 no alcanzó significación estadística. El 9,7% de los individuos con una respuesta mayor al 20% a la DSG presentaban alteraciones genéticas e histológicas, en contraposición al 4,5% de los sujetos que no respondieron a la dieta.

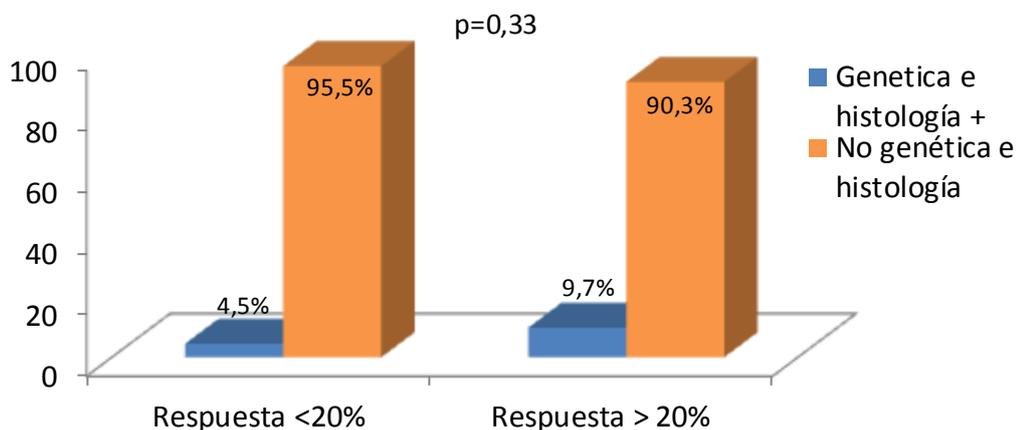


Figura 137. Respuesta a la DSG determinada mediante el cuestionario GSRS en los familiares con presencia de alteraciones genéticas e histológicas.

Los familiares que tenían una respuesta a la DSG evaluada a través del cuestionario GSRS presentaban un título de anticuerpos antigliadina IgA e IgG y anticuerpos antitransglutaminasa inferiores que aquellos que no respondieron a la dieta. No obstante estos resultados no fueron estadísticamente significativos como está representado en la siguiente figura.

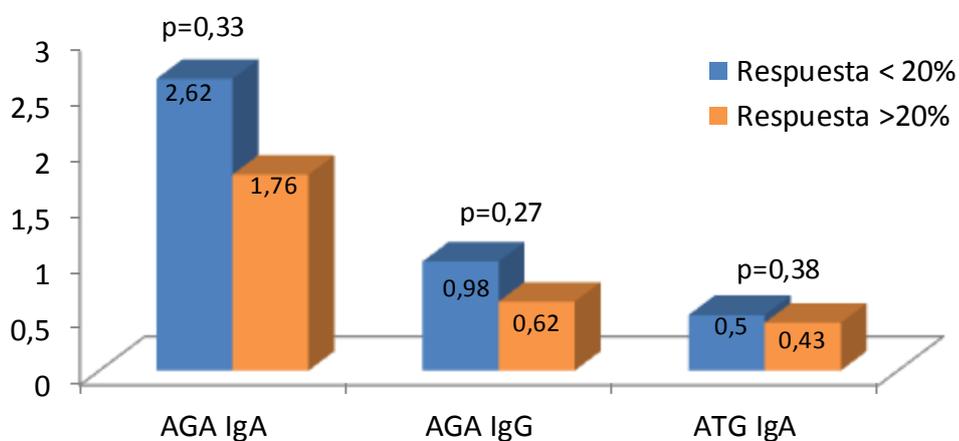


Figura 138. Evaluación de la serología celíaca según el grado de respuesta a la DSG.

8. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

En este apartado están resumidas las principales variables estudiadas que han mostrado relación con las variables dependientes evaluadas. Fueron consideradas variables dependientes la clínica existente, las alteraciones histológicas y la respuesta a la DSG superior al 20% evaluada a través de los cuestionarios CSI y GSRS. Se exponen los resultados obtenidos en el análisis multivariante mediante regresión logística.

8.1 FACTORES ASOCIADOS A LA SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA

En el análisis univariante observamos que la clínica se asociaba con el sexo, la presencia de enfermedades autoinmunes y a los anticuerpos antigliadina IgA. Tras realizar el análisis mediante regresión logística se comprueba que la única variable asociada de forma independiente con la sintomatología clínica que presentaban los familiares era el sexo tal como representa la tabla 17. De tal forma que las mujeres presentaban mayor sintomatología asociada que los varones.

VARIABLE	OR	IC 95% OR INFERIOR	IC 95% OR SUPERIOR	VALOR P
Sexo	2,981	1,334	6,663	0,007

Tabla 17. Variables asociadas independientemente con la clínica asociada.

8.2 ALTERACIONES HISTOLÓGICAS

En el análisis univariante se observa que la presencia del HP era la principal variable asociada con las alteraciones histológicas detectadas sobre todo con la presencia de enteritis linfocítica. Sin embargo, en el análisis multivariante se demuestra que las principales variables asociadas independientemente con las alteraciones histológicas observadas fueron la presencia de HP y la edad como se describe en la tabla 18. El HP es un factor de riesgo principalmente con la presencia de enteritis linfocítica. No obstante, la edad actuaba como un factor protector, de manera que a mayor edad menor proporción de lesiones anatomopatológicas detectadas.

VARIABLE	OR	IC 95% OR INFERIOR	IC 95% OR SUPERIOR	VALOR P
Edad	0,937	0,907	0,986	0,017
HP	2,492	1,068	5,815	

Tabla 18. Variables asociadas independientemente con las alteraciones histológicas observadas.

8.3 RESPUESTA A LA DSG SUPERIOR AL 20% (CSI)

A través del cuestionario clínico CSI se evaluó la respuesta a la DSG. Se consideró una respuesta superior al 20% cuando la diferencia entre la puntuación del test CSI al inicio del estudio y tras la realización de la DSG era superior al 20% de la puntuación basal.

El sexo, la edad, la clínica previa, la consistencia de las deposiciones y los anticuerpos anti gliadina IgG eran las principales variables asociadas con la respuesta a la DSG superior del 20% en el análisis univariante. Sin embargo, en el análisis mediante regresión logística se demostró que la edad y la presencia de clínica asociada inicialmente fueron las variables asociadas de forma independiente con la respuesta a la DSG superior al 20% evaluada mediante el cuestionario CSI, como representa la tabla 19. Los familiares que tenían síntomas clínicos asociados presentaron mayor respuesta a la DSG. Además los individuos más jóvenes también tuvieron mayor respuesta a la DSG que los sujetos de mayor edad.

VARIABLE	OR	IC 95% OR INFERIOR	IC 95% OR SUPERIOR	VALOR P
Edad	0,915	0,876	0,976	<0,001
Clínica	4,378	1,582	12,115	

Tabla 19. Factores asociados de forma independiente con la respuesta a la DSG superior al 20% determinada mediante el cuestionario CSI.

8.4 RESPUESTA A LA DSG SUPERIOR AL 20% (GSRS)

Mediante el test GSRS se determinó la respuesta a la DSG. Fue considerada una respuesta superior al 20% cuando la diferencia entre el cuestionario en situación basal y tras la DSG era un 20% inferior a la puntuación obtenida en el cuestionario antes del inicio del

estudio. La presencia de alteraciones en la endoscopia digestiva alta era la variable asociada con la respuesta a la DSG superior al 20% evaluada mediante el cuestionario GSRS en el análisis univariante. No obstante, en el análisis multivariante se demostró que la presencia de enfermedades autoinmunes era la única variable asociada independientemente con la respuesta a la DSG evaluada a través del cuestionario GSRS. Los familiares que presentaban patología de origen autoinmune tenían mayores tasas de respuesta a la DSG como refleja la tabla 20.

VARIABLE	OR	IC 95% OR INFERIOR	IC 95% OR SUPERIOR	VALOR P
Enfermedades autoinmunes	2,807	1,318	7,737	0,036

Tabla 20. Variables asociadas independientemente con una respuesta superior al 20% evaluada a través del cuestionario GSRS.

8.5 ALTERACIONES EN LA MINERALIZACIÓN ÓSEA LUMBAR EVALUADA MEDIANTE EL T-SCORE

En el análisis univariante se observa que la presencia del HP y de un genotipado HLA de riesgo para la enfermedad celiaca se asociaba con la detección de alteraciones óseas a nivel de la columna lumbar utilizando el T-score. Como observamos en la tabla 21, en el análisis multivariante se demuestra que el HP, el haplotipo HLA y la edad eran las variables que se asociaban de forma independiente con la presencia de osteopenia y osteoporosis a nivel lumbar evaluadas a través del T-score. De esta manera la detección del HP, una edad más avanzada y una genética de riesgo para la EC favorecen la aparición de lesiones óseas en la columna lumbar.

VARIABLE	OR	IC 95% OR INFERIOR	IC 95% OR SUPERIOR	VALOR P
Edad	1,096	1,027	1,188	<0,001
HP	5,492	1,616	18,668	
Genotipado HLA	1,644	1,063	2,544	

Tabla 21. Principales variables que se asocian de forma independientemente con las alteraciones óseas en la columna lumbar.

DISCUSIÓN

1. ASPECTOS GENERALES DEL ESTUDIO

Los familiares de primer grado de los pacientes celíacos constituyen el principal grupo de riesgo para el desarrollo de la EC^{48,251}, cuya prevalencia se estima entre el 10-20%^{152, 153, 155, 252}. Esto hace recomendable la realización de un cribado de la EC en este grupo de riesgo, sin embargo no está determinada cuál es la mejor estrategia para llevarlo a cabo^{186, 187, 253}. Además destaca que la utilización de procedimientos serológicos para evaluar la presencia de la EC en los familiares de primer grado, posiblemente no permita diagnosticar todos los casos^{104, 254}.

En nuestro estudio realizamos este cribado a través de la evaluación histológica de las biopsias duodenales de los familiares de primer grado adultos de los pacientes celíacos. Observamos que una elevada proporción (37,1%) de los sujetos estudiados tenían lesiones histológicas asociadas: 32,7% Marsh I y 4,4% Marsh IIIA. Ninguno de estos hallazgos se hubiesen detectado si el screening de la EC lo hubiésemos realizado mediante los procedimientos serológicos, dado que todos los participantes del estudio tenían un título de anticuerpos antitransglutaminasa negativo (< 3 UI/ml). Probablemente la menor utilidad de la serología celíaca en este grupo de riesgo sea debido a la edad de los pacientes y las particularidades que presentan^{14, 15}. En los adultos celíacos no es extraordinario detectar alteraciones intestinales en ausencia de un título elevado de anticuerpos antitransglutaminasa o antiendomiso, al contrario de lo que sucede en la edad pediátrica²⁵⁵. Además muchos familiares pueden consumir bajas cantidades de gluten dentro del núcleo familiar originando una menor respuesta serológica e histológica

Una elevada proporción (57,6%) de los participantes, presentaban clínica digestiva antes del comienzo del estudio. Estos síntomas tenían la peculiaridad de ser de leve intensidad, larga evolución y nunca se habían sido consultados, ni tampoco estudiados. Entre la sintomatología que presentaban destacaba la presencia de distensión abdominal, estreñimiento, diarrea y dolor abdominal. Estos síntomas fueron explorados inicialmente tras una anamnesis minuciosa y posteriormente objetivados tras contestar los cuestionarios clínicos GSRS y CSI que nos permitían cuantificar el grado de afectación que presentaban los participantes.

Tras el inicio de la DSG se observó una mejoría en la sintomatología previa que mostraban los familiares. Al reintroducir el gluten en la dieta en la fase de sobrecarga de gluten se evidenció una recaída en la sintomatología clínica descrita previamente. Esta respuesta a las diferentes fases de la modificación dietética pone en relieve el papel relevante del gluten en la sintomatología desarrollada por los familiares. Diferentes trabajos han

demostrado el impacto del gluten como posible factor desencadenante síntomas de diferentes patologías, como el síndrome intestino irritable, sin tener relación con la enfermedad celiaca^{221, 256}. El término de “sensibilidad al gluten no celiaca” (SGNC)²⁵⁷ incluye una o más variedades inmunológicas, morfológicas o sintomáticas que se desencadenan por la ingesta de gluten. Es decir es una condición en la que la ingesta de gluten origina síntomas en ausencia de una enfermedad celiaca^{223, 258}. Al contrario que la EC, la SGNC muestra signos de activación de la respuesta inmune innata en ausencia de enteropatía, elevación de anticuerpos antitransglutaminasa, antiendomiso o péptidos de gliadina deaminados²⁵⁹.

En este sentido, una elevada proporción de los sujetos que participaron en nuestro estudio presentaban clínica digestiva, en ausencia de alteraciones histológicas. La falta de relación entre los hallazgos histológicos y la sintomatología existente, asociado a una óptima respuesta a la DSG, permite establecer que en nuestra serie un porcentaje significativo tenían SGNC dado que no cumplían criterios necesarios para la enfermedad celiaca²⁶⁰. El origen de los síntomas gastrointestinales probablemente son debidos a una hipersensibilidad o un funcionamiento anormal del intestino al gluten²⁶¹. Esta proteína tiene regiones de difícil digestión enzimática originando péptidos no absorbibles que en último término son los que ejercen la acción tóxica en ausencia de una respuesta inmune desencadenante^{224, 262}.

El padecimiento de síntomas digestivos era independiente del componente genético que tenían los participantes de nuestro estudio. El desencadenamiento de la EC se da en sujetos que tienen una determinada genética de riesgo (HLA DQ2 o HLA DQ8), de tal manera que el componente genético es una causa necesaria pero no suficiente para desarrollar la EC^{4, 263}. Sin embargo en la SGNC no es necesaria de una genética de riesgo para originar alteraciones clínicas^{256, 264}. Los individuos que carecen del componente genético al consumir alimentos con gluten pueden desarrollar la sintomatología. Tal como establecen estudios actuales la SGNC es independiente del sistema HLA²⁶⁵, sin embargo inicialmente existían una gran controversia respecto a este hecho.

Tampoco observamos relación entre los hallazgos histológicos y el componente genético de los familiares. Tal como corresponde todos los sujetos con atrofia vellositaria eran HLA DQ-2 o DQ-8, sin embargo la proporción de individuos que carecían de una genética de riesgo era similar en el Marsh 0 y I. Es probable que la enteritis linfocítica que observamos en nuestro estudio pueda ser debida a otras causas desencadenantes como consumo de AINES, sobrecrecimiento bacteriano²⁶⁶, etc. Sin embargo, la principal posibilidad es que se relacione con el HP, bacteria que origina una inflamación a nivel de la mucosa y submucosa gástrica y de los primeros tramos intestinales²⁶⁷. Pese a presentar una respuesta clínica adecuada a la DSG,

es necesario comprobar la respuesta histológica a la modificación dietética para poder establecer que la relación entre el gluten y el incremento de los LIE^{268, 269}.

Entre los puntos fuertes de este proyecto destaca el carácter prospectivo del estudio, que proporciona mayor validez a los resultados obtenidos y una menor tasa de sesgos ocasionados. También resaltamos el tamaño muestral obtenido que superaba el número de sujetos que inicialmente fue diseñado, lo cual confiere una potencia estadística superior. Además los participantes se implicaron totalmente, tal como se desprende del elevado porcentaje de sujetos (81,3%) que realizaron la EDA y la baja tasa de abandonos que se produjo a lo largo de las diferentes fases de la modificación dietética.

Sin embargo, esta investigación también presenta limitaciones a señalar. Una de ellas se encuentra en la baja proporción de sujetos con ausencia de carga genética de riesgo para desarrollar la EC o que eran homocigotos para los alelos HLA DQ2 o DQ8, acotando el resultado de las comparaciones obtenido. No obstante, la tasa de sujetos sin componente genético es similar o superior a otros estudios previos realizados en familiares de primer grado publicados^{41, 253, 270-272}.

Otra limitación es que la mayoría de los participantes son padres de niños recién diagnosticados de la enfermedad lo cual puede afectar a la validez externa de los resultados. Durante la anamnesis, debido al sentimiento de culpa por la enfermedad de su hijo, pueden dar más importancia a síntomas que de otro modo no habrían tenido en cuenta. Además disminuye la diversidad y tamaño de otros grupos de familiares de primer grado (hijos, hermanos), con lo que la posibilidad de obtener resultados significativos en este aspecto es menor.

También puede influir negativamente en el estudio las características de los familiares que realizaban la EDA. Por un lado, la mayoría de los sujetos que accedían a la realización de la gastroscopia refirieron síntomas digestivos asociados y efectuaban la prueba para investigar su clínica. Por otro lado, la proporción de individuos con ausencia de haplotipos de riesgo para la enfermedad celíaca que consumaron la endoscopia era muy baja. Este hecho se debía que al indicar la exploración e informarles del beneficio que les aportaba, los sujetos con un genotipado HLA de riesgo efectuaban la EDA para descartar una posible EC. Sin embargo, en ausencia del componente genético una menor proporción de participantes realizaba la prueba al no tener un rendimiento personal.

Finalmente, otra posible debilidad del estudio es la ausencia de determinación de Ig E frente al gluten mediante técnica de RAST o la realización de prick-test cutáneos. Estas técnicas permiten explorar la existencia de una entidad reciente la alergia al trigo^{273, 274}. Esta patología consiste en una reacción adversa inmunológica a las proteínas del trigo, inducida

mediante anafilaxia, en la que los anticuerpos IgE juegan un papel principal en la patogenia de la enfermedad^{275, 276}. Es una entidad infrecuente, cuya prevalencia es del 0,4%²⁷⁷. Por esta razón, al ser un procedimiento incómodo y caro no fue evaluado en la muestra estudiada. No obstante, puede alterar la interpretación de los resultados obtenidos, diagnosticando erróneamente una posible SGNC, en vez de una alergia al gluten.

De forma global, al evaluar los resultados podemos decir que la dieta sin gluten, tiene un impacto elevado en la clínica de los sujetos. Esta relación parece además independiente de la presencia del haplotipo HLA-DQ2/HLA-DQ8 y de la presencia de lesiones histológicas. Estos hallazgos se van a discutir más detalladamente a continuación.

2. LESIONES HISTOLÓGICAS

2.1 DETECCIÓN DE LESIONES HISTOLÓGICAS

Una proporción elevada de los familiares que participaron en el estudio tenían lesiones histológicas asociadas, (el 4,4% de los sujetos mostraron atrofia vellositaria, y el 32,7% un incremento de los linfocitos intraepiteliales) a pesar de presentar un título de anticuerpos antitransglutaminasa negativo. Recordamos que era un criterio de exclusión el presentar un título de anticuerpos positivo. Los ATG tienen una elevada sensibilidad y especificidad, similar a los anticuerpos antiendomiso²⁷⁸, sin embargo su utilidad es mayor en la edad pediátrica^{14,15, 279}. En los niños, unos niveles de anticuerpos elevados permiten alcanzar el diagnóstico de la enfermedad sin necesidad de biopsia duodenal^{121, 280}. Sin embargo, en los adultos los procedimientos serológicos presentan una menor utilidad^{14,104,281-283}. Por esta razón el estudio histológico de la biopsia intestinal continúa siendo imprescindible en la edad adulta^{284,285}.

El tipo de dieta que consumían los sujetos también puede influir en los bajos niveles obtenidos en los procedimientos serológicos. La mayoría de los participantes son padres de niños recién diagnosticados de celíacos. Por lo tanto, un elevado porcentaje de familiares realizaba restricción parcial de gluten en la dieta. Por motivos de comodidad preparaban sin gluten parte de la comida que consumían todos los miembros de su núcleo familiar en su domicilio. La falta de estimulación antigénica podría originar una menor respuesta serológica²⁸⁶, explicando el bajo título de anticuerpos antitransglutaminasa encontrado.

La edad de los sujetos evaluados también influye en las lesiones histológicas detectadas^{14,191}. En nuestro estudio la intensidad de los hallazgos microscópicos intestinales disminuye según aumenta la edad de los familiares. No obstante, no se observó una relación

estadísticamente significativa probablemente debido al bajo número de sujetos que tenían atrofia vellositaria y que la mayoría de los participantes eran adultos jóvenes (padres de niños recién diagnosticados).

2.2 ENTERITIS LINFOCÍTICA

La enteritis linfocítica fue la principal lesión histológica detectada en las biopsias duodenales. El 32,7% de los sujetos presentaba un incremento de los linfocitos intraepiteliales. El origen de la duodenitis linfocítica es incierto. Múltiples causas pueden provocar esta lesión^{200, 287}, entre ellas destaca la infección por HP, el consumo de AINES, el sobrecrecimiento bacteriano, las intolerancias alimentarias, una inmunodeficiencia común variable, una enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn) e incluso presentar un estado preceliaco, estadio I de la clasificación de Marsh.

Muchos de los sujetos que tienen enteritis linfocítica presentan síntomas digestivos que mejoran con la DSG, sin llegar a desarrollar una EC. Tres estudios prospectivos longitudinales^{191, 288, 289} han sugerido que la progresión de la enteritis linfocítica a atrofia vellositaria ocurre en un porcentaje muy pequeño. Este hecho coincide con que una elevada proporción de individuos con SII tienen un incremento de los linfocitos intraepiteliales y su sintomatología también mejora con la DSG^{262, 290, 291}. Por esta razón, la mayoría de los familiares de nuestro estudio es probable que se incluyan dentro del término denominado SGNC²⁹². Por tanto, la confirmación del diagnóstico de la enteritis linfocítica secundaria a la SGNC debe basarse en la respuesta clínica e histológica a la DSG^{293, 294}.

Una elevada proporción de los participantes (64,9%) con incremento de los LIEs tenían síntomas digestivos que mejoraron con la DSG. Sin embargo, este porcentaje era similar en los sujetos que tenían un Marsh 0 (60%) o un Marsh IIIA (60,4%). Por ello, la clínica asociada no nos permite predecir cuál es el estadio histológico duodenal de los familiares, ni cuál va a ser su evolución. Además, la respuesta clínica a la DSG no dependía de los hallazgos histológicos observados, tal como sucede con los ensayos clínicos que han evaluado la DSG en el SII²⁹¹. Estos resultados permiten establecer la importancia de la SGNC en nuestra serie, al observar una mejoría clínica a la restricción dietética del gluten independiente del estado histológico duodenal.

La consistencia de las deposiciones, según la clasificación de Bristol, era similar en los participantes que mostraron un Marsh 0 y I. En contraposición, los familiares que tenían atrofia intestinal presentaron una mayor tasa de deposiciones con una menor consistencia (líquidas, mousse o gelatina). Las diferencias observadas en la composición de las heces, pese a

no originar discrepancias en la proporción de síntomas percibidos en diferentes estadios de Marsh, orientan a una mayor frecuencia de diarrea en los sujetos con enfermedad celíaca en contraposición de la SGNC. Los individuos con esta entidad presentan con mayor frecuencia estreñimiento, distensión y dolor abdominal. Las modificaciones en la consistencia de las deposiciones ya fueron descritas en otras patologías de origen funcional que mejoraban con la DSG^{291, 295}. Estas alteraciones detectadas han sido agrupadas en los últimos consensos de expertos dentro de la SGNC^{257 265}.

Los familiares que tenían un Marsh 0 tenían en una mayor proporción un genotipado de riesgo para la EC que los individuos con enteritis linfocítica, mientras que todos los sujetos con Marsh III presentaban haplotipos HLA asociados con la EC. Sin embargo, estos resultados no fueron significativos en nuestro estudio, pero demuestran la falta de relación de la genética y el incremento de los LIEs. Estas discrepancias se deben a que la enteritis linfocítica frecuentemente se desencadena por diversas causas no relacionada con la EC, como la SGNC, consumo de AINES y el HP. Dos estudios prospectivos longitudinales^{266, 296} demostraron la falta de asociación entre el haplotipo de riesgo para la EC y la duodenitis linfocitaria. Además establecen la posibilidad de que existan dos grupos diferentes dentro de la enteritis linfocítica. Por un lado, aquellos sujetos con incremento de los LIEs que tienen un genotipado de riesgo para la EC y presentan pequeñas oscilaciones serológicas y además muestran una respuesta clínica a la DSG²²⁵. Estos sujetos pueden establecerse dentro de la sensibilidad al gluten. En el otro lado, se encuentran la mayoría de pacientes con ausencia de un genotipado compatible con la EC. Sin embargo, parte de estos individuos también presentan una sensibilidad al gluten que explique las alteraciones histológicas y la respuesta clínica a la supresión dietética de gluten. Es probable que estas anomalías se desencadenen por una respuesta no mediada por el sistema HLA^{85, 297}.

Aproximadamente la mitad de los sujetos con incremento de los LIEs eran mujeres. Esta proporción es similar a la observada en ausencia de alteraciones histológicas. Sin embargo, entre los individuos con atrofia vellositaria hay una proporción muy superior de mujeres, como normalmente ocurre en la EC^{298, 299}. Estas diferencias, es probable que se deban a la falta de asociación de la EC con duodenitis linfocítica.

El HP presentó una mayor asociación con la enteritis linfocítica que con los otros estadios histológicos. Diferentes artículos han demostrado como el HP origina un incremento de los LIEs^{296, 300} a nivel duodenal. El HP provoca una inflamación gástrica crónica y de los primeros segmentos intestinales con una infiltración de linfocitos a nivel de las capas mucosa y submucosa^{301, 302}, que pueden desaparecer tras la erradicación de la bacteria³⁰³. Además en las diferentes series^{268, 287, 304} que han evaluado las causas de la enteritis linfocítica han

determinado que el HP es el principal desencadenante del incremento de LIEs junto con una SGNC, resultados que coinciden con los obtenidos en nuestro estudio. Por lo tanto, es probable que esta bacteria pueda ser una de las principales causas del incremento de LIEs en nuestra serie, sin embargo es necesario comprobar su implicación comprobando, tras la erradicación del HP, la normalización histológica¹⁶².

El estudio histológico de las biopsias permitió descartar que ningún paciente, que realizó la EDA, presentara una enfermedad de Crohn con afectación duodenal. Además, a todos los participantes se determinó, junto con el genotipado HLA y la serología celíaca, los niveles de inmunoglobulinas Ig A, Ig G e Ig M. Todos presentaron valores dentro de los límites de la normalidad, permitiendo descartar patologías autoinmunes de origen humoral como la inmunodeficiencia común variable o el déficit selectivo de IgA.

No obstante, no fueron realizados test de aliento para evaluar un posible sobrecrecimiento bacteriano o una intolerancia a la lactosa o fructosa. Esta puede ser una posible limitación a la hora de determinar el posible origen del incremento de los LIEs y de la sintomatología que presentaban.

3. CLÍNICA ASOCIADA Y RESPUESTA A LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA

3.1 CLÍNICA ASOCIADA Y SENSIBILIDAD AL GLUTEN

El 57,6% de los participantes mostraron síntomas digestivos en el momento de la inclusión en este proyecto de investigación. La sintomatología más frecuente fue la distensión abdominal, la diarrea, estreñimiento y el dolor abdominal. Además, al interrogar sobre sus características, llamaba la atención que eran síntomas de intensidad leve y larga evolución, por los que nunca habían preguntado ni tampoco habían sido evaluados. También conviene destacar que esta clínica no es patognomónica de ninguna patología. Muchas entidades pueden originar síntomas similares, entre ellas diversas patologías de origen funcional (con falta de un sustrato orgánico), como el SII, la dispepsia funcional.... Diversos ensayos clínicos han demostrado la relación del gluten con el SII, y como puede alcanzarse una mejoría clínica con la DSG^{221, 261, 295, 305}, tras descartarse la EC en los pacientes evaluados. La respuesta a la supresión dietética de gluten, indica una estrecha relación entre entidades de origen funcional, como el SII, y la SGNC, siendo difícil establecer los límites de cada una de ellas. Además refleja

el papel destacado del gluten para originar síntomas digestivos, posibilitando la utilización de la DSG como una herramienta terapéutica.

La clínica digestiva afectaba en una mayor proporción a las mujeres de nuestro estudio. Nuestra muestra incluía una proporción similar de hombres y mujeres. Sin embargo, eran estas últimas las que refirieron una mayor tasa sintomatología antes de iniciar las diferentes fases de la modificación dietética. Esta mayor predisposición por parte del sexo femenino a presentar síntomas no parece ser un hecho aislado. Otras entidades de origen funcional como el SII, el estreñimiento crónico funcional, dispepsia funcional... presentan también un predominio femenino^{306,307}. No obstante, no se conoce completamente la razón de diferencias por sexo. Es probable que las mujeres presenten una mayor disfunción sensorial que afecte al territorio visceral, dado que su sensibilidad somática es normal o incluso con una tolerancia aumentada^{308,309}. También puede ser debido a posible alteración de la motilidad gastrointestinal³¹⁰ o una menor tolerancia al estrés o ansiedad dado la elevada asociación de trastornos digestivos y psiquiátricos³¹¹. Y tal como ocurre en nuestro trabajo, parte de estos individuos pueden mejorar clínicamente con la supresión del gluten de la dieta, estrechando la relación entre la sensibilidad al gluten y las patologías de origen funcional, particularmente el SII.

El SII y la EC presentan una fuerte asociación. Pacientes celíacos con DSG pueden desarrollar síntomas finalmente secundarios a un SII^{18,312} con grave alteración de su calidad de vida. En otras ocasiones, un paciente con un SII puede acabar desarrollando una EC^{313,314}. Sin embargo, en ocasiones, como anteriormente ha sido comentado, los pacientes que tienen un SII, presentan una respuesta clínica a la DSG, pero no cumplen criterios de EC³¹⁵⁻³¹⁷. Por lo tanto, la interacción de estas tres entidades (EC, SII, SGNC) es muy estrecha y en ocasiones plantea un problema diagnóstico importante³¹⁸.

La sintomatología descrita en nuestra serie, era independiente de las lesiones histológicas observadas. Como anteriormente fue descrito, la clínica existente no se relacionaba con las alteraciones microscópicas detectadas. Una proporción elevada de sujetos sin lesiones histológicas (60%), presentó síntomas. Además, estos individuos tuvieron una buena respuesta clínica a la DSG. Estos hallazgos concuerdan con los resultados de estudio de Massari et al²⁵⁸, que establecen el beneficio de la DSG en entidades diferentes a la EC, incluidas dentro del concepto ya comentado de SGNC.

El 60% de los sujetos que no presentaban una genética de riesgo expresaron padecer síntomas digestivos. Clásicamente se consideraba que la presencia de una predisposición genética (HLA DQ2 o DQ8) era fundamental para desarrollar una sensibilidad al gluten. Con esta predisposición genética puede que no manifiesten anticuerpos en sangre periférica pero

sí una sintomatología asociada a la ingesta de gluten sin alteraciones histológicas de la mucosa duodenal²⁹⁵. No obstante, diversas investigaciones han demostrado que no imprescindible disponer del genotipado HLA de riesgo para presentar síntomas tras la ingesta de gluten²²⁴. Es probable que el mecanismo que desencadene los síntomas dependa de una respuesta inmunológica no mediado por el sistema HLA. Diversos autores defienden que las consecuencias clínicas son el resultado de una respuesta inmune innata al gluten u otros componentes de los cereales^{266, 305, 319}. Por lo tanto, la SGNC no depende de una predisposición genética del sistema HLA como inicialmente se esperaba.

Los familiares que tenían el HP en las biopsias gástricas presentaron una mayor proporción de molestias digestivas que en ausencia de formas bacilares, sin alcanzar significación estadística. El HP participa en la producción de diversas patologías gastrointestinales como el ulcus gástrico, ulcus duodenal, gastritis crónica, linfoma malt, cáncer gástricos... Sin embargo, diversas publicaciones han determinado el papel del HP en las molestias ocasionadas en la dispepsia funcional^{206, 320}. Diferentes estudios³²¹⁻³²³ han demostrado que el 10% de los pacientes que erradican el HP mejoran los síntomas de la dispepsia funcional (DF). Sin embargo, no explica la mejoría clínica que se produce con la DSG. Los síntomas ocasionados por el HP no mejorarían sino se erradica la bacteria, y es independiente de la ingesta de gluten de la dieta.

Los títulos de los anticuerpos antigliadina eran superiores en los participantes que refirieron síntomas digestivos, sin presentar una mayor proporción de alteraciones histológicas. Publicaciones recientes han demostrado la existencia de sujetos con un título ligeramente superior de anticuerpos antitransglutaminasa, antiendomiso o antigliadina sin presentar alteraciones histológicas, pero con síntomas digestivos que mejoran con la DSG^{282, 283, 324-326}. Estos autores defienden que esta elevación serológica como una respuesta intestinal ante la agresión de un agente externo, como es el gluten, originando una secreción intestinal de estos anticuerpos relacionados con la EC.

Los sujetos con sintomatología asociada tuvieron unos niveles de hemoglobina inferiores que los asintomáticos. Además, estos individuos presentaban unos niveles de ferritina y hierro sensiblemente menores. Al profundizar en el análisis observamos que los sujetos con atrofia vellositaria tenían unos niveles sensiblemente inferiores, sin embargo no encontramos diferencias entre el Marsh 0 y el Marsh I. No obstante, el HP se relacionó con los niveles de hemoglobina. Los familiares con HP tenían unos menores niveles de hemoglobina. Esta descrita la relación entre la anemia ferropénica y el HP³²⁷. El mecanismo por el cual se origina la anemia no está bien establecido. Probablemente la inflamación gastrointestinal, que origina esta bacteria, provoca una disminución de la absorción de hierro, con la consecuente

anemia^{328, 329}. Por esta razón, en nuestra serie es probable que la anemia se deba al HP y no a las alteraciones histológicas observadas.

3.2 ¿CÚAL ES EL MECANISMO POR EL QUE LA INGESTA DE GLUTEN ORIGINA LA CLÍNICA DIGESTIVA?

El mecanismo de acción, por el cual el gluten desencadena los síntomas gastrointestinales de los pacientes con sensibilidad al gluten, es todavía incierto. Probablemente sea debido a la combinación de diferentes vías de actuación y no se conocen completamente como se producen.

En primer lugar, la mejoría sintomática debido a la DSG puede deberse a una EC no diagnosticada. La afectación intestinal de la EC puede ser parcheada³³⁰. Por lo tanto durante la endoscopia puede no recogerse las biopsias de la zona afecta o pueden no ser procesadas correctamente, condición fundamental para conseguir una orientación adecuada de las muestras. Por lo tanto, estos individuos presentarán el genotipado HLA de riesgo para el desarrollo de la EC. En nuestra serie, existe un porcentaje significativo de familiares que no mostraban la disposición genética necesaria para el padecer esta patología.

Es probable que el gluten origine una inflamación con aumento de la permeabilidad intestinal, sin presentar relación con la EC. Estudios no invasivos han demostrado que la inflamación y/o daño intestinal puede ser inducido mediante el gluten. Este hecho fue sospechado en distintos trastornos funcionales gastrointestinales, en los que el gluten desencadenaba una respuesta inmune asociada^{331, 332} mediada por el sistema innato. Esta respuesta origina una inflamación intestinal debido a la migración transepitelial de neutrófilos a la luz intestinal, con incremento de los niveles de lactoferrina fecal e incapacidad de las bacterias para degradar la lactoferrina³³³ y finalmente, provoca un aumento de la permeabilidad intestinal.

Un potencial mecanismo, por el cual el gluten puede originar síntomas sería el debido a la fermentación intestinal de pépticos de gluten de difícil absorción^{334, 335}. El gluten es un compuesto proteico cuya digestión enzimática completa es compleja, por lo tanto es posible que la fermentación del gluten ocasione un aumento del gas intestinal debido a la producción de gases derivados del sulfato. Por lo tanto, podría desencadenar flatulencias y la distensión de una víscera hueca como es el tracto intestinal-colon. Los derivados sulfúricos que se producen, pueden potencialmente alterar la sensibilidad visceral^{336, 337}.

Además, el gluten puede originar la activación del sistema colinérgico a nivel gastrointestinal. Las neuronas aferentes de la submucosa y del plexo mientérico son de tipo colinérgico tanto en humanos como en roedores^{338, 339}. La activación de las neuronas

colinérgicas ha sido demostrado en modelos animales con murinos que reproducían la sensibilidad al gluten³²⁶. El gluten originaba un incremento de la contractibilidad de la musculatura lisa e indirectamente aumenta el contenido de agua a nivel de la luz intestinal. Además, pueden desencadenar la secreción directa o indirecta de neurotransmisores que originan en último término un aumento de la permeabilidad intestinal, con incremento de los basófilos activados sensibles al gluten a nivel intestinal³⁴⁰. También ha sido comprobado que en pacientes con enfermedad celiaca evolucionada pueden existir alteraciones en el sistema simpático y/o parasimpático así como alteraciones de tipo dismotilidad^{341, 342}.

Las células enterocromafines en el epitelio intestinal liberan serotonina que activa las neuronas aferentes de la submucosa y del plexo mientérico³⁴³. En procesos inflamatorios como la colitis ulcerosa se puede producir una reducción de la expresión de los transportadores que captan serotonina (SERT)³⁴⁴. Varios estudios en pacientes con SII han detectado cambios inflamatorios mínimos que engloban sobre todo linfocitos CD3+, células mastocíticas y una expresión reducida de los SERT³⁴⁵. Un exceso de producción de serotonina en respuesta a una comida rica en carbohidratos puede ser un mecanismo desencadenante de síntomas dispépticos en la enfermedad celiaca³⁴⁶. Una actividad prolongada serotoninérgica debido a una reducción de los SERT puede incrementar la liberación de acetilcolina y activar, por lo tanto, los reflejos peristálticos y secretores, los cuales pueden afectar la función intestinal y la producción de síntomas. Un incremento en la producción de acetilcolina (ACh) secundario a la ingesta de gluten podría ser un mecanismo que explicara la producción de síntomas tipo intestino irritable en pacientes con “sensibilidad al gluten”. Es necesario reproducir estos estudios en pacientes con “sensibilidad al gluten” sin EC. Aunque no bien caracterizado aún, está claro que existe un eje inmuno-neuroendocrino a nivel intestinal, existiendo relación entre linfocitos de mucosa, células enterocromafines y plexos mientéricos.

Por último, el gluten puede desencadenar síntomas a partir de los productos de su digestión parcial. Se ha demostrado que in vitro, péptidos derivados gliadina o sin relación con la gliadina, pueden inducir un daño intestinal y cambios en las células epiteliales a través de mecanismos no mediados por el sistema HLA. Por ejemplo, péptidos derivados de la gliadina pueden incrementar la permeabilidad intestinal y alterar la expresión de proteínas de los componentes de las uniones intercelulares de los enterocitos (tight junction)⁷⁰, inducir la apoptosis celular^{319, 347} e incrementar el estrés oxidativo. En estudio clásico de van Elburg³⁴⁸, ya establece que los péptidos de gliadina aumentan la permeabilidad intestinal en los familiares de primer grado de los pacientes celíacos. Estos resultados de forma global corroboran la hipótesis de que la gliadina puede inducir cambios mucosos mínimos que se manifiestan como alteraciones en la permeabilidad intestinal y activan el sistema inmune

innato. Además, los derivados no relacionados con la gliadina, son pobremente absorbidos a lo largo del intestino delgado e inducir síntomas funcionales^{335, 349}.

3.3 INFLUENCIA CLÍNICA DE LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA.

3.3.1 EFECTO PLACEBO

Hay que considerar el efecto placebo como un mecanismo posible responsable del alto grado de respuesta obtenido en nuestro trabajo. Sin embargo, en nuestra investigación observamos a través de la utilización de los cuestionarios clínicos, como durante la DSG se produce una mejoría clínica en los participantes con síntomas previos, y en contraposición no se modifican los resultados de los sujetos asintomáticos. Por lo tanto, el efecto placebo en este estudio posiblemente sea bastante limitado.

Gold, Kwit y Otto, en uno de los trabajos pioneros en los que aplicaron las denominadas técnicas “a ciegas”, demostraron en 1937, el papel importante que desempeña la confianza del médico en el tratamiento que aplica respecto a los resultados terapéuticos que se obtienen.

Uno de los primeros trabajos sobre este tema lo llevó a cabo Beecher en una revisión de 26 investigaciones empíricas diferentes que comprenden un total de 1082 sujetos con afecciones diversas como dolor postoperatorio agudo, angina de pecho y cefaleas. El porcentaje de pacientes que experimentaba mejoría con la administración de placebos puros (comprimidos de lactosa, inyecciones de solución salina) oscilaba entre el 30% y el 40%. Además, incluso informando de la administración de placebos, pueden producirse efectos indeseables como sequedad de boca, náuseas, somnolencia... que pueden llegar a afectar hasta al 15% de los pacientes³⁵⁰.

Algunos autores han sugerido que puede actuar como placebo cualquier objeto que se ofrezca con intención terapéutica y que el efecto placebo constituye un componente fundamental de las técnicas modernas de bioalimentación.

Hasta el momento se ha tratado de explicar el efecto placebo mediante hipótesis muy diferentes que van desde la psicoanalítica de Forrer hasta los autores que consideran que los términos placebo y sugestión son sinónimos.

Según Ramón Bayés en el “Análisis del efecto placebo” el poder discriminativo de curación de algunos estímulos (fármacos, técnicas, dietas) puede incrementarse y aumentar la probabilidad de que aparezcan respuestas placebo, si una fuente de información que el paciente considera fidedigna le proporciona verbalmente datos que apoyen la habilidad del terapeuta o las virtudes.

En la patología funcional también se ha estudiado el efecto placebo, Vase en 2003 estudió la influencia del efecto placebo y los factores psicológicos que median este efecto³⁵¹. Recientemente se ha publicado un artículo sobre el SII y el placebo. Lo novedoso de este estudio es la valoración del placebo versus no hacer ninguna terapia en el contexto de la relación terapéutica. El placebo es presentado a los pacientes de esta forma: “es una pastilla inactiva, como píldoras de azúcar, sin ninguna medicación en su interior, que en estudio rigurosos han demostrado que producen una mejoría significativa a través del pensamiento en un proceso de autocuración”. Dos grupos aleatorios de 80 pacientes fueron seguidos durante 3 semanas utilizando el IBS Symptom Severity Scale (IBS-SSS). El objetivo primario fue medido mediante el IBS Global Improvement Scale (IBS-GIS) el placebo produjo una mejoría en las medidas globales en el punto de corte del undécimo día de seguimiento ($5,2 \pm 1,0$ vs. $4,0 \pm 1,1$; $p < 0,001$) y en el vigésimo primero ($5,0 \pm 1,5$ vs. $3,9 \pm 1,3$; $p = 0,002$)³⁵².

3.3.2 RELACIÓN MÉDICO - PACIENTE

Conseguir la mejor relación posible entre el médico y el paciente es un aspecto esencial en el tratamiento, aunque en la patología funcional esta afirmación se sustenta más en la experiencia diaria que en la medicina basada en la evidencia.

Desde el primer momento consideramos en nuestro estudio la importancia de esta relación. Nuestra buena relación se basó en dar respuestas objetivas a las dudas que planteaban los participantes sobre la EC, considerada crónica y las implicaciones que tenían en los familiares. Es necesario que transmitamos el hecho de que a pesar de su poca gravedad, la SGNC es un trastorno molesto que hacen perder calidad de vida y que pueden llegar a ser incluso incapacitantes. La confianza quizás se creó partiendo del interés que el sujeto veía que estaba surgiendo de su enfermedad y dando explicaciones lógicas simples a las dudas de los participante. En ocasiones se piensa que la confianza se consigue solicitando excesivas exploraciones que lejos de aclarar la etiología favorecen las dudas y frustraciones.

3.3.3 MEDICIÓN DE LA RESPUESTA DURANTE LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA

Durante las diferentes fases de la modificación dietética los participantes eran interrogados exhaustivamente respecto los clínicos producidos y los síntomas existentes. Sin embargo, eran necesarias unas herramientas para cuantificar la opinión subjetiva del paciente y el efecto de la dieta sobre el sujeto. Para conseguir este objetivo utilizamos dos cuestionarios

clínicos y la valoración del número y cantidad de deposiciones semanales según se modificaba la dieta.

Uno de los cuestionarios utilizados fue el GSRS (*Gastrointestinal Symptom Rating Scale*), este índice permite la exploración de diferentes síntomas digestivos²⁴⁷ como el dolor abdominal, molestias torácicas, el reflujo gastroesofágico, náuseas y vómitos, regurgitación, distensión abdominal, eructos, flatulencias, diarrea o estreñimiento, aumento o disminución de la consistencia de las heces, urgencia defecatoria o sensación de evacuación incompleta. Este test ha sido ampliamente utilizado en diversos trastornos gastrointestinales como el ERGE^{353, 354}, SII^{355, 356} e incluso la EC^{357, 358} e incluso ha sido reconocida su utilidad para determinar el efecto de la DSG en celíacos^{359, 360}.

El otro cuestionario utilizado es el CSI (*disease-specific Celiac Symptom Index*). Esta herramienta permite monitorizar la evolución de los síntomas de la EC a través de estudio de 2 dimensiones: síntomas relacionados con la EC y salud general. Ha sido validado en el año²⁴⁹ 2009, y actualmente, el equipo de trabajo del Dr. Casellas, está intentando validarlo en la población española. Recientemente ha sido comprobado el efecto clínico de la DSG en la EC mediante el cuestionario CSI³⁶¹. Sin embargo, este índice todavía no ha sido utilizado en la SGNC, esta es una de las primeras investigaciones que incorporan en su metodología el cuestionario CSI para evaluar efecto clínico del gluten en familiares de primer grado de celíacos.

Se consideró que los participantes mostraban una respuesta clínica a la DSG cuando en los cuestionarios utilizados la puntuación tras la supresión dietética del gluten era un 20% inferior a la puntuación basal. Se consideró el 20% como punto de corte para evaluar la respuesta clínica dado que permite evaluar cambios relevantes en el estado de salud de los sujetos. Además, tras analizar las diferentes respuestas a la restricción dietética observamos que una respuesta del 20% nos permitía discriminar e identificar una cohorte suficiente para poder identificar los factores implicados en la respuesta sintomática ante la modificación dietética.

Otro parámetro utilizado para evaluar la DSG fue la modificación de las características de las deposiciones a lo largo de las diferentes fases de la modificación dietética y su correlación con los síntomas clínicos existentes. Se determinó el número medio de deposiciones semanales y también como se modificaba su consistencia según la clasificación de Bristol en cada una de las diferentes etapas dietéticas.

3.3.4 RESPUESTA A LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA

Al analizar globalmente los resultados obtenidos, observamos, a través de los dos cuestionarios clínicos utilizados, que durante la DSG se consigue una mejoría clínica respecto a la situación basal y la sobrecarga de gluten. Comprobamos, mediante el índice CSI, como durante la supresión dietética de gluten aumenta la proporción de sujetos asintomáticos y a su vez disminuye la intensidad de los síntomas presentes. Hallazgos similares se obtienen con el índice GSRS. Esta mejoría clínica con la DSG ya ha sido demostrada por otros autores como Sainsbury et al³⁶² o Usai et al³⁶³ en otras patologías de origen funcional, comprobando como el SII. Además, Biesiekierski et al, han demostrado en un ensayo clínico mediante el cuestionario VAS (*visual analogy scale*) una mejoría del dolor, la distensión abdominal y una mayor satisfacción en la consistencia de las deposiciones con la DSG respecto al placebo en sujetos que presentaban una SGNC²²⁴. Por lo tanto, los pacientes que presentan síntomas digestivos de origen funcional presentan una mejoría clínica con la DSG.

En nuestra serie el número de deposiciones semanales, durante la fase de supresión del gluten, eran inferiores a las otras etapas. Antes de comenzar en el estudio los familiares refirieron una media de 8,4 deposiciones semanales, durante la DSG disminuyó a 8 deposiciones/semana y posteriormente tras la sobrecarga de gluten aumentaron a 9,8 deposiciones/semana. Aunque estos resultados alcanzaron significación estadística, en la práctica clínica parece una variación cuantitativa del número de deposiciones poco importante y que tenga poca repercusión en la sintomatología de los participantes.

Más interesante son las modificaciones que se producen en la consistencia de las deposiciones según la dieta. Durante la DSG, los familiares presentaron deposiciones de consistencia predominantemente blanda según la clasificación de Bristol, además refirieron una menor tasa de síntomas asociados. Sin embargo, según aumenta el contenido de gluten de la dieta disminuían la consistencia de las heces. De tal manera, tanto en situación basal como sobre todo durante la sobrecarga de gluten aumentaba la proporción de sujetos con heces líquidas (consistencia mousse, gelatina o líquida de la clasificación de Bristol). Distintos autores han demostrado como la disminución de la consistencia de las heces se relaciona con la sintomatología relacionada con patología de origen funcional como el SII o la diarrea funcional^{364, 365}. Aunque este dato no ha sido todavía demostrado para la SGNC, parece comprensible que al igual que sucede con otras patologías de origen funcional, la consistencia de las deposiciones se relacione con los síntomas ocasionados.

La respuesta a la DSG durante las diferentes fases del tratamiento dietéticos fue indiferente del genotipado HLA y de los hallazgos histológicos encontrados. Los sujetos que carecían de la predisposición genética necesaria para desarrollar la EC, y con ausencia de

alteraciones histológicas también respondían a la DSG. Esta ausencia de relación con los hallazgos genéticos e histológicos, asociada a una óptima respuesta a la supresión dietética del gluten, permite definir el gluten como principal elemento desencadenador de la sintomatología. No obstante, es necesario establecer cuáles son las variables implicadas con una superior respuesta clínica a la DSG.

La sintomatología existente al inicio del estudio modificaba los resultados obtenidos en los cuestionarios a lo largo de la modificación dietética. Los participantes que mostraban síntomas previos al inicio del estudio, demostraron disminución de la clínica significativa con la DSG. Sin embargo, en los individuos asintomáticos, la DSG no influía en los resultados observados en los cuestionarios en las diferentes etapas del estudio. Este estudio demuestra que la DSG es una eficaz herramienta terapéutica en los sujetos con síntomas digestivos, pero en los familiares asintomáticos no modifica el estado de salud como es lógico.

Al evaluar la respuesta a la DSG superior al 20%, determinada mediante el cuestionario CSI, observamos que es mayor en el sexo femenino. La tasa de mujeres que presentaron una mejoría clínica superior al 20% era dos veces superior que los hombres. Probablemente nuestros resultados estén influenciados por la mayor proporción de mujeres que presentaban clínica previamente. No obstante, la enfermedad celíaca es una patología que afecta con mayor frecuencia a las mujeres y la retirada del gluten ha demostrado una mejoría en la calidad de vida superior en este grupo^{366, 367}. También en diferentes patologías de origen funcional como el SII se ha observado una mayor respuesta a la supresión dietética en este colectivo³⁶⁸. Sin embargo, con el cuestionario GSRS no se evidenció este efecto.

Los familiares con enfermedades de origen autoinmune presentaban una respuesta clínica superior a la DSG determinado mediante el índice GSRS. La EC clásicamente ha demostrado su asociación con diferentes entidades de origen autoinmune^{369, 370} e incluso reportando la mejoría clínica de la patología autoinmune con la DSG. Sin embargo, la SGNC no ha demostrado su asociación con este tipo de patología, ni tampoco como se consigue una mejoría clínica con la DSG. Posiblemente el desencadenamiento de una respuesta innata tras el consumo de alimentos que contienen gluten implica una alteración de la permeabilidad intestinal. Este hecho puede favorecer que diferentes antígenos bacterianos o alimentarios desencadenen una respuesta inmune asociada que sea el origen de otras entidades mediadas inmunológicamente, pero estas hipótesis deberían ser certificadas prospectivamente demostrando si la sensibilidad al gluten se relaciona con enfermedades de origen autoinmune según la dieta sin gluten.

La edad de los participantes también influía en la respuesta a la modificación dietética. Los sujetos que presentaban una respuesta superior al 20% con el cuestionario CSI tenían una

edad menor (39 vs 43,2 años; $p=0,012$). Los niños han mostrado una mejoría clínica, serológica e histológica más temprana que los adultos en la EC^{14, 371}. En la SGNC es probable que la mayor duración del proceso limite la mejoría sintomática ocasionada por el gluten, sin embargo este hecho todavía no ha sido demostrado. No obstante, con el cuestionario GSRS no se consiguió demostrar esta relación.

El genotipado HLA y los hallazgos histológicos detectados no determinaban una respuesta superior al 20% en ninguno de los dos cuestionarios utilizados. Esta falta de relación, permite certificar la importancia de la SGNC en nuestra serie y la elevada proporción de individuos que la sufren.

El número medio de deposiciones semanales era superior en los familiares que tuvieron una respuesta superior al 20% en el cuestionario CSI (9,4 vs 7,9 dep/sem; $p=0,23$). Sin embargo, la importancia clínica de esta asociación es bastante limitada. La diferencia del número medio de deposiciones semanales es bastante reducida. Aunque hay que señalar que los participantes con una respuesta superior al 20% a la DSG tenían al inicio del estudio un predominio de deposiciones con una disminución de la consistencia. De tal manera, que los sujetos que tienen deposiciones líquidas y SGNC van a presentar una respuesta a la DSG superior. Los hallazgos obtenidos fueron observados con ambos cuestionarios, no obstante con el GSRS no alcanzaron significación estadística. Estos datos confirman las investigaciones de diferentes autores que demostraron que la supresión dietética de gluten permitía lograr una mejoría clínica en el SII con predominio de diarrea^{291, 295, 305, 363, 372}.

El título de anticuerpos antitransglutaminasa y anti gliadina fue inferior en los familiares que presentaron una respuesta superior al 20% a la DSG. Sorprendentemente, al contrario de lo que se esperaba encontrar, los individuos con un menor título serológicos de todos los anticuerpos utilizados, respondían mejor a la supresión dietética. Esta asociación, junto con los hallazgos histológicos y genéticos, pone en relieve la ausencia de relación de nuestros participantes con la enfermedad celíaca. Aunque estos datos hay que analizarlos con precaución, dado que como se utilizó como criterio de exclusión la necesidad de presentar un título de anticuerpos antitransglutaminasa negativo, el bajo nivel de anticuerpos detectados puede alterar los resultados obtenidos.

3.3.5 PRINCIPALES DEBILIDADES DE LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA.

Este trabajo consta de una parte experimental. Se modificaba la dieta según la presencia o la ausencia de gluten en los alimentos consumidos y se valoraba la presencia de

síntomas digestivos. El proyecto presenta un tamaño muestral superior al inicialmente esperado y con buen diseño metodológico, aunque presenta varias limitaciones.

En primer lugar, la ausencia de un grupo control limita la solidez de las conclusiones obtenidas. Probablemente con un grupo control de personas sanas no familiares de celíacos hubiese permitido conseguir resultados más consistentes. No se puede elucidar la importancia que pudo tener el grado de concienciación de los participantes en el estudio durante las diferentes fases de la modificación dietética. El conocimiento del beneficio de la DSG como tratamiento de la EC, debido a su relación con un familiar celíaco, hace que subjetivamente presentasen una predisposición a sentir una mejoría clínica con la supresión del gluten de la dieta y en contraposición una exacerbación de los síntomas durante la sobrecarga dietética. No obstante, observamos, a través de los dos cuestionarios clínicos utilizados, que los familiares sin sintomatología previa no presentaban ningún cambio clínico relevante. Por lo tanto, ante la dificultad existente de reclutar individuos sanos sin relación de parentesco con la EC, el grupo de familiares asintomáticos fue utilizado como grupo de comparación del experimento .

Otro aspecto metodológico que pudo limitar de forma importante los resultados obtenidos, es la ausencia de distribución del período de DSG y el período con sobrecarga de gluten de forma ciega y randomizada. El conocimiento por parte de los participantes del tipo de dieta a seguir en cada periodo y las consecuencias que se esperan de cada una de ellas puede ser una limitación a la hora de evaluar la mejoría clínica producida. Sin embargo, no realizamos el estudio de forma ciega y aleatorizada para simplificar el seguimiento dietético y prevenir posible abandonos durante el mismo.

Además, durante la sobrecarga de gluten los sujetos consumían su dieta habitual y una dosis controlada de gluten (15g), para originar los síntomas. No obstante, no fue cuantificada la ingesta total de gluten durante la última fase dietética. Pueden existir grandes variaciones en la cantidad de gluten consumidas y que no hayan sido valoradas, con el consecuente sesgo clínico asociado. Es decir, los síntomas ocasionados no fueron estratificados según la cantidad de gluten ingerido. La fase de sobrecarga de gluten fue diseñada metodológicamente para limitar el número de bajas producidas, al facilitar su seguimiento y administrar una mínima cantidad de gluten que desencadenase la sintomatología existente.

Hay que tener en cuenta que los participantes fueron seguidos durante un periodo de tiempo limitado. El tiempo que los diferentes sujetos permanecieron en el estudio fue aproximadamente de 2 meses. Este periodo de tiempo fue suficiente para detectar diferencias

clínicas según las diversas variedades dietéticas administradas, pero al ser un corto intervalo de tiempo no pudo considerar los efectos clínicos a largo plazo y la duración de los mismos. Dado el diseño del proyecto y el tamaño muestral conseguido era imposible aumentar el periodo de seguimiento. Estas consideraciones deben ser valoradas en el seguimiento periódico asistencial que realizaremos en la consulta de digestivo y que será la base de futuras líneas de investigación en este campo.

Finalmente la calidad de vida percibida por los familiares de primer grado de los celíacos puede ser un importante sesgo metodológico. Algunas investigaciones han reportado que una calidad de vida baja puede ocasionar una mayor percepción de la clínica asociada³⁷³⁻³⁷⁵. De esta manera, la calidad de vida puede ser un importante factor de confusión, para limitar este efecto en el siguiente apartado se desarrolla cual es la calidad de vida de los participantes de esta investigación.

4. CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD

4.1 ¿QUE ES LA CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD?

El concepto de calidad de vida relacionado con la salud (CVRS) permite evaluar los resultados en salud obtenidos, al haber quedado antiguas las medidas tradiciones de morbimortalidad y esperanza de vida. La CVRS tiene en cuenta la percepción del paciente, sus deseos y motivaciones en el proceso de toma de decisiones en salud así como en la evaluación de la calidad de la asistencia sanitaria.

La incorporación de la medida de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud ha sido una de las mayores innovaciones en las evaluaciones sanitarias³⁷⁶. Esencialmente incorpora la percepción del paciente, como una necesidad en la evaluación de los resultados en salud. Es necesario desarrollar los instrumentos necesarios para que esa medida sea válida, confiable y aporte evidencia empírica con base científica al proceso de toma de decisiones en salud³⁷⁷.

El modelo biomédico tradicional excluye el hecho de que en la mayoría de las enfermedades el estado de salud está profundamente influido por el estado de ánimo, los mecanismos de afrontamiento a las diversas situaciones y el soporte social. Es evidente que

estos aspectos de máxima importancia en la vida de los seres humanos serán los que más influyan a la hora de que los pacientes evalúen su calidad de vida³⁷⁸.

La utilización de medidas de CVRS permite:

1. La toma de decisiones en el sector salud desde la percepción de los usuarios. Basándose en una evidencia empírica de base científica, que considere los indicadores clásicos cuantitativos (mortalidad, morbilidad, expectativa de vida), los costos, y los indicadores cualitativos que expresan el impacto sobre la calidad de vida y la satisfacción del paciente.

2. Analizar el proceso de atención sanitaria, tanto en lo que se hace desde el punto de vista técnico (decisiones terapéuticas, utilización de tecnologías de diagnóstico y tratamiento con fundamento sólido), como la evaluación de las relaciones interpersonales, basadas en un manejo científico, ético y humano de la relación médico-paciente.

3. Permite el estudio de los factores que determinan la percepción del paciente en los diferentes momentos de la vida y de la enfermedad. El proceso de adaptación a la enfermedad crónica permite reconocer los mecanismos que inciden negativamente en la CVRS del paciente y encarar intervenciones psicosociales que promuevan el mayor bienestar posible.

4. Minimizar las decisiones exclusivas en base a costos. Estas medidas son éticamente inaceptables y los profesionales de la salud deberían insistir en la necesidad de tomar en cuenta los elementos planteados.

4.2 CALIDAD DE VIDAD RELACIONADA CON LA SALUD EN LOS FAMILIARES DE PRIMER GRADO DE LOS PACIENTES CELÍACOS

En este apartado se discutirá por separado los resultados en CVRS mediante los dos cuestionarios utilizados. Ambos índices fueron contestados por los 139 participantes de nuestra serie al inicio de la investigación, para que no fuese influenciada por las diferentes fases de la modificación dietética. El objetivo era conocer cuál era la situación de la CVRS de los familiares de primer grado relacionados con la salud.

4.2.1 SF36v2

El test SF36v2 permite evaluar dos áreas complejas del organismo: el Estado Físico (área física) y el Bienestar Emocional (área afectiva), a través del estudio de 8 dimensiones diferentes. Estos resultados deben ser analizados de forma separada, aunque para su interpretación es obligatorio considerar ambas áreas.

Las mujeres presentan una menor CVRS en ambas áreas, sin embargo es el área del Estado Físico donde alcanza significación estadística. Las mujeres consideran que su calidad de vida respecto a su capacidad física es inferior a la masculina, principalmente por afectación de las dimensiones de la limitación del rol de problemas físicos y también de la vitalidad. Esta mayor repercusión femenina del área física fue descrita por Aparicio et al, que establecía mediante el cuestionario SF36 y el FIQ (*Fibromyalgia Impact Questionnaire*) en una serie de pacientes con fibromialgia, que las mujeres mostraban una mayor propensión a la fatiga que los varones^{379, 380}, sin afectarse llamativamente el área afectiva.

Los familiares con una enfermedad de origen autoinmune asociada tenían una CVRS inferior, debido a una afectación del área del Estado Físico. La disminución de la capacidad física corporal se producía a expensas de la dimensión de limitación del rol de problemas emocionales. Similares hallazgos fueron reportados por diversos grupos de investigación, estableciendo que los individuos con enfermedades de origen autoinmune tenían una disminución del Estado Físico^{381, 382}. No obstante, a diferencia de nuestro estudio, estas publicaciones establecían que la principal dimensión alterada era la vitalidad³⁸³. Bazzichi et al³⁸⁴ y Hurst et al³⁸⁵ demostraron una afectación asociada de ambas áreas (física y afectiva), pero a diferencia de nuestro trabajo la EAI se encontraba en brote agudo lo cual ocasionaba una tendencia a la depresión.

De igual modo, el área del Estado Físico se encontraba afectada, con la consecuente disminución de la CVRS, en los participantes que presentaban síntomas digestivos al inicio de la investigación. Como parece lógico, los participantes que presentaban clínica gastrointestinal asociada, tenían una afectación del área física. Al ser síntomas de intensidad leve, de larga evolución a los que los sujetos no habían dado mucha importancia (nunca habían preguntado por ellos), no ocasionaba una alteración del área afectiva (Bienestar Emocional), a diferencia de lo que ocurre en otras publicaciones^{386, 387}. Sin embargo, al estratificar la intensidad de los síntomas a través de los cuestionarios CSI y GSRS observamos una alteración de las dos áreas de salud y de las 8 dimensiones involucradas en los sujetos que tenían síntomas intensos. De esta manera permite confirmar que la presencia de síntomas leves no altera el área afectiva, pero al aumentar la intensidad de la clínica se origina un daño en la esfera emocional que repercute en la CVRS.

La consistencia de las deposiciones también alteraba la CVRS. Principalmente las deposiciones líquidas (mousse, gelatina y líquidas de la clasificación de Bristol) y en menor medida las deposiciones de consistencia dura (caprinas, fragmentadas y duras de la clasificación de Bristol) tenían una alteración del área del Estado Físico. Todas las dimensiones implicadas en el área física estaban afectadas, la función física, la función social, las limitaciones

del rol por problemas físicos y la limitaciones del rol por problemas emocionales. Esta repercusión de la textura de las heces sobre el área del Estado Físico fue descrita recientemente por Cappello et al³⁸⁸. Aunque otro estudio, obtuvo similares resultados los individuos más afectados eran los que tenían un aumento de la consistencia de las deposiciones³⁸⁹. Las diferencias encontradas con nuestro estudio, puede ser debidas a que esta investigación tenían como objetivo evaluar la mejoría de la calidad de vida según se actuaba sobre el estreñimiento. Además los sujetos evaluados presentaban un estreñimiento de mayor intensidad que en nuestra serie.

La presencia del HP en las biopsias gástricas en nuestra serie no alteraba ninguna de las dos áreas relacionadas con la CVRS. Estos hallazgos difieren de diferentes publicaciones que establecen que la presencia gástrica del HP origina una alteración en la CVRS^{390, 391}. No obstante, las puntuaciones obtenidas en los sujetos con HP de nuestro estudio eran inferiores en todas las dimensiones excepto en la percepción general de la salud. Posiblemente el aumento de la muestra y del número de sujetos afectados por esta bacteria (aumento de la potencia estadística) nos permita encontrar esta asociación.

Paradójicamente a lo esperado, los individuos que presentaban atrofia vellositaria (Marsh IIIA), obtenían una mejor CVRS que los sujetos sin alteraciones histológicas. Los participantes con un Marsh 0 mostraron una disminución del área afectiva (Bienestar Emocional) debido a la repercusión de las dimensiones de dolor, vitalidad y salud mental. Hasta la fecha actual no hay estudios publicados que hayan evaluado la CVRS según los hallazgos histológicos relacionados con la EC. La afectación de la calidad de vida en ausencia de alteraciones histológicas puede ser debida a varios aspectos, por un lado el número reducido de sujetos con atrofia vellositaria y por otro lado la posibilidad de encontrar alteraciones físicas y emocionales dentro del contexto de la SGNC.

El genotipado HLA no alteraba la CVRS percibida por los participantes de nuestro estudio. Sin embargo, los individuos con un alto riesgo genético (homocigotos para los alelos HLA DQ2 o DQ8) presentaron mejores puntuaciones en la mayoría de las dimensiones, sobretodo en el área de Estado Físico. Ninguna investigación ha publicado resultados respecto a este aspecto, sin embargo los datos obtenidos respecto a la falta de relación entre el haplotipo HLA y la CVRS puede ser debido a que la SGNC es independiente del riesgo genético para la EC.

4.2.2 PGWBI

El cuestionario PGWBI evalúa 6 dimensiones diferentes el grado de bienestar psicológico: ansiedad, depresión, estado de ánimo positivo, vitalidad, autocontrol y salud general. Puntuaciones obtenidas entre 0 a 60 informa de malestar severo, entre 61 a 72 establece un malestar moderado y puntuaciones superiores a 73 informan de bienestar positivo.

Las mujeres tenían una mayor proporción de síntomas intensos y moderados que los varones, sin embargo estos datos no fueron estadísticamente significativos. Diversas publicaciones demostraron que las mujeres presentaban un malestar general superior que los varones en patologías diversas como la cardiopatía isquémica³⁹² o enfermedades neuromusculares hereditarias³⁹³. Las discrepancias respecto a nuestro estudio pueden ser debido a que estas enfermedades afectan predominantemente a varones y además, la intensidad de los síntomas de las enfermedades cardiovasculares o de la cardiopatía isquémica es superior a los síntomas leves de nuestra serie, sin embargo es probable dada la tendencia obtenida que aumentando el tamaño muestral se consigan diferencias estadísticamente significativas.

Igualmente, los familiares con enfermedades de origen autoinmune (EAI) presentaron un malestar psicológico superior, pero sin observar asociación significativa. Es probable que los sujetos con EAI asociadas muestren una mayor afectación psicológica sobre todo si la evaluación se realiza durante el brote. No obstante, este hecho todavía no ha sido publicado. En nuestro caso el aumento del tamaño muestral, incrementando el número de sujetos con patología autoinmune puede permitir encontrar asociación estadísticamente significativa.

La presencia de clínica digestiva ocasionaba un aumento del malestar psicológico. Los síntomas que originaba una mayor afectación eran el dolor abdominal principalmente, la diarrea, distensión abdominal y el estreñimiento. Estos resultados coinciden con la evidencia científica existente hasta el momento. Chan et al³⁹⁴ y Enck et al³⁹⁵ demostraron utilizando el cuestionario PGWBI, como la presencia de síntomas digestivos originaba un deterioro del bienestar psicológico. En nuestro estudio se cuantificó mediante los cuestionarios CSI y GSRS el grado de sintomatología presente. Observamos, con ambos cuestionarios, que al aumentar la intensidad de la clínica existente se originaba un incremento del malestar psicológico. Por lo tanto, en los familiares de primer grado de los pacientes celíacos el incremento de la magnitud de los síntomas lleva asociado un deterioro del bienestar psicológico. Esta correlación fue demostrada para el cuestionario GSRS, en pacientes que habían sido sometidos a un trasplante renal y tenían síntomas digestivos³⁹⁴. Sin embargo la interacción existente con el índice CSI todavía no ha sido publicada.

La disminución de la consistencia de las deposiciones originaba un progresivo deterioro psicológico. Según disminuía la textura de las heces se producían un aumento del malestar psicológico. En el análisis de los diferentes síntomas clínicos, la diarrea demostró su relación con el estado de bienestar psicológico. Era el segundo síntoma que mayor deterioro originaba. Münch et al³⁹⁶ evidenció en pacientes con colitis ulcerosa como a mayor número de deposiciones se originaba una menor puntuación del índice PGWBI. No obstante, este estudio presentaba la limitación que a mayor número de deposiciones la intensidad del brote es superior por lo tanto el número de deposiciones puede ser un factor de interacción asociado. No hay estudios publicados hasta la fecha actual que demuestren la relación que hemos observado entre la consistencia de las heces y el cuestionario PGWBI.

La calidad de vida evaluada a través del índice PGWBI no era influenciada por la presencia del HP. No se observó un deterioro psicológico superior en los sujetos que tenían formas bacilares en las biopsias gástricas. De tal manera, en nuestro estudio no fue demostrada una influencia del HP sobre el grado de bienestar psicológico.

Tampoco los hallazgos histológicos encontrados afectaban a los resultados obtenidos en el cuestionario PGWBI. Baiardini et al³⁹⁷ demostró en una cohorte de paciente celíacos italianos cual era el estado de bienestar psicológico de estos pacientes. Los celíacos con síntomas asociados tenían un importante malestar psicológico, mientras que los celíacos asintomáticos reflejaron un superior bienestar psíquico. El grado de lesión histológica parece no influir en el estado psicológico, sin embargo la presencia de síntomas asociados provoca un descenso de las puntuaciones PGWBI. De manera que podemos establecer que la SGNC puede originar un mayor deterioro de la esfera psicológica que la propia EC.

Los familiares con un genotipado HLA de riesgo para la EC presentaron un mayor malestar psicológico, sin embargo esta asociación no alcanzó significación estadística. El incremento del tamaño muestral, sobretudo en sujetos sin carga genética, podría incrementar la potencia estadística del estudio para poder demostrar esta asociación. Sin embargo, con los resultados obtenidos se establece una falta de relación de la predisposición genética y de alteraciones histológicas con el estado de bienestar psicológico. Al observar la relevante influencia de la clínica existente sobre la esfera afectiva, permite resaltar la gran influencia que la SGNC tiene en este ámbito, independientemente del genotipado HLA y las alteraciones histológicas encontradas.

5. SIGNOS INDIRECTOS DE MALABSORCIÓN

5.1 INFLUENCIA EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO

La EC se asocia con una disminución de la mineralización ósea, presentando una prevalencia aumentada de osteopenia y osteoporosis respecto a la población general. Mustalahti et al³⁹⁸ demostraron en 16 pacientes con una EC silente como presentaba una disminución de la densidad mineral ósea, comparado con los controles, que se recuperaba tras la instauración de la DSG. Estos resultados fueron confirmados en un estudio finlandés, que evaluaron el contenido mineral óseo, en una muestra mayor, de 77 celíacos adultos de recién diagnóstico sin remisión y tras la remisión con DSG³⁹⁹.

Los familiares de primer grado constituyen el principal grupo de riesgo para desarrollar la EC. Tal como hemos demostrado, muchos de ellos presentan alteraciones histológicas asociadas. Además Esteve et al²¹⁸ estableció que de desarrollar una alteración de la densidad mineral ósea en los familiares con enteritis linfocítica era similar a la de los celíacos.

En nuestra serie, realizamos una densitometría ósea lumbar y de la cadera a 92 de los familiares, todos ellos accedieron a la realización de la gastroscopia. Los resultados obtenidos fueron indicados a través de los dos scores utilizados T-score y el Z-score. El T-score es el índice más utilizado en la literatura científica. Pese a que la mayoría de los participantes eran adultos jóvenes, principalmente padres de niños recién diagnosticados de la enfermedad, con una edad media de 42 años, en nuestro trabajo detectamos una alta prevalencia de osteopenia y osteoporosis lumbar y de la cadera. La prevalencia detectada es superior a la que la población española, donde la prevalencia de osteoporosis en la columna lumbar en adultos de 45 a 49 años en de 4,31% y en el cuello femoral de 0%⁴⁰⁰. Mientras que en nuestra serie detectamos una prevalencia de osteoporosis del 16,3% a nivel de la columna lumbar y del 13% en la cadera similar a la prevalencia de lesiones óseas detectadas en la EC.

Al contrario de lo que inicialmente cabría esperar, los hallazgos histológicos observados no originaban una mayor alteración de la mineralización ósea. Los sujetos con atrofia vellositaria eran los que presentaron una mayor proporción de osteoporosis lumbar, sin embargo ninguno demostró una alteración de la densidad mineral ósea lumbar. En contraposición, un elevado porcentaje de individuos sin lesión histológica tenían alteraciones de la mineralización ósea lumbar y del cuello femoral. Clásicamente se establece que la inflamación de los primeros segmentos intestinales origina una disminución de la absorción de calcio y vitamina D^{216,219}. Este efecto origina un hiperparatiroidismo secundario que en último lugar provoca una desmineralización ósea⁴⁰¹. Estas discrepancias encontradas sugieren la

posibilidad de que algún otro factor asociado pueda originar la lesión mineral ósea. Además el número de sujetos con atrofia vellositaria es reducido, siendo recomendable seleccionar a más familiares con un Marsh III.

El riesgo genético se relacionaba con el metabolismo mineral óseo a nivel de la columna lumbar. Los sujetos un genotipado HLA de alto riesgo (homocigotos para los alelos DQ2 o DQ8) demostraron una mayor desmineralización ósea, mientras que la ausencia de la predisposición genética para la EC se relacionó con una menor frecuencia de lesiones óseas. Un estudio realizado sobre la población griega con osteoporosis, donde determinaron los haplotipos genéticos del sistema HLA I y II que se asociaban con mayor frecuencia a una desmineralización ósea. Los alelos HLA DQ2 y DQ 8 no presentaban una mayor prevalencia de alteraciones de la densidad mineral ósea. Los genes principalmente implicados fueron HLA B7, DR15 y DQ 6⁴⁰². En nuestro estudio, se observó que dentro de los familiares que realizaron la densitometría, los sujetos con un riesgo genético alto tenían una mayor tasa de enteritis linfocítica. La alteración ósea puede ser debida a una disminución de la absorción de calcio y vitamina D secundario a la inflamación intestinal. De esta manera es probable que el genotipado HLA actúe como un factor de interacción del daño mineral óseo y tenga un papel protagonista.

El HP originaba una disminución progresiva de la densidad mineral ósea a nivel de la columna lumbar. A nivel del cuello femoral también provocaba un incremento de las lesiones de la mineralización ósea, sin embargo fueron estadísticamente significativas. Las lesiones en la columna lumbar se presentan antes que en el cuello femoral⁴⁰³. La ausencia de asociación en la cadera puede ser debido a un menor tiempo de evolución de las lesiones. Dos estudios sudamericanos demostraron la falta de asociación entre el HP y la densidad mineral ósea, sin embargo estas investigaciones demostraron deficiencias metodológicas^{404, 405}. Aunque el HP origina una inflamación gástrica e intestinal que puede alterar la función de absorción. Diferentes nutrientes han demostrado una menor absorción como el hierro, vitamina B₁₂, vitamina C...²⁰⁶. El calcio y la vitamina D también pueden ser absorbidas en menor medida en presencia del HP, originando graves problemas de la mineralización ósea.

5.2 INFLUENCIA SOBRE EL METABOLISMO DEL HIERRO Y LA ANEMIA

Los enfermos celíacos tienen una mayor predisposición a la anemia ferropénica⁴⁰⁶. Diferentes estudios han demostrado que la inflamación intestinal origina una disminución de la absorción del hierro, desencadenando una anemia microcítica e hipocrómica². Como hemos observado a lo largo de esta investigación, muchos de los familiares de primer grado presentan

lesiones histológicas. Estas alteraciones pueden originar un descenso de la cifras de hemoglobina.

En nuestro estudio, demostramos como los individuos con un Marsh IIIA tenían menores niveles de hemoglobina y de ferritina. No obstante, no demostramos diferencias entre el Marsh 0 y I. Diferentes publicaciones certifican que la atrofia vellositaria de la EC origina una anemia ferropénica como la observada en nuestro trabajo^{1, 102}. No obstante, la ausencia de alteración de la hemoglobina y del metabolismo de hierro en los sujetos con enteritis linfocítica se puede justificar dado que la mayoría del incremento de los linfocitos intraepiteliales intestinales se producen por causa no celíaca. Para comprobar esta hipótesis hace falta un estudio prospectivo que valore la persistencia del Marsh I tras la erradicación del HP y el seguimiento de una DSG.

Los niveles de hierro, ferritina y hemoglobina no eran influenciados por el genotipado HLA. Las cifras de hemoglobina eran similares independientemente de la presencia de la predisposición genética para desarrollar la EC. Murray et al⁴⁰⁷ demostraron que el riesgo genético no influye en la aparición de la anemia. Estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos en nuestra investigación, certificando que el genotipado HLA no modifica los niveles de hemoglobina.

El HP provoca una disminución de los niveles de hemoglobina^{408, 409}. Las guías actuales consideran la erradicación del HP una posibilidad a tener en cuenta en el estudio de la anemia de origen oculto^{327, 410}. La inflamación de la mucosa y submucosa gástrica e intestinal, origina una alteración en la absorción del hierro en el organismo. Al disminuir el aporte férrico origina un descenso de las reservas orgánicas (ferritina) y en último término, provoca una disminución de los niveles de hemoglobina. En nuestra serie, el HP es el principal factor independiente que origina una disminución de la hemoglobina.

6. ¿DEBE REALIZARSE LA BIOPSIA DUODENAL A TODOS LOS FAMILIARES CON LA PREDISPOSICIÓN GENÉTICA?

6.1 RESULTADO DE LAS DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE CRIBADO

El principal interrogante a responder, que a la vez es uno de los objetivos de este proyecto, es cuál es la mejor estrategia para realizar el cribado en los familiares de primer

grado de los pacientes celíacos. Estos individuos constituyen el principal grupo de riesgo para desarrollar la EC, por este motivo la necesidad de realizar un screening sobre el mismo actualmente se considera fundamental^{218, 287, 411}. El problema es que no está determinada la mejor forma de llevarlo a cabo. En nuestro estudio, si hubiésemos realizado el cribado en aquellos sujetos que tienen una serología celiaca positiva no hubiésemos realizado ninguna EDA ni tampoco detectado ninguna lesión histológica, obviando entre ellas a 5 celíacos con atrofia vellositaria. Diferentes estudios han demostrado que los procedimientos serológicos en este grupo de riesgo no son lo suficientemente eficaces para diagnosticar a todos los sujetos^{186, 187, 253}.

En cambio, si realizamos gastroscopia aquellos sujetos que presentan una enfermedad de origen autoinmune asociada sólo hubiésemos diagnosticado un pequeño porcentaje de sujetos con enteritis linfocítica y ninguno con atrofia vellositaria. Aunque la enfermedad celiaca tiene un componente inmune importante y se asocia con otras enfermedades de origen autoinmune¹⁸³ (CBP, HAI, tiroiditis...) el cribado de la enfermedad basado en comorbilidades autoinmunes no parece mejorar el rendimiento diagnóstico.

La realización del screening en los familiares que presentan síntomas digestivos asociados, muestra unos mejores resultados. Utilizando esta estrategia nos habría permitido detectar aproximadamente el 60% de los sujetos con Marsh I y III no detectado mediante técnicas serológicas convencionales. Probablemente este sea el grupo más interesante sobre el que hay que actuar. Dado que al manifestar sintomatología clínica, sean los individuos que vayan a responder con mayor probabilidad a la DSG⁴¹². Sin embargo, esta estrategia no permite el diagnóstico de todos los sujetos. Es posible que intentar diagnosticar la EC en sujetos adultos, un porcentaje significativo no presente síntomas típicos de la patología, predominando los síntomas atípicos e incluso muchos de ellos son asintomáticos, al contrario de lo que sucede en la edad pediátrica¹⁴. Además, tal como sucede en nuestra serie un elevado porcentaje de sujetos tienen clínica digestiva en ausencia de alteraciones histológicas. Este fenómeno fue interpretado como una SGNC por diversos autores^{228, 256} al no cumplir los criterios necesarios para diagnosticar la patología.

Finalmente la mejor estrategia para detectar una mayor proporción de lesiones relacionadas con la EC sea la realizar una EDA con toma de biopsia duodenal a todos los familiares de primer grado que tenga un genotipado de riesgo para desarrollar la enfermedad¹⁹³. Mediante esta estrategia permite la identificación de un mayor número de lesiones que con los anteriores sistemas de cribado y ha sido defendida por diversos autores como Rubio-Tapia et al o Esteve et al^{218, 412}. No obstante, es una estrategia que conlleva un mayor número de exploraciones endoscópicas, sin embargo permitiría aumentar la parte

visible del iceberg celíaco⁴¹³⁻⁴¹⁵ que se detecta. Además una parte de los sujetos diagnosticados no presentan sintomatología asociada, lo cual origina una menor implicación en el tratamiento dietético con el consecuente aumento del número de transgresiones dietéticas que se producen.

6.2 PRINCIPALES LIMITACIONES PARA LA GENERALIZAR EL ESTUDIO DE LA BIOPSIA DUODENAL EN SUJETOS CON PREDISPOSICIÓN GENÉTICA.

La estrategia diagnóstica de realizar la gastroscopia con toma de biopsia duodenal a todos los familiares que tenían un genotipado HLA de riesgo, ha demostrado ser la intervención que permite detectar un mayor número de lesiones. Sin embargo, esta estrategia no está exenta de limitaciones, que impiden conseguir la optimización terapéutica para detectar el mayor número de lesiones histológicas.

En primer lugar, muchos familiares de primer grado de pacientes celíacos ingieren una dieta parcialmente sin gluten. Ya sea por comodidad, cocinando los alimentos una única vez, o por seguridad, al disminuir el número de alimentos que contienen gluten impiden la realización de transgresiones dietéticas del celiaco. Sin embargo, el descenso de la cantidad de gluten ingerido puede limitar la detección de las lesiones histológicas. Las alteraciones intestinales se originan como una respuesta a un agresor externo, el gluten. Al disminuir el contenido de gluten de la dieta conlleva una probable menor respuesta intestinal. Por este motivo, si se decide realizar una EDA para obtener biopsias duodenales, debe recomendarse la ingesta normal de gluten sin limitaciones durante el mes previo a la exploración. Además, la cantidad de gluten ingerida podría calcularse detectando en heces productos derivados de la degradación del gluten como el 33-mer gliadina. La detección de este producto mediante inmunocromografía y ELISA ha sido desarrollada por el grupo de trabajo de Carolina Sousa. Este procedimiento nos permitiría conocer la cantidad de gluten ingerida para valorar la realización de la gastroscopia o esperar a consumir más alimentos con gluten.

Otra posible limitación, consiste en que al realizar el cribado a los familiares con síntomas asociados, el seguimiento a largo plazo de la DSG va a ser superior. Los individuos con lesiones histológicas y síntomas asociados que se alivian con la DSG van a realizar una DSG de forma más estricta. En contraposición, los sujetos asintomáticos van a cometer un mayor número de transgresiones dietéticas al no presentar síntomas asociados. Por esta razón, la realización de una estrategia de cribado que permita detectar más alteraciones, pero sin embargo no se traduzca en cambio terapéutico no parece ser una estrategia muy eficaz.

Posiblemente si realizamos la EDA a los sujetos sintomáticos detectemos menos lesiones, pero en contraposición el seguimiento dietético a la DSG será mayor.

Finalmente, la estrategia descrita incrementa el número de exploraciones endoscópicas realizadas que debe asumir el sistema nacional de salud. Aproximadamente, entre el 2-5% de la población española son familiares de primer grado adultos de celíacos y tienen una predisposición genética. Esto significa que entre 945.400 a 2.3635.000 individuos deberían realizarse una gastroscopia para conseguir las biopsias duodenales. El coste de cada EDA se estima aproximadamente de 150€, lo cual supone que el gasto derivado de esta estrategia es bastante elevado, varía entre 141.810.000€ y 3.545.250.000€. Si además, la estrategia no supone ningún cambio terapéutico en los sujetos respecto a la ingesta de gluten, este procedimiento terapéutico no es eficiente ni coste-efectivo.

CONCLUSIONES

1. Existe un alto porcentaje de familiares con haplotipo HLA de riesgo con atrofia intestinal y linfocitosis duodenal no detectado mediante los procedimientos serológicos de cribado convencionales.
2. Una elevada proporción de familiares de paciente celíacos presentan clínica digestiva asociada y afectación de la calidad de vida relacionada con la salud.
3. Los síntomas y la afectación en la calidad de vida se asocian con el sexo femenino, pero no parecen tener relación con la predisposición genética para enfermedad celiaca ni con la presencia de lesiones histológicas duodenales.
4. La modificación en el contenido de gluten en la dieta es capaz de modificar los síntomas digestivos, pero sin presentar tampoco relación con la genética o la histología sospechosa de enfermedad celiaca.
5. La edad de los implicados, la presencia de síntomas clínicos y de enfermedades autoinmunes constituyen los principales factores asociados a la respuesta clínica a la retirada del gluten en la dieta.
6. La influencia del gluten en la sintomatología sin relación con la genética ni la histología no estaría relacionado con la enfermedad celiaca y podría representar una forma de sensibilidad al gluten no celiaca en este grupo de sujetos.
7. Los familiares de los celíacos tienen una elevada prevalencia de alteraciones en la densidad mineral ósea que deberían ser evaluadas.
8. La presencia del HP y el genotipado HLA de riesgo para celiaca constituyen los principales factores predictivos para el desarrollo de alteraciones en la densidad mineral ósea en estos sujetos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fasano A, Catassi C. Clinical practice. Celiac disease. *The New England journal of medicine* 2012;367:2419-26.
2. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *The New England journal of medicine* 2007;357:1731-43.
3. Green PH, Jabri B. Coeliac disease. *Lancet* 2003;362:383-91.
4. Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet* 2009;373:1480-93.
5. Osteoporosis patients should be screened for celiac disease. Low bone mineral density may be associated with this intestinal disease. *Health News* 2005;11:9-10.
6. Rivera E, Assiri A, Guandalini S. Celiac disease. *Oral diseases* 2013.
7. Tavakkoli A, DiGiacomo D, Green PH, Lebwohl B. Vitamin D status and concomitant autoimmunity in celiac disease. *Journal of clinical gastroenterology* 2013;47:515-9.
8. Ludvigsson JF, Rubio-Tapia A, van Dyke CT, Melton LJ, 3rd, Zinsmeister AR, Lahr BD, et al. Increasing incidence of celiac disease in a North American population. *The American journal of gastroenterology* 2013;108:818-24.
9. Biagi F, Trotta L, Alfano C, Balduzzi D, Staffieri V, Bianchi PI, et al. Prevalence and natural history of potential celiac disease in adult patients. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2013;48:537-42.
10. Rodrigo L, Garrote JA, Vivas S. [Celiac disease]. *Medicina clinica* 2008;131:264-70.
11. Bai JC, Fried M, Corazza GR, Schuppan D, Farthing M, Catassi C, et al. World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease. *Journal of clinical gastroenterology* 2013;47:121-6.
12. Kratzer W, Kibele M, Akinli A, Porzner M, Boehm BO, Koenig W, et al. Prevalence of celiac disease in Germany: a prospective follow-up study. *World journal of gastroenterology : WJG* 2013;19:2612-20.
13. Catassi C. [To screen or not to screen? The case of celiac disease]. *Recenti Prog Med* 1996;87:519-22.
14. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 2008;103:2360-5; quiz 6.
15. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Martinez J, Gonzalez MC, Martin S, Martin J, et al. Human recombinant anti-transglutaminase antibody testing is useful in the diagnosis of silent coeliac disease in a selected group of at-risk patients. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2003;15:479-83.
16. Murray JA, Van Dyke C, Plevak MF, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton LJ, 3rd. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950-2001. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2003;1:19-27.
17. Cook B, Oxner R, Chapman B, Whitehead M, Burt M. A thirty-year (1970-1999) study of coeliac disease in the Canterbury region of New Zealand. *N Z Med J* 2004;117:U772.
18. Casellas F, Lopez Vivancos J, Malagelada JR. Current epidemiology and accessibility to diet compliance in adult celiac disease. *Revista espanola de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva* 2006;98:408-19.
19. Casellas i Jorda F. [Celiac disease]. *Medicina clinica* 2006;126:137-42.
20. Catassi C. The world map of celiac disease. *Acta gastroenterologica Latinoamericana* 2005;35:37-55.
21. Rawashdeh MO, Khalil B, Raweily E. Celiac disease in Arabs. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 1996;23:415-8.
22. Paulley JW. Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhea; jejunal and lymph-node biopsies. *British medical journal* 1954;2:1318-21.
23. Royer M, Croxatto O, Biempica L, Balcazar Morrison AJ. [Duodenal biopsy by aspiration under radiosopic control]. *Prensa medica argentina* 1955;42:2515-9.
24. Crosby WH, Kugler HW. Intraluminal biopsy of the small intestine; the intestinal biopsy capsule. *The American journal of digestive diseases* 1957;2:236-41.
25. Brandborg LL, Rubin GE, Quinton WE. A multipurpose instrument for suction biopsy of the esophagus, stomach, small bowel, and colon. *Gastroenterology* 1959;37:1-16.
26. Sakula J, Shiner M. Coeliac disease with atrophy of the small-intestine mucosa. *Lancet* 1957;273:876-7.
27. Doniach I, Shiner M. Duodenal and jejunal biopsies. II. Histology. *Gastroenterology* 1957;33:71-86.

28. Rodrigo L, Riestra S, Fuentes D, Gonzalez S, Lopez-Vazquez A, Lopez-Larrea C. Diverse clinical presentations of celiac disease in the same family. *Revista espanola de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva* 2004;96:612-6; 416-9.
29. Collin P, Julkunen R, Lehtola J, Maki M, Rasmussen M, Reunala T, et al. [Celiac disease, treatment guideline]. *Duodecim; laaketieteellinen aikakauskirja* 1997;113:82-7.
30. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nature reviews Immunology* 2002;2:647-55.
31. Louka AS, Sollid LM. HLA in coeliac disease: unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens* 2003;61:105-17.
32. Margaritte-Jeannin P, Babron MC, Bourgey M, Louka AS, Clot F, Percopo S, et al. HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue Antigens* 2004;63:562-7.
33. Ivarsson A, Persson LA, Nystrom L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta paediatrica* 2000;89:165-71.
34. Ivarsson A, Persson LA, Hernell O. Does breast-feeding affect the risk for coeliac disease? *Advances in experimental medicine and biology* 2000;478:139-49.
35. Hadithi M, von Blomberg BM, Crusius JB, Bloemena E, Kostense PJ, Meijer JW, et al. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Annals of internal medicine* 2007;147:294-302.
36. Lopez-Hoyos M, Bartolome-Pacheco MJ, Castro B, Fernandez F, de las Heras Castano G. [Screening of celiac disease in first-degree relatives]. *Medicina clinica* 2003;120:132-4.
37. Louka AS, Lie BA, Talseth B, Ascher H, Ek J, Gudjonsdottir AH, et al. Coeliac disease patients carry conserved HLA-DR3-DQ2 haplotypes revealed by association of TNF alleles. *Immunogenetics* 2003;55:339-43.
38. Garrote JA, Arranz E, Telleria JJ, Castro J, Calvo C, Blanco-Quiros A. TNF alpha and LT alpha gene polymorphisms as additional markers of celiac disease susceptibility in a DQ2-positive population. *Immunogenetics* 2002;54:551-5.
39. Brottveit M, Beitnes AC, Tollefsen S, Bratlie JE, Jahnsen FL, Johansen FE, et al. Mucosal cytokine response after short-term gluten challenge in celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. *The American journal of gastroenterology* 2013;108:842-50.
40. 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;50:624-8.
41. Diaz de Entresotos Villazan L, de la Rubia Fernandez L, Lopez Hoyos M, Ruiz de Alegria C, Sanchez Velasco P, Fernandez Garcia P. [Study of celiac disease in the pediatric population of Cantabria (Spain) and first-degree relatives]. *Gastroenterologia y hepatologia* 2008;31:53-8.
42. Greenwald RJ, Oosterwegel MA, van der Woude D, Kubal A, Mandelbrot DA, Boussiotis VA, et al. CTLA-4 regulates cell cycle progression during a primary immune response. *European journal of immunology* 2002;32:366-73.
43. Lee YH, Harley JB, Nath SK. CTLA-4 polymorphisms and systemic lupus erythematosus (SLE): a meta-analysis. *Human genetics* 2005;116:361-7.
44. Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003;423:506-11.
45. Song GG, Kim JH, Kim YH, Lee YH. Association between CTLA-4 polymorphisms and susceptibility to Celiac disease: A meta-analysis. *Hum Immunol* 2013;74:1214-8.
46. Simone R, Brizzolara R, Chiappori A, Milintenda-Floriani F, Natale C, Greco L, et al. A functional soluble form of CTLA-4 is present in the serum of celiac patients and correlates with mucosal injury. *Int Immunol* 2009;21:1037-45.
47. Pompa M, Giuliani MM, Palermo C, Agriesti F, Centonze D, Flagella Z. Comparative Analysis of Gluten Proteins in Three Durum Wheat Cultivars by a Proteomic Approach. *J Agric Food Chem* 2013.
48. AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology* 2006;131:1977-80.
49. Richman E. The safety of oats in the dietary treatment of coeliac disease. *Proc Nutr Soc* 2012;71:534-7.
50. He J, Penson S, Powers SJ, Hawes C, Shewry PR, Tosi P. Spatial patterns of gluten protein and polymer distribution in wheat grain. *J Agric Food Chem* 2013;61:6207-15.

51. Ivarsson A, Myleus A, Norstrom F, van der Pals M, Rosen A, Hogberg L, et al. Prevalence of childhood celiac disease and changes in infant feeding. *Pediatrics* 2013;131:e687-94.
52. Vriezinga SL, Mearin ML. [Gluten tolerance as a result of earlier exposure?]. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde* 2013;157:A6349.
53. Ludvigsson JF, Fasano A. Timing of introduction of gluten and celiac disease risk. *Ann Nutr Metab* 2012;60 Suppl 2:22-9.
54. Pozo-Rubio T, de Palma G, Mujico JR, Olivares M, Marcos A, Acuna MD, et al. Influence of early environmental factors on lymphocyte subsets and gut microbiota in infants at risk of celiac disease; the PROFICEL study. *Nutr Hosp* 2013;28:464-73.
55. Laparra JM, Olivares M, Sanz Y. Oral administration of *Bifidobacterium longum* CECT 7347 ameliorates gliadin-induced alterations in liver iron mobilisation. *Br J Nutr* 2013:1-9.
56. Pozo-Rubio T, Olivares M, Nova E, De Palma G, Mujico JR, Ferrer MD, et al. Immune development and intestinal microbiota in celiac disease. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:654143.
57. Caminero A, Nistal E, Arias L, Vivas S, Comino I, Real A, et al. A gluten metabolism study in healthy individuals shows the presence of faecal glutenase activity. *Eur J Nutr* 2012;51:293-9.
58. Wacklin P, Kaukinen K, Tuovinen E, Collin P, Lindfors K, Partanen J, et al. The duodenal microbiota composition of adult celiac disease patients is associated with the clinical manifestation of the disease. *Inflammatory bowel diseases* 2013;19:934-41.
59. Tjellstrom B, Stenhammar L, Hogberg L, Falth-Magnusson K, Magnusson KE, Midtvedt T, et al. Gut microflora associated characteristics in children with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2784-8.
60. Sollid LM, Gray GM. A role for bacteria in celiac disease? *Am J Gastroenterol* 2004;99:905-6.
61. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology* 2009;137:1912-33.
62. 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.
63. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Rispo A, et al. Unexpected role of surface transglutaminase type II in celiac disease. *Gastroenterology* 2005;129:1400-13.
64. Beckett CG, Dell'Olivo D, Shidrawi RG, Rosen-Bronson S, Ciclitira PJ. Gluten-induced nitric oxide and pro-inflammatory cytokine release by cultured coeliac small intestinal biopsies. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:529-35.
65. Murray IA, Daniels I, Coupland K, Smith JA, Long RG. Increased activity and expression of iNOS in human duodenal enterocytes from patients with celiac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;283:G319-26.
66. Daniels I, Cavill D, Murray IA, Long RG. Elevated expression of iNOS mRNA and protein in coeliac disease. *Clin Chim Acta* 2005;356:134-42.
67. De Stefano D, Maiuri MC, Iovine B, Ialenti A, Bevilacqua MA, Carnuccio R. The role of NF-kappaB, IRF-1, and STAT-1alpha transcription factors in the iNOS gene induction by gliadin and IFN-gamma in RAW 264.7 macrophages. *Journal of molecular medicine* 2006;84:65-74.
68. Martin-Pagola A, Perez-Nanclares G, Ortiz L, Vitoria JC, Hualde I, Zaballa R, et al. MICA response to gliadin in intestinal mucosa from celiac patients. *Immunogenetics* 2004;56:549-54.
69. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR, et al. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut* 2003;52:218-23.
70. Sander GR, Cummins AG, Henshall T, Powell BC. Rapid disruption of intestinal barrier function by gliadin involves altered expression of apical junctional proteins. *FEBS letters* 2005;579:4851-5.
71. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cupelli F, Cinque B, Millimaggi D, Clarkson MM, et al. Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease. *Gut* 2006;55:469-77.
72. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN, et al. Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity* 2004;21:357-66.
73. 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.
74. Raki M, Tollefsen S, Molberg O, Lundin KE, Sollid LM, Jahnsen FL. A unique dendritic cell subset accumulates in the celiac lesion and efficiently activates gluten-reactive T cells. *Gastroenterology* 2006;131:428-38.

75. Yoshimura S, Bondeson J, Brennan FM, Foxwell BM, Feldmann M. Role of NFkappaB in antigen presentation and development of regulatory T cells elucidated by treatment of dendritic cells with the proteasome inhibitor PSI. *Eur J Immunol* 2001;31:1883-93.
76. Ouaz F, Arron J, Zheng Y, Choi Y, Beg AA. Dendritic cell development and survival require distinct NF-kappaB subunits. *Immunity* 2002;16:257-70.
77. Ohteki T, Tada H, Ishida K, Sato T, Maki C, Yamada T, et al. Essential roles of DC-derived IL-15 as a mediator of inflammatory responses in vivo. *J Exp Med* 2006;203:2329-38.
78. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature reviews Immunology* 2003;3:331-41.
79. 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 Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol* 2003;64:469-77.
80. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell 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.
81. 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.
82. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM, et al. Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1998;115:551-63.
83. Leon AJ, Garrote JA, Blanco-Quiros A, Calvo C, Fernandez-Salazar L, Del Villar A, et al. Interleukin 18 maintains a long-standing inflammation in coeliac disease patients. *Clin Exp Immunol* 2006;146:479-85.
84. MacDonald TT, Bajaj-Elliott M, Pender SL. T cells orchestrate intestinal mucosal shape and integrity. *Immunology today* 1999;20:505-10.
85. Jabri B, Kasarda DD, Green PH. Innate and adaptive immunity: the yin and yang of celiac disease. *Immunol Rev* 2005;206:219-31.
86. Jabri B, Sollid LM. Mechanisms of disease: immunopathogenesis of celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:516-25.
87. Londei M, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Quarantino S, Maiuri L. Gliadin as a stimulator of innate responses in celiac disease. *Mol Immunol* 2005;42:913-8.
88. Gianfrani C, Auricchio S, Troncone R. Adaptive and innate immune responses in celiac disease. *Immunol Lett* 2005;99:141-5.
89. Koning F. Celiac disease: caught between a rock and a hard place. *Gastroenterology* 2005;129:1294-301.
90. Koning F, Gilissen L, Wijmenga C. Gluten: a two-edged sword. *Immunopathogenesis of celiac disease. Springer Semin Immunopathol* 2005;27:217-32.
91. Diagnosis of coeliac disease. *Lancet* 1991;337:590.
92. Murray JA, Rubio-Tapia A. Diarrhoea due to small bowel diseases. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2012;26:581-600.
93. Guarino A, Lo Vecchio A, Berni Canani R. Chronic diarrhoea in children. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2012;26:649-61.
94. Sharma M, Singh P, Agnihotri A, Das P, Mishra A, Verma AK, et al. Celiac disease: A disease with varied manifestations in adults and adolescents. *Journal of digestive diseases* 2013.
95. Carroccio A, Iannitto E, Cavataio F, Montalto G, Tumminello M, Campagna P, et al. Sideropenic anemia and celiac disease: one study, two points of view. *Digestive diseases and sciences* 1998;43:673-8.
96. Hijaz NM, Bracken JM, Chandratre SR. Celiac crisis presenting with status epilepticus and encephalopathy. *European journal of pediatrics* 2013.
97. Rodrigo Saez L. Celiac disease in the adult. *Revista espanola de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva* 2006;98:397-407.
98. Pulido O, Zarkadas M, Dubois S, Macisaac K, Cantin I, La Vieille S, et al. Clinical features and symptom recovery on a gluten-free diet in Canadian adults with celiac disease. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie* 2013;27:449-53.

99. Tanpowpong P, Broder-Fingert S, Katz AJ, Camargo CA, Jr. Age-related patterns in clinical presentations and gluten-related issues among children and adolescents with celiac disease. *Clinical and translational gastroenterology* 2012;3:e9.
100. Collin P, Reunala T. Recognition and management of the cutaneous manifestations of celiac disease: a guide for dermatologists. *American journal of clinical dermatology* 2003;4:13-20.
101. Koop I, Ilchmann R, Izzi L, Adragna A, Koop H, Barthelmes H. Detection of autoantibodies against tissue transglutaminase in patients with celiac disease and dermatitis herpetiformis. *The American journal of gastroenterology* 2000;95:2009-14.
102. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 2013;108:656-76; quiz 77.
103. Garrote Adrados J, Arranz Sanz E, Blanco Quiros A, Oyaguez Ugidos P, Calvo Romero C, Blanco Del Val A, et al. [Value of serological markers in the diagnosis of celiac disease. A proposed protocol]. *Anales espanoles de pediatria* 2000;53:533-41.
104. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005;128:S38-46.
105. Bhattacharyya R, Sharma N, Banerjee D. Design of a peptide for immunodetection of IgA anti-tissue transglutaminase antibody for the purpose of screening of celiac disease. *Bioinformatics* 2012;8:87-91.
106. Kolho KL, Savilahti E. IgA endomysium antibodies on human umbilical cord: an excellent diagnostic tool for celiac disease in childhood. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 1997;24:563-7.
107. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, Korponay-Szabo I, Sommer R, Schreier E, et al. Antiendomysial and anti-human recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2005;17:85-91.
108. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. Celiac disease. Evidence report/technology assessment 2004:1-6.
109. 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 journal of gastroenterology : WJG* 2009;15:4775-80.
110. Collin P, Maki M, Keyrilainen O, Hallstrom O, Reunala T, Pasternack A. Selective IgA deficiency and coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1992;27:367-71.
111. Dandalides SM, Carey WD, Petras R, Achkar E. Endoscopic small bowel mucosal biopsy: a controlled trial evaluating forceps size and biopsy location in the diagnosis of normal and abnormal mucosal architecture. *Gastrointestinal endoscopy* 1989;35:197-200.
112. Webb C, Halvarsson B, Norstrom F, Myleus A, Carlsson A, Danielsson L, et al. Accuracy in celiac disease diagnostics by controlling the small-bowel biopsy process. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2011;52:549-53.
113. 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.
114. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *European journal of gastroenterology & hepatology* 1999;11:1185-94.
115. Riestra S, Dominguez F, Fernandez-Ruiz E, Garcia-Riesco E, Nieto R, Fernandez E, et al. Usefulness of duodenal biopsy during routine upper gastrointestinal endoscopy for diagnosis of celiac disease. *World journal of gastroenterology : WJG* 2006;12:5028-32.
116. Oberhuber G, Bodingbauer M, Mosberger I, Stolte M, Vogelsang H. High proportion of granzyme B-positive (activated) intraepithelial and lamina propria lymphocytes in lymphocytic gastritis. *The American journal of surgical pathology* 1998;22:450-8.
117. Cellier C, Patey N, Mauvieux L, Jabri B, Delabesse E, Cervoni JP, et al. Abnormal intestinal intraepithelial lymphocytes in refractory sprue. *Gastroenterology* 1998;114:471-81.
118. Benkebil F, Combescure C, Anghel SI, Besson Duvanel C, Schappi MG. Diagnostic accuracy of a new point-of-care screening assay for celiac disease. *World journal of gastroenterology : WJG* 2013;19:5111-7.
119. Husby S, Murray JA. New aspects of the diagnosis of celiac disease in children, adolescents, and adults. *Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic* 2013;88:540-3.

120. Comfort MW. Nontropical sprue: diagnosis and therapy. *Gastroenterology* 1958;34:476-83.
121. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2012;54:136-60.
122. Klapp G, Masip E, Bolonio M, Donat E, Polo B, Ramos D, et al. Celiac disease: the new proposed ESPGHAN diagnostic criteria do work well in a selected population. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2013;56:251-6.
123. Mozo L, Gomez J, Escanlar E, Bousoño C, Gutierrez C. Diagnostic value of anti-deamidated gliadin peptide IgG antibodies for celiac disease in children and IgA-deficient patients. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2012;55:50-5.
124. Rodrigo L, Fuentes D, Riestra S, Nino P, Alvarez N, Lopez-Vazquez A, et al. [Increased prevalence of celiac disease in first and second-grade relatives. A report of a family with 19 studied members]. *Revista española de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Española de Patología Digestiva* 2007;99:149-55.
125. Maki M, Collin P. Coeliac disease. *Lancet* 1997;349:1755-9.
126. Humbert Yague P, Yuste Yuste R. [New concepts on celiac disease]. *Gastroenterologia y hepatologia* 2000;23:290-9.
127. Shan L, Mathews, II, Khosla C. Structural and mechanistic analysis of two prolyl endopeptidases: role of interdomain dynamics in catalysis and specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005;102:3599-604.
128. 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.
129. van Heel DA, West J. Recent advances in coeliac disease. *Gut* 2006;55:1037-46.
130. Marti T, Molberg O, Li Q, Gray GM, Khosla C, Sollid LM. Prolyl endopeptidase-mediated destruction of T cell epitopes in whole gluten: chemical and immunological characterization. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2005;312:19-26.
131. Molberg O, Uhlen AK, Jensen T, Flaete NS, Fleckenstein B, Arentz-Hansen H, et al. Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread wheat ancestors: implications for celiac disease. *Gastroenterology* 2005;128:393-401.
132. Spaenij-Dekking L, Kooy-Winkelaar Y, van Veelen P, Drijfhout JW, Jonker H, van Soest L, et al. Natural variation in toxicity of wheat: potential for selection of nontoxic varieties for celiac disease patients. *Gastroenterology* 2005;129:797-806.
133. Spaenij-Dekking EH, Kooy-Winkelaar EM, Nieuwenhuizen WF, Drijfhout JW, Koning F. A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of alpha/beta- and gamma-gliadin. *Gut* 2004;53:1267-73.
134. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* 2006;131:1981-2002.
135. Benhammane H, El M'rabet F Z, Idrissi Serhouchni K, El Yousfi M, Charif I, Toughray I, et al. Small bowel adenocarcinoma complicating coeliac disease: a report of three cases and the literature review. *Case reports in oncological medicine* 2012;2012:935183.
136. Rampertab SD, Fleischauer A, Neugut AI, Green PH. Risk of duodenal adenoma in celiac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2003;38:831-3.
137. Rampertab SD, Forde KA, Green PH. Small bowel neoplasia in coeliac disease. *Gut* 2003;52:1211-4.
138. Green PH, Rampertab SD. Small bowel carcinoma and coeliac disease. *Gut* 2004;53:774.
139. Howdle PD, Holmes GK. Small bowel malignancy in coeliac disease. *Gut* 2004;53:470.
140. Malamut G, Meresse B, Cellier C, Cerf-Bensussan N. Refractory celiac disease: from bench to bedside. *Seminars in immunopathology* 2012;34:601-13.
141. Malamut G, Murray JA, Cellier C. Refractory celiac disease. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America* 2012;22:759-72.
142. Schmitz F, Tjon JM, Lai Y, Thompson A, Kooy-Winkelaar Y, Lemmers RJ, et al. Identification of a potential physiological precursor of aberrant cells in refractory coeliac disease type II. *Gut* 2013;62:509-19.
143. Zevallios VF, Schuppan D. Refractory coeliac disease: one step closer to the origin of aberrant lymphocytes. *Gut* 2013;62:485-6.

144. Barret M, Malamut G, Rahmi G, Samaha E, Edery J, Verkarre V, et al. Diagnostic yield of capsule endoscopy in refractory celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 2012;107:15 46-53.
145. Dewar DH, Donnelly SC, McLaughlin SD, Johnson MW, Ellis HJ, Ciclitira PJ. Celiac disease: management of persistent symptoms in patients on a gluten-free diet. *World journal of gastroenterology : WJG* 2012;18:1348-56.
146. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Ramos F, Suarez-Vilela D. Alemtuzumab for refractory celiac disease in a patient at risk for enteropathy-associated T-cell lymphoma. *The New England journal of medicine* 2006;354:2514-5.
147. Malamut G, Chandesris O, Verkarre V, Meresse B, Callens C, Macintyre E, et al. Enteropathy associated T cell lymphoma in celiac disease: a large retrospective study. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2013;45:377-84.
148. Bautista-Quach MA, Ake CD, Chen M, Wang J. Gastrointestinal lymphomas: Morphology, immunophenotype and molecular features. *Journal of gastrointestinal oncology* 2012;3:209-25.
149. Vaquero L, Alvarado MG, Arias L, Calleja S, Hernando M, Diez-Tascón C, et al. [Enteropathy-associated intestinal t-cell lymphoma without celiac disease]. *Gastroenterologia y hepatologia* 2012;35:17-21.
150. Wang L, Liu Y, Lin XY, Yu JH, Miao Y, Qiu XS, et al. A case of enteropathy-associated T-cell lymphoma (type I) arising in stomach without refractory celiac disease. *Diagnostic pathology* 2012;7:172.
151. Green PH. Where are all those patients with Celiac disease? *The American journal of gastroenterology* 2007;102:1461-3.
152. Polvi A, Eland C, Koskimies S, Maki M, Partanen J. HLA DQ and DP in Finnish families with celiac disease. *Eur J Immunogenet* 1996;23:221-34.
153. Stokes PL, Ferguson R, Holmes GK, Cooke WT. Familial aspects of coeliac disease. *Q J Med* 1976;45:567-82.
154. Rolles CJ, Myint TO, Sin WK, Anderson M. Proceedings: Family study of coeliac disease. *Gut* 1974;15:827.
155. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Archives of internal medicine* 2003;163:286-92.
156. Korponay-Szabo I, Kovacs J, Lorincz M, Torok E, Goracz G. Families with multiple cases of gluten-sensitive enteropathy. *Zeitschrift fur Gastroenterologie* 1998;36:553-8.
157. Ackerman Z, Eliakim R, Stalnikowicz R, Rachmilewitz D. Role of small bowel biopsy in the endoscopic evaluation of adults with iron deficiency anemia. *The American journal of gastroenterology* 1996;91:2099-102.
158. Corazza GR, Valentini RA, Andreani ML, D'Anchino M, Leva MT, Ginaldi L, et al. Subclinical coeliac disease is a frequent cause of iron-deficiency anaemia. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1995;30:153-6.
159. Howard MR, Turnbull AJ, Morley P, Hollier P, Webb R, Clarke A. A prospective study of the prevalence of undiagnosed coeliac disease in laboratory defined iron and folate deficiency. *Journal of clinical pathology* 2002;55:754-7.
160. Karnam US, Felder LR, Raskin JB. Prevalence of occult celiac disease in patients with iron-deficiency anemia: a prospective study. *Southern medical journal* 2004;97:30-4.
161. Grisolan SW, Oxentenko AS, Murray JA, Burgart LJ, Dierkhising RA, Alexander JA. The usefulness of routine small bowel biopsies in evaluation of iron deficiency anemia. *Journal of clinical gastroenterology* 2004;38:756-60.
162. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *Journal of clinical pathology* 2005;58:573-4.
163. Drummond FJ, Annis P, O'Sullivan K, Wynne F, Daly M, Shanahan F, et al. Screening for asymptomatic celiac disease among patients referred for bone densitometry measurement. *Bone* 2003;33:970-4.
164. Sanders DS, Patel D, Khan FB, Westbrook RH, Webber CV, Milford-Ward A, et al. Case-finding for adult celiac disease in patients with reduced bone mineral density. *Digestive diseases and sciences* 2005;50:587-92.

165. Talal AH, Murray JA, Goeken JA, Sivitz WI. Celiac disease in an adult population with insulin-dependent diabetes mellitus: use of endomysial antibody testing. *The American journal of gastroenterology* 1997;92:1280-4.
166. Cronin CC, Feighery A, Ferriss JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type I) diabetes mellitus. *The American journal of gastroenterology* 1997;92:2210-2.
167. Sigurs N, Johansson C, Elfstrand PO, Viander M, Lanner A. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents in Sweden. *Acta paediatrica* 1993;82:748-51.
168. Roldan MB, Barrio R, Roy G, Parra C, Alonso M, Yturriaga R, et al. Diagnostic value of serological markers for celiac disease in diabetic children and adolescents. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM* 1998;11:751-6.
169. Lindgren S, Sjoberg K, Eriksson S. Unsuspected coeliac disease in chronic 'cryptogenic' liver disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1994;29:661-4.
170. Sjoberg K, Lindgren S, Eriksson S. Frequent occurrence of non-specific gliadin antibodies in chronic liver disease. Endomysial but not gliadin antibodies predict coeliac disease in patients with chronic liver disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1997;32:1162-7.
171. Volta U, De Franceschi L, Molinaro N, Cassani F, Muratori L, Lenzi M, et al. Frequency and significance of anti-gliadin and anti-endomysial antibodies in autoimmune hepatitis. *Digestive diseases and sciences* 1998;43:2190-5.
172. Villalta D, Girolami D, Bidoli E, Bizzaro N, Tampoa M, Liguori M, et al. High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis detected by anti-tissue transglutaminase autoantibodies. *Journal of clinical laboratory analysis* 2005;19:6-10.
173. Kingham JG, Parker DR. The association between primary biliary cirrhosis and coeliac disease: a study of relative prevalences. *Gut* 1998;42:120-2.
174. Book L, Hart A, Black J, Feolo M, Zone JJ, Neuhausen SL. Prevalence and clinical characteristics of celiac disease in Down syndrome in a US study. *American journal of medical genetics* 2001;98:70-4.
175. Bonamico M, Mariani P, Danesi HM, Crisogianni M, Failla P, Gemme G, et al. Prevalence and clinical picture of celiac disease in Italian Down syndrome patients: a multicenter study. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2001;33:139-43.
176. Bonamico M, Rasore-Quartino A, Mariani P, Scartezzini P, Cerruti P, Tozzi MC, et al. Down syndrome and coeliac disease: usefulness of anti-gliadin and anti-endomysium antibodies. *Acta paediatrica* 1996;85:1503-5.
177. Bonamico M, Pasquino AM, Mariani P, Danesi HM, Culasso F, Mazzanti L, et al. Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2002;87:5495-8.
178. Kolho KL, Tiitinen A, Tulppala M, Unkila-Kallio L, Savilahti E. Screening for coeliac disease in women with a history of recurrent miscarriage or infertility. *British journal of obstetrics and gynaecology* 1999;106:171-3.
179. Shamaly H, Mahameed A, Sharony A, Shamir R. Infertility and celiac disease: do we need more than one serological marker? *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 2004;83:1184-8.
180. Volta U, Ravaglia G, Granito A, Forti P, Maioli F, Petrolini N, et al. Coeliac disease in patients with autoimmune thyroiditis. *Digestion* 2001;64:61-5.
181. Meloni GF, Tomasi PA, Bertocelli A, Fanciulli G, Delitala G, Meloni T. Prevalence of silent celiac disease in patients with autoimmune thyroiditis from Northern Sardinia. *Journal of endocrinological investigation* 2001;24:298-302.
182. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Volta U, Arnone G, Pantieri G, et al. Increased prevalence of coeliac disease in autoimmune thyroiditis is restricted to aged patients. *Experimental gerontology* 2003;38:589-95.
183. Alaedini A, Green PH. Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder. *Annals of internal medicine* 2005;142:289-98.
184. Bingley PJ, Williams AJ, Norcross AJ, Unsworth DJ, Lock RJ, Ness AR, et al. Undiagnosed coeliac disease at age seven: population based prospective birth cohort study. *Bmj* 2004;328:322-3.
185. Robinson DC, Watson AJ, Wyatt EH, Marks JM, Roberts DF. Incidence of small-intestinal mucosal abnormalities and of clinical coeliac disease in the relatives of children with coeliac disease. *Gut* 1971;12:789-93.

186. Biagi F, Campanella J, Bianchi PI, Zanellati G, Capriglione I, Klersy C, et al. The incidence of coeliac disease in adult first degree relatives. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2008;40:97-100.
187. Biagi F, Corazza GR. First-degree relatives of celiac patients: are they at an increased risk of developing celiac disease? *Journal of clinical gastroenterology* 2009;43:3-4.
188. Pittschieler K, Gentili L, Niederhofer H. Onset of coeliac disease: a prospective longitudinal study. *Acta paediatrica* 2003;92:1149-52.
189. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, Inchingolo CD. Effectiveness of the sorbitol H2 breath test in detecting histological damage among relatives of coeliacs. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2003;38:727-31.
190. Rostami K, Mulder CJ, van Overbeek FM, Kerckhaert J, Meijer JW, von Blomberg MB, et al. Should relatives of coeliacs with mild clinical complaints undergo a small-bowel biopsy despite negative serology? *European journal of gastroenterology & hepatology* 2000;12:51-5.
191. Hogberg L, Falth-Magnusson K, Grodzinsky E, Stenhammar L. Familial prevalence of coeliac disease: a twenty-year follow-up study. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2003;38:61-5.
192. Farre 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. *Catalonian Coeliac Disease Study Group. Digestive diseases and sciences* 1999;44:2344-9.
193. Vaquero L, Caminero A, Nunez A, Hernando M, Iglesias C, Casqueiro J, et al. Coeliac disease screening in first-degree relatives on the basis of biopsy and genetic risk. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2013.
194. Camarero C, Eiras P, Asensio A, Leon F, Olivares F, Escobar H, et al. Intraepithelial lymphocytes and coeliac disease: permanent changes in CD3-/CD7+ and T cell receptor gammadelta subsets studied by flow cytometry. *Acta paediatrica* 2000;89:285-90.
195. Vogelsang H, Oberhuber G, Wyatt J. Lymphocytic gastritis and gastric permeability in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1996;111:73-7.
196. Cellier C, Cervoni JP, Patey N, Leborgne M, Marteau P, Landi B, et al. Gluten-free diet induces regression of T-cell activation in the rectal mucosa of patients with celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 1998;93:1527-30.
197. Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A, et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet* 2000;355:1518-9.
198. Jabri B, de Serre NP, Cellier C, Evans K, Gache C, Carvalho C, et al. Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E-specific natural killer receptor CD94 in celiac disease. *Gastroenterology* 2000;118:867-79.
199. Goggins M, Kelleher D. Celiac disease and other nutrient related injuries to the gastrointestinal tract. *The American journal of gastroenterology* 1994;89:S2-17.
200. Kakar S, Nehra V, Murray JA, Dayharsh GA, Burgart LJ. Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosal architecture. *The American journal of gastroenterology* 2003;98:2027-33.
201. Mirbagheri SA, Khajavirad N, Rakhshani N, Ostovaneh MR, Hoseini SM, Hoseini V. Impact of *Helicobacter pylori* infection and microscopic duodenal histopathological changes on clinical symptoms of patients with functional dyspepsia. *Digestive diseases and sciences* 2012;57:967-72.
202. Leon F, Camarero C, Eiras P, Roy G. Specificity of IEL profiling in the diagnosis of celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 2004;99:958.
203. Tonkic A, Tonkic M, Lehours P, Megraud F. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2012;17 Suppl 1:1-8.
204. Misiewicz JJ. Management of *Helicobacter pylori*-related disorders. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2012;9 Suppl 1:S17-20; discussion S-1.
205. Mana F. The Maastricht III consensus: summary and comments. *Acta gastro-enterologica Belgica* 2009;72:344-9.
206. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012;61:646-64.
207. O'Connor A, O'Morain C. *Helicobacter pylori* infection in Europe: current perspectives. *Expert review of gastroenterology & hepatology* 2013;7:541-8.
208. Gisbert JP, Calvet X, Bermejo F, Boixeda D, Bory F, Bujanda L, et al. [III Spanish Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection]. *Gastroenterologia y hepatologia* 2013;36:340-74.

209. Bastos J, Peleteiro B, Barros R, Alves L, Severo M, de Fatima Pina M, et al. Sociodemographic Determinants of Prevalence and Incidence of Helicobacter pylori Infection in Portuguese Adults. *Helicobacter* 2013.
210. Kate V, Maroju NK, Ananthakrishnan N. Helicobacter pylori Infection and Upper Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology research and practice* 2013;2013:896209.
211. Carrasco G, Corvalan AH. Helicobacter pylori-Induced Chronic Gastritis and Assessing Risks for Gastric Cancer. *Gastroenterology research and practice* 2013;2013:393015.
212. Zhao B, Zhao J, Cheng WF, Shi WJ, Liu W, Pan XL, et al. Efficacy of Helicobacter pylori Eradication Therapy on Functional Dyspepsia: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Studies With 12-Month Follow-up. *Journal of clinical gastroenterology* 2013.
213. Gisbert JP, Calvet X, Ferrandiz J, Mascort J, Alonso-Coello P, Marzo M. [Clinical practice guideline on the management of patients with dyspepsia. Update 2012]. *Atencion primaria / Sociedad Espanola de Medicina de Familia y Comunitaria* 2012;44:727 e1- e38.
214. Olafsson S, Hatlebakk JG, Berstad A. Patients with endoscopic gastritis and/or duodenitis improve markedly following eradication of Helicobacter pylori, although less so than patients with ulcers. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2002;37:1386-94.
215. Balci TA, Koc ZP, Mitil HA. Bone mineral densitometry findings of children with newly diagnosed celiac disease. *Molecular imaging and radionuclide therapy* 2011;20:59-62.
216. Lucendo AJ, Garcia-Manzanares A. Bone mineral density in adult coeliac disease: An updated review. *Revista espanola de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva* 2013;105:154-62.
217. Katz S, Weinerman S. Osteoporosis and gastrointestinal disease. *Gastroenterology & hepatology* 2010;6:506-17.
218. Esteve M, Rosinach M, Fernandez-Banares F, Farre C, Salas A, Alsina M, et al. Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis. *Gut* 2006;55:1739-45.
219. Garcia-Manzanares A, Tenias JM, Lucendo AJ. Bone mineral density directly correlates with duodenal Marsh stage in newly diagnosed adult celiac patients. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2012;47:927-36.
220. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease--active, silent, latent, potential. *Gut* 1993;34:150-1.
221. Verdu EF, Armstrong D, Murray JA. Between celiac disease and irritable bowel syndrome: the "no man's land" of gluten sensitivity. *The American journal of gastroenterology* 2009;104:1587-94.
222. Troncone R, Franzese A, Mazzarella G, Paparo F, Auricchio R, Coto I, et al. Gluten sensitivity in a subset of children with insulin dependent diabetes mellitus. *The American journal of gastroenterology* 2003;98:590-5.
223. Troncone R, Jabri B. Coeliac disease and gluten sensitivity. *J Intern Med* 2011;269:582-90.
224. Biesiekierski JR, Newnham ED, Irving PM, Barrett JS, Haines M, Doecke JD, et al. Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *The American journal of gastroenterology* 2011;106:508-14; quiz 15.
225. Kaukinen K, Maki M, Partanen J, Sievanen H, Collin P. Celiac disease without villous atrophy: revision of criteria called for. *Digestive diseases and sciences* 2001;46:879-87.
226. Mino M, Lauwers GY. Role of lymphocytic immunophenotyping in the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy with preserved villous architecture. *The American journal of surgical pathology* 2003;27:1237-42.
227. Niveloni S, Dezi R, Pedreira S, Podesta A, Cabanne A, Vazquez H, et al. Gluten sensitivity in patients with primary biliary cirrhosis. *The American journal of gastroenterology* 1998;93:404-8.
228. Di Sabatino A, Corazza GR. Nonceliac gluten sensitivity: sense or sensibility? *Annals of internal medicine* 2012;156:309-11.
229. Bernardo D, Garrote JA, Fernandez-Salazar L, Riestra S, Arranz E. Is gliadin really safe for non-coeliac individuals? Production of interleukin 15 in biopsy culture from non-coeliac individuals challenged with gliadin peptides. *Gut* 2007;56:889-90.
230. Lea R, Whorwell PJ. The role of food intolerance in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology clinics of North America* 2005;34:247-55.
231. Shanahan F, Whorwell PJ. IgG-mediated food intolerance in irritable bowel syndrome: a real phenomenon or an epiphenomenon? *The American journal of gastroenterology* 2005;100:1558-9.

232. Monsbakken KW, Vandvik PO, Farup PG. Perceived food intolerance in subjects with irritable bowel syndrome-- etiology, prevalence and consequences. *European journal of clinical nutrition* 2006;60:667-72.
233. Feinle-Bisset C, Horowitz M. Dietary factors in functional dyspepsia. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2006;18:608-18.
234. Ruigomez A, Garcia Rodriguez LA, Panes J. Risk of irritable bowel syndrome after an episode of bacterial gastroenteritis in general practice: influence of comorbidities. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2007;5:465-9.
235. Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, Haas JE, Sokol RJ, Emery L, et al. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *The American journal of gastroenterology* 2006;101:2333-40.
236. Vanner S. The small intestinal bacterial overgrowth. Irritable bowel syndrome hypothesis: implications for treatment. *Gut* 2008;57:1315-21.
237. Tjellstrom B, Stenhammar L, Hogberg L, Falth-Magnusson K, Magnusson KE, Midtvedt T, et al. Gut microflora associated characteristics in first-degree relatives of children with celiac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2007;42:1204-8.
238. Ware JE, Jr., Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Medical care* 1992;30:473-83.
239. Ware JE, Jr., Gandek B. Overview of the SF-36 Health Survey and the International Quality of Life Assessment (IQOLA) Project. *Journal of clinical epidemiology* 1998;51:903-12.
240. Ware JE, Jr., Gandek B, Kosinski M, Aaronson NK, Apolone G, Brazier J, et al. The equivalence of SF-36 summary health scores estimated using standard and country-specific algorithms in 10 countries: results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. Journal of clinical epidemiology* 1998;51:1167-70.
241. Ware JE, Jr., Kosinski M, Gandek B, Aaronson NK, Apolone G, Bech P, et al. The factor structure of the SF-36 Health Survey in 10 countries: results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. Journal of clinical epidemiology* 1998;51:1159-65.
242. Alonso J, Prieto L, Anto JM. [The Spanish version of the SF-36 Health Survey (the SF-36 health questionnaire): an instrument for measuring clinical results]. *Medicina clinica* 1995;104:771-6.
243. Aaronson NK, Acquadro C, Alonso J, Apolone G, Bucquet D, Bullinger M, et al. International Quality of Life Assessment (IQOLA) Project. *Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation* 1992;1:349-51.
244. Alonso J, Prieto L, Ferrer M, Vilagut G, Broquetas JM, Roca J, et al. Testing the measurement properties of the Spanish version of the SF-36 Health Survey among male patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Quality of Life in COPD Study Group. Journal of clinical epidemiology* 1998;51:1087-94.
245. Croog SH, Levine S, Testa MA, Brown B, Bulpitt CJ, Jenkins CD, et al. The effects of antihypertensive therapy on the quality of life. *The New England journal of medicine* 1986;314:1657-64.
246. Badia X, Gutierrez F, Wiklund I, Alonso J. Validity and reliability of the Spanish version of the Psychological General Well-Being Index. *Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation* 1996;5:101-8.
247. Svedlund J, Sjodin I, Dotevall G. GSRS--a clinical rating scale for gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome and peptic ulcer disease. *Digestive diseases and sciences* 1988;33:129-34.
248. Dimenas E, Glise H, Hallerback B, Hernqvist H, Svedlund J, Wiklund I. Quality of life in patients with upper gastrointestinal symptoms. An improved evaluation of treatment regimens? *Scandinavian journal of gastroenterology* 1993;28:681-7.
249. Leffler DA, Dennis M, Edwards George J, Jamma S, Cook EF, Schuppan D, et al. A validated disease-specific symptom index for adults with celiac disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2009;7:1328-34, 34 e1-3.
250. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1997;32:920-4.
251. Goldberg D, Kryszak D, Fasano A, Green PH. Screening for celiac disease in family members: is follow-up testing necessary? *Digestive diseases and sciences* 2007;52:1082-6.

252. Troncone R, Ivarsson A, Szajewska H, Mearin ML. Review article: future research on coeliac disease - a position report from the European multistakeholder platform on coeliac disease (CDEUSSA). *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2008;27:1030-43.
253. Bonamico M, Ferri M, Mariani P, Nenna R, Thanasi E, Luparia RP, et al. Serologic and genetic markers of celiac disease: a sequential study in the screening of first degree relatives. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2006;42:150-4.
254. Corazza G, Valentini RA, Frisoni M, Volta U, Corrao G, Bianchi FB, et al. Gliadin immune reactivity is associated with overt and latent enteropathy in relatives of celiac patients. *Gastroenterology* 1992;103:1517-22.
255. Lo W, Sano K, Lebowitz B, Diamond B, Green PH. Changing presentation of adult celiac disease. *Digestive diseases and sciences* 2003;48:395-8.
256. Carroccio A, Mansueto P, Iacono G, Soresi M, D'Alcamo A, Cavataio F, et al. Non-celiac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: exploring a new clinical entity. *The American journal of gastroenterology* 2012;107:1898-906; quiz 907.
257. 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.
258. Massari S, Liso M, De Santis L, Mazzei F, Carlone A, Mauro S, et al. Occurrence of nonceliac gluten sensitivity in patients with allergic disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;155:389-94.
259. Sapone A, Lammers KM, Casolaro V, Cammarota M, Giuliano MT, De Rosa M, et al. Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity. *BMC Med* 2011;9:23.
260. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *The American journal of medicine* 2010;123:691-3.
261. Verdu EF. Editorial: Can gluten contribute to irritable bowel syndrome? *The American journal of gastroenterology* 2011;106:516-8.
262. Tornblom H, Lindberg G, Nyberg B, Veress B. Full-thickness biopsy of the jejunum reveals inflammation and enteric neuropathy in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002;123:1972-9.
263. Abdulkarim AS, Murray JA. Review article: The diagnosis of coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2003;17:987-95.
264. Newnham ED. Does gluten cause gastrointestinal symptoms in subjects without coeliac disease? *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26 Suppl 3:132-4.
265. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M, et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Med* 2012;10:13.
266. Vande Voort JL, Murray JA, Lahr BD, Van Dyke CT, Kroning CM, Moore SB, et al. Lymphocytic duodenitis and the spectrum of celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 2009;104:142-8.
267. Feeley KM, Heneghan MA, Stevens FM, McCarthy CF. Lymphocytic gastritis and coeliac disease: evidence of a positive association. *Journal of clinical pathology* 1998;51:207-10.
268. Villanacci V, Bassotti G, Liserre B, Lanzini A, Lanzarotto F, Genta RM. *Helicobacter pylori* infection in patients with celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 2006;101:1880-5.
269. Biagi F, Luinetti O, Campanella J, Klersy C, Zambelli C, Villanacci V, et al. Intraepithelial lymphocytes in the villous tip: do they indicate potential coeliac disease? *Journal of clinical pathology* 2004;57:835-9.
270. Srivastava A, Yachha SK, Mathias A, Parveen F, Poddar U, Agrawal S. Prevalence, human leukocyte antigen typing and strategy for screening among Asian first-degree relatives of children with celiac disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;25:319-24.
271. El-Akawi ZJ, Al-Hattab DM, Migdady MA. Frequency of HLA-DQA1*0501 and DQB1*0201 alleles in patients with coeliac disease, their first-degree relatives and controls in Jordan. *Ann Trop Paediatr* 2010;30:305-9.
272. Castro-Antunes MM, Crovella S, Brandao LA, Guimaraes RL, Motta ME, Silva GA. Frequency distribution of HLA DQ2 and DQ8 in celiac patients and first-degree relatives in Recife, northeastern Brazil. *Clinics (Sao Paulo)* 2011;66:227-31.
273. Inomata N. Wheat allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9:238-43.
274. Ostblom E, Wickman M, van Hage M, Lilja G. Reported symptoms of food hypersensitivity and sensitization to common foods in 4-year-old children. *Acta paediatrica* 2008;97:85-90.

275. Ostblom E, Egmar AC, Gardulf A, Lilja G, Wickman M. The impact of food hypersensitivity reported in 9-year-old children by their parents on health-related quality of life. *Allergy* 2008;63:211-8.
276. Ostblom E, Lilja G, Ahlstedt S, van Hage M, Wickman M. Patterns of quantitative food-specific IgE-antibodies and reported food hypersensitivity in 4-year-old children. *Allergy* 2008;63:418-24.
277. Vierk KA, Koehler KM, Fein SB, Street DA. Prevalence of self-reported food allergy in American adults and use of food labels. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1504-10.
278. Akbari MR, Mohammadkhani A, Fakheri H, Javad Zahedi M, Shahbazkhani B, Nouraie M, et al. Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2006;18:1181-6.
279. Dipper CR, Maitra S, Thomas R, Lamb CA, McLean-Tookey AP, Ward R, et al. Anti-tissue transglutaminase antibodies in the follow-up of adult coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2009;30:236-44.
280. Donaldson MR, Firth SD, Wimpee H, Leiferman KM, Zone JJ, Horsley W, et al. Correlation of duodenal histology with tissue transglutaminase and endomysial antibody levels in pediatric celiac disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2007;5:567-73.
281. Vitoria JC, Arrieta A, Astigarraga I, Garcia-Masdevall D, Rodriguez-Soriano J. Use of serological markers as a screening test in family members of patients with celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 1994;19:304-9.
282. Fernandez-Banares F, Alsina M, Modolell I, Andujar X, Piqueras M, Garcia-Puig R, et al. Are positive serum-IgA-tissue-transglutaminase antibodies enough to diagnose coeliac disease without a small bowel biopsy? Post-test probability of coeliac disease. *J Crohns Colitis* 2012;6:861-6.
283. Fernandez-Banares F, Rosinach M, Esteve M. Comment to "high tissue-transglutaminase antibody level predicts small intestinal villous atrophy in adult patients at high risk of coeliac disease". *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2012;44:885-6; author reply 6.
284. Evans KE, Sanders DS. Celiac disease. *Gastroenterology clinics of North America* 2012;41:639-50.
285. Kurien M, Evans KE, Hopper AD, Hale MF, Cross SS, Sanders DS. Duodenal bulb biopsies for diagnosing adult celiac disease: is there an optimal biopsy site? *Gastrointestinal endoscopy* 2012;75:1190-6.
286. Hogen Esch CE, Wolters VM, Gerritsen SA, Putter H, von Blomberg BM, van Hoogstraten IM, et al. Specific celiac disease antibodies in children on a gluten-free diet. *Pediatrics* 2011;128:547-52.
287. Rosinach M, Esteve M, Gonzalez C, Temino R, Marine M, Monzon H, et al. Lymphocytic duodenitis: aetiology and long-term response to specific treatment. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2012;44:643-8.
288. Lahdeaho ML, Kaukinen K, Collin P, Ruuska T, Partanen J, Haapala AM, et al. Celiac disease: from inflammation to atrophy: a long-term follow-up study. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2005;41:44-8.
289. 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. *Journal of clinical pathology* 2008;61:1116-8.
290. Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000;47:804-11.
291. Vazquez-Roque MI, Camilleri M, Smyrk T, Murray JA, Marietta E, O'Neill J, et al. A controlled trial of gluten-free diet in patients with irritable bowel syndrome-diarrhea: effects on bowel frequency and intestinal function. *Gastroenterology* 2013;144:903-11 e3.
292. Rostami K, Villanacci V. Microscopic enteritis: novel prospect in coeliac disease clinical and immuno-histogenesis. Evolution in diagnostic and treatment strategies. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2009;41:245-52.
293. Collin P, Wahab PJ, Murray JA. Intraepithelial lymphocytes and coeliac disease. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2005;19:341-50.

294. Kurppa K, Collin P, Viljamaa M, Haimila K, Saavalainen P, Partanen J, et al. Diagnosing mild enteropathy celiac disease: a randomized, controlled clinical study. *Gastroenterology* 2009;136:816-23.
295. Wahnschaffe U, Schulzke JD, Zeitl M, Ullrich R. Predictors of clinical response to gluten-free diet in patients diagnosed with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2007;5:844-50; quiz 769.
296. Aziz I, Evans KE, Hopper AD, Smillie DM, Sanders DS. A prospective study into the aetiology of lymphocytic duodenitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2010;32:1392-7.
297. Sperandeo MP, Tosco A, Izzo V, Tucci F, Troncone R, Auricchio R, et al. Potential celiac patients: a model of celiac disease pathogenesis. *PloS one* 2011;6:e21281.
298. Wingren CJ, Agardh D, Merlo J. Sex differences in coeliac disease risk: a Swedish sibling design study. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2012;44:909-13.
299. Wingren CJ, Bjorck S, Lynch KF, Ohlsson H, Agardh D, Merlo J. Coeliac disease in children: a social epidemiological study in Sweden. *Acta paediatrica* 2012;101:185-91.
300. Brown I, Mino-Kenudson M, Deshpande V, Lauwers GY. Intraepithelial lymphocytosis in architecturally preserved proximal small intestinal mucosa: an increasing diagnostic problem with a wide differential diagnosis. *Archives of pathology & laboratory medicine* 2006;130:1020-5.
301. Nahon S, Patey-Mariaud De Serre N, Lejeune O, Huchet FX, Lahmek P, Lesgourgues B, et al. Duodenal intraepithelial lymphocytosis during *Helicobacter pylori* infection is reduced by antibiotic treatment. *Histopathology* 2006;48:417-23.
302. Memeo L, Jhang J, Hibshoosh H, Green PH, Rotterdam H, Bhagat G. Duodenal intraepithelial lymphocytosis with normal villous architecture: common occurrence in *H. pylori* gastritis. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2005;18:1134-44.
303. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *The New England journal of medicine* 2002;347:1175-86.
304. Molina-Infante J, Santolaria S, Fernandez-Banares F, Montoro M, Esteve M. Lymphocytic enteropathy, HLA-DQ2/DQ8 genotype and wheat-dependent symptoms: non-celiac wheat sensitivity or Marsh I celiac disease? *The American journal of gastroenterology* 2013;108:451.
305. Wahnschaffe U, Ullrich R, Riecken EO, Schulzke JD. Celiac disease-like abnormalities in a subgroup of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2001;121:1329-38.
306. Ford AC, Talley NJ. Irritable bowel syndrome. *Bmj* 2012;345:e5836.
307. Coyne KS, Cash B, Kopp Z, Gelhorn H, Milsom I, Berriman S, et al. The prevalence of chronic constipation and faecal incontinence among men and women with symptoms of overactive bladder. *BJU Int* 2011;107:254-61.
308. Matricon J, Meleine M, Gelot A, Piche T, Dapoigny M, Muller E, et al. Review article: Associations between immune activation, intestinal permeability and the irritable bowel syndrome. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2012;36:1009-31.
309. Wald A. Irritable bowel syndrome--diarrhoea. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2012;26:573-80.
310. Stasi C, Rosselli M, Bellini M, Laffi G, Milani S. Altered neuro-endocrine-immune pathways in the irritable bowel syndrome: the top-down and the bottom-up model. *J Gastroenterol* 2012;47:1177-85.
311. Lucini D, Pagani M. From stress to functional syndromes: an internist's point of view. *Eur J Intern Med* 2012;23:295-301.
312. Aziz I, Sanders DS. The irritable bowel syndrome-celiac disease connection. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America* 2012;22:623-37.
313. Wilkins T, Pepitone C, Alex B, Schade RR. Diagnosis and management of IBS in adults. *Am Fam Physician* 2012;86:419-26.
314. Furman DL, Cash BD. The role of diagnostic testing in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology clinics of North America* 2011;40:105-19.
315. El-Chammas K, Danner E. Gluten-free diet in nonceliac disease. *Nutr Clin Pract* 2011;26:294-9.
316. Pietzak M. Celiac disease, wheat allergy, and gluten sensitivity: when gluten free is not a fad. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012;36:68S-75S.

317. Money ME, Camilleri M. Review: Management of postprandial diarrhea syndrome. *The American journal of medicine* 2012;125:538-44.
318. Cash BD, Rubenstein JH, Young PE, Gentry A, Nojkov B, Lee D, et al. The prevalence of celiac disease among patients with nonconstipated irritable bowel syndrome is similar to controls. *Gastroenterology* 2011;141:1187-93.
319. Hadjivassiliou M, Williamson CA, Woodroffe N. The immunology of gluten sensitivity: beyond the gut. *Trends Immunol* 2004;25:578-82.
320. Lambert JR. The role of *Helicobacter pylori* in nonulcer dyspepsia. A debate--for. *Gastroenterology clinics of North America* 1993;22:141-51.
321. Kim SE, Park YS, Kim N, Kim MS, Jo HJ, Shin CM, et al. Effect of *Helicobacter pylori* Eradication on Functional Dyspepsia. *J Neurogastroenterol Motil* 2013;19:233-43.
322. McNicholl AG, Marin AC, Molina-Infante J, Castro M, Barrio J, Ducons J, et al. Randomised clinical trial comparing sequential and concomitant therapies for *Helicobacter pylori* eradication in routine clinical practice. *Gut* 2013.
323. Gisbert JP, Calvet X. *Helicobacter Pylori* "Test-and-Treat" Strategy for Management of Dyspepsia: A Comprehensive Review. *Clinical and translational gastroenterology* 2013;4:e32.
324. Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G, Mikhailenko I, Carteni M, Casolaro V, et al. Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152:75-80.
325. Volta U, Tovoli F, Cicola R, Parisi C, Fabbri A, Piscaglia M, et al. Serological tests in gluten sensitivity (nonceliac gluten intolerance). *Journal of clinical gastroenterology* 2012;46:680-5.
326. Verdu EF, Huang X, Natividad J, Lu J, Blennerhassett PA, David CS, et al. Gliadin-dependent neuromuscular and epithelial secretory responses in gluten-sensitive HLA-DQ8 transgenic mice. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 2008;294:G217-25.
327. Malfertheiner P, Selgrad M, Bornschein J. *Helicobacter pylori*: clinical management. *Curr Opin Gastroenterol* 2012;28:608-14.
328. Santalha MF, Jr., Costa E, Miguel N, Vizcaino R, Barbot J, Pereira F. Iron deficiency anemia due to lymphocytic gastritis with *Helicobacter pylori* infection in childhood: case report. *Journal of pediatric hematology/oncology* 2013;35:321-2.
329. Yuan W, Li Y, Yang K, Ma B, Guan Q, Wang D, et al. Iron deficiency anemia in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis of randomized controlled trials. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2010;45:665-76.
330. Hopper AD, Cross SS, Sanders DS. Patchy villous atrophy in adult patients with suspected gluten-sensitive enteropathy: is a multiple duodenal biopsy strategy appropriate? *Endoscopy* 2008;40:219-24.
331. Liebrechts T, Adam B, Bredack C, Roth A, Heinzl S, Lester S, et al. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007;132:913-20.
332. Kindt S, Van Oudenhove L, Broekaert D, Kasran A, Ceuppens JL, Bossuyt X, et al. Immune dysfunction in patients with functional gastrointestinal disorders. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2009;21:389-98.
333. Poullis A, Foster R, Northfield TC, Mendall MA. Review article: faecal markers in the assessment of activity in inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2002;16:675-81.
334. Gibson PR, Shepherd SJ. Evidence-based dietary management of functional gastrointestinal symptoms: The FODMAP approach. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;25:252-8.
335. Ong DK, Mitchell SB, Barrett JS, Shepherd SJ, Irving PM, Biesiekierski JR, et al. Manipulation of dietary short chain carbohydrates alters the pattern of gas production and genesis of symptoms in irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;25:1366-73.
336. Barbara G, Stanghellini V, Brandi G, Cremon C, Di Nardo G, De Giorgio R, et al. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. *The American journal of gastroenterology* 2005;100:2560-8.
337. Tornblom H, Abrahamsson H, Barbara G, Hellstrom PM, Lindberg G, Nyhlin H, et al. Inflammation as a cause of functional bowel disorders. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2005;40:1140-8.
338. Pan H, Gershon MD. Activation of intrinsic afferent pathways in submucosal ganglia of the guinea pig small intestine. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2000;20:3295-309.

339. Brehmer A, Croner R, Dimmler A, Papadopoulos T, Schrodler F, Neuhuber W. Immunohistochemical characterization of putative primary afferent (sensory) myenteric neurons in human small intestine. *Auton Neurosci* 2004;112:49-59.
340. Carroccio A, Brusca I, Mansueto P, Pirrone G, Barrale M, Di Prima L, et al. A cytologic assay for diagnosis of food hypersensitivity in patients with irritable bowel syndrome. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2010;8:254-60.
341. Giorgetti GM, Tursi A, Iani C, Arciprete F, Brandimarte G, Capria A, et al. Assessment of autonomic function in untreated adult coeliac disease. *World journal of gastroenterology : WJG* 2004;10:2715-8.
342. Gibbons CH, Freeman R. Autonomic neuropathy and coeliac disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2005;76:579-81.
343. Pan H, Galligan JJ. 5-HT_{1A} and 5-HT₄ receptors mediate inhibition and facilitation of fast synaptic transmission in enteric neurons. *The American journal of physiology* 1994;266:G230-8.
344. Coates MD, Mahoney CR, Linden DR, Sampson JE, Chen J, Blaszyk H, et al. Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004;126:1657-64.
345. Bercik P, Verdu EF, Collins SM. Is irritable bowel syndrome a low-grade inflammatory bowel disease? *Gastroenterology clinics of North America* 2005;34:235-45, vi-vii.
346. Coleman NS, Foley S, Dunlop SP, Wheatcroft J, Blackshaw E, Perkins AC, et al. Abnormalities of serotonin metabolism and their relation to symptoms in untreated celiac disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2006;4:874-81.
347. Giovannini C, Sanchez M, Straface E, Scaccocchio B, Silano M, De Vincenzi M. Induction of apoptosis in caco-2 cells by wheat gliadin peptides. *Toxicology* 2000;145:63-71.
348. van Elburg RM, Uil JJ, Mulder CJ, Heymans HS. Intestinal permeability in patients with coeliac disease and relatives of patients with coeliac disease. *Gut* 1993;34:354-7.
349. Shepherd SJ, Parker FC, Muir JG, Gibson PR. Dietary triggers of abdominal symptoms in patients with irritable bowel syndrome: randomized placebo-controlled evidence. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2008;6:765-71.
350. Beecher HK. The powerful placebo. *J Am Med Assoc* 1955;159:1602-6.
351. Vase L, Robinson ME, Verne GN, Price DD. The contributions of suggestion, desire, and expectation to placebo effects in irritable bowel syndrome patients. An empirical investigation. *Pain* 2003;105:17-25.
352. Kaptchuk TJ, Friedlander E, Kelley JM, Sanchez MN, Kokkotou E, Singer JP, et al. Placebos without deception: a randomized controlled trial in irritable bowel syndrome. *PLoS one* 2010;5:e15591.
353. Adachi K, Furuta K, Miwa H, Oshima T, Miki M, Komazawa Y, et al. A study on the efficacy of rebamipide for patients with proton pump inhibitor-refractory non-erosive reflux disease. *Digestive diseases and sciences* 2012;57:1609-17.
354. Stefanidis D, Navarro F, Augenstein VA, Gersin KS, Heniford BT. Laparoscopic fundoplication takedown with conversion to Roux-en-Y gastric bypass leads to excellent reflux control and quality of life after fundoplication failure. *Surg Endosc* 2012;26:3521-7.
355. Engsbro AL, Begtrup LM, Kjeldsen J, Larsen PV, de Muckadell OS, Jarbol DE, et al. Patients Suspected of Irritable Bowel Syndrome-Cross-Sectional Study Exploring the Sensitivity of Rome III Criteria in Primary Care. *The American journal of gastroenterology* 2013;108:972-80.
356. Ljotsson B, Andersson G, Andersson E, Hedman E, Lindfors P, Andreevitch S, et al. Acceptability, effectiveness, and cost-effectiveness of internet-based exposure treatment for irritable bowel syndrome in a clinical sample: a randomized controlled trial. *BMC Gastroenterol* 2011;11:110.
357. Kelly CP, Green PH, Murray JA, Dimarino A, Colatrella A, Leffler DA, et al. Larazotide acetate in patients with coeliac disease undergoing a gluten challenge: a randomised placebo-controlled study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2013;37:252-62.
358. Chang MS, Minaya MT, Cheng J, Connor BA, Lewis SK, Green PH. Double-blind randomized controlled trial of rifaximin for persistent symptoms in patients with celiac disease. *Digestive diseases and sciences* 2011;56:2939-46.
359. Mustalahti K, Lohiniemi S, Collin P, Vuolteenaho N, Laippala P, Maki M. Gluten-free diet and quality of life in patients with screen-detected celiac disease. *Eff Clin Pract* 2002;5:105-13.

360. Lohiniemi S, Maki M, Kaukinen K, Laippala P, Collin P. Gastrointestinal symptoms rating scale in coeliac disease patients on wheat starch-based gluten-free diets. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2000;35:947-9.
361. Mahadev S, Simpson S, Lebwohl B, Lewis SK, Tennyson CA, Green PH. Is dietitian use associated with celiac disease outcomes? *Nutrients* 2013;5:1585-94.
362. Sainsbury A, Sanders DS, Ford AC. Prevalence of irritable bowel syndrome-type symptoms in patients with celiac disease: a meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2013;11:359-65 e1.
363. Usai P, Manca R, Cuomo R, Lai MA, Boi MF. Effect of gluten-free diet and co-morbidity of irritable bowel syndrome-type symptoms on health-related quality of life in adult coeliac patients. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2007;39:824-8.
364. Palsson OS, Baggish JS, Turner MJ, Whitehead WE. IBS patients show frequent fluctuations between loose/watery and hard/lumpy stools: implications for treatment. *The American journal of gastroenterology* 2012;107:286-95.
365. Chey WD, Lembo AJ, Lavins BJ, Shiff SJ, Kurtz CB, Currie MG, et al. Linaclotide for irritable bowel syndrome with constipation: a 26-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate efficacy and safety. *The American journal of gastroenterology* 2012;107:1702-12.
366. Tontini GE, Rondonotti E, Saladino V, Saibeni S, de Franchis R, Vecchi M. Impact of gluten withdrawal on health-related quality of life in celiac subjects: an observational case-control study. *Digestion* 2010;82:221-8.
367. Bystrom IM, Hollen E, Falth-Magnusson K, Johansson A. Health-related quality of life in children and adolescents with celiac disease: from the perspectives of children and parents. *Gastroenterology research and practice* 2012;2012:986475.
368. Midhagen G, Hallert C. High rate of gastrointestinal symptoms in celiac patients living on a gluten-free diet: controlled study. *The American journal of gastroenterology* 2003;98:2023-6.
369. Mones RL. Incidence of autoimmune diseases in celiac disease: protective effect of the gluten-free diet. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2009;48:645-6.
370. Colecchia A, Di Biase AR, Scaioli E, Festi D. Coeliac disease and autoimmune hepatitis: Gluten-free diet can influence liver disease outcome. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2011;43:247.
371. Tommasini A, Not T, Ventura A. Ages of celiac disease: from changing environment to improved diagnostics. *World journal of gastroenterology : WJG* 2011;17:3665-71.
372. Spiegel BM, DeRosa VP, Gralnek IM, Wang V, Dulai GS. Testing for celiac sprue in irritable bowel syndrome with predominant diarrhea: a cost-effectiveness analysis. *Gastroenterology* 2004;126:1721-32.
373. Kurppa K, Collin P, Maki M, Kaukinen K. Celiac disease and health-related quality of life. *Expert review of gastroenterology & hepatology* 2011;5:83-90.
374. Barratt SM, Leeds JS, Sanders DS. Quality of life in Coeliac Disease is determined by perceived degree of difficulty adhering to a gluten-free diet, not the level of dietary adherence ultimately achieved. *J Gastrointest Liver Dis* 2011;20:241-5.
375. Usai P, Minerba L, Marini B, Cossu R, Spada S, Carpiniello B, et al. Case control study on health-related quality of life in adult coeliac disease. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2002;34:547-52.
376. Guyatt GH, Feeny DH, Patrick DL. Measuring health-related quality of life. *Annals of internal medicine* 1993;118:622-9.
377. Testa MA, Simonson DC. Assessment of quality-of-life outcomes. *The New England journal of medicine* 1996;334:835-40.
378. Testa MA, Nackley JF. Methods for quality-of-life studies. *Annu Rev Public Health* 1994;15:535-59.
379. Aparicio VA, Ortega FB, Carbonell-Baeza A, Femia P, Tercedor P, Ruiz JR, et al. Are there gender differences in quality of life and symptomatology between fibromyalgia patients? *Am J Mens Health* 2012;6:314-9.
380. Perez-Cuevas JB, Formiga F, Garcia-Carrasco M, Ramos M, Lara C, Rojas-Rodriguez J. [A quality of life study in women with systemic lupus erythematosus and its relation to disease activity]. *An Med Interna* 1999;16:457-60.

381. Kvien TK, Kaasa S, Smedstad LM. Performance of the Norwegian SF-36 Health Survey in patients with rheumatoid arthritis. II. A comparison of the SF-36 with disease-specific measures. *Journal of clinical epidemiology* 1998;51:1077-86.
382. Talamo J, Frater A, Gallivan S, Young A. Use of the short form 36 (SF36) for health status measurement in rheumatoid arthritis. *British journal of rheumatology* 1997;36:463-9.
383. de Groot V, Beckerman H, Twisk JW, Uitdehaag BM, Hintzen RQ, Minneboo A, et al. Vitality, perceived social support and disease activity determine the performance of social roles in recently diagnosed multiple sclerosis: a longitudinal analysis. *J Rehabil Med* 2008;40:151-7.
384. Bazzichi L, Maser J, Piccinni A, Rucci P, Del Debbio A, Vivarelli L, et al. Quality of life in rheumatoid arthritis: impact of disability and lifetime depressive spectrum symptomatology. *Clinical and experimental rheumatology* 2005;23:783-8.
385. Hurst NP, Ruta DA, Kind P. Comparison of the MOS short form-12 (SF12) health status questionnaire with the SF36 in patients with rheumatoid arthritis. *British journal of rheumatology* 1998;37:862-9.
386. Bhandarwar AH, Kasat GV, Palep JH, Shaikh TA, Bakhshi GD, Nichat PD. Impact of laparoscopic Nissen's fundoplication on response of disease specific symptoms and quality of life. *Updates Surg* 2013;65:35-41.
387. Masoumi SJ, Khademolhosseini F, Mehrabani D, Moradi F, Mostaghni AA, Zare N, et al. Correlation of quality of life with gastroesophageal reflux disease amongst Qashqai nomads in Iran. *Arch Iran Med* 2012;15:747-50.
388. Cappello C, Tremolaterra F, Pascariello A, Ciacci C, Iovino P. A randomised clinical trial (RCT) of a symbiotic mixture in patients with irritable bowel syndrome (IBS): effects on symptoms, colonic transit and quality of life. *Int J Colorectal Dis* 2013;28:349-58.
389. FriedenberG FK, Dadabhai A, Palit A, Sankineni A. The impact of functional constipation on quality of life of middle-aged Black Americans: a prospective case-control study. *Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation* 2012;21:1713-7.
390. Hu WH, Lam SK, Lam CL, Wong WM, Lam KF, Lai KC, et al. Comparison between empirical prokinetics, Helicobacter test-and-treat and empirical endoscopy in primary-care patients presenting with dyspepsia: a one-year study. *World journal of gastroenterology : WJG* 2006;12:5010-6.
391. Kulig M, Leodolter A, Vieth M, Schulte E, Jaspersen D, Labenz J, et al. Quality of life in relation to symptoms in patients with gastro-oesophageal reflux disease-- an analysis based on the ProGERD initiative. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2003;18:767-76.
392. Herlitz J, Brandrup-Wognsen G, Caidahl K, Haglid M, Karlson BW, Hartford M, et al. Improvement and factors associated with improvement in quality of life during 10 years after coronary artery bypass grafting. *Coron Artery Dis* 2003;14:509-17.
393. Piccininni M, Falsini C, Pizzi A. Quality of life in hereditary neuromuscular diseases. *Acta Neurol Scand* 2004;109:113-9.
394. Chan L, Mulgaonkar S, Walker R, Arns W, Ambuhl P, Schiavelli R. Patient-reported gastrointestinal symptom burden and health-related quality of life following conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium. *Transplantation* 2006;81:1290-7.
395. Enck P, Dubois D, Marquis P. Quality of life in patients with upper gastrointestinal symptoms: results from the Domestic/International Gastroenterology Surveillance Study (DIGEST). *Scand J Gastroenterol Suppl* 1999;231:48-54.
396. Munch A, Ignatova S, Strom M. Adalimumab in budesonide and methotrexate refractory collagenous colitis. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2012;47:59-63.
397. Baiardini I, Braido F, Menoni S, Bellandi G, Savi E, Canonica GW, et al. Wellbeing, illness perception and coping strategies in Italian Celiac patients. *International journal of immunopathology and pharmacology* 2012;25:1175-82.
398. Mustalahti K, Collin P, Sievanen H, Salmi J, Maki M. Osteopenia in patients with clinically silent coeliac disease warrants screening. *Lancet* 1999;354:744-5.
399. Kempainen T, Kroger H, Janatuinen E, Arnala I, Kosma VM, Pikkarainen P, et al. Osteoporosis in adult patients with celiac disease. *Bone* 1999;24:249-55.
400. Diaz Curiel M, Garcia JJ, Carrasco JL, Honorato J, Perez Cano R, Rapado A, et al. [Prevalence of osteoporosis assessed by densitometry in the Spanish female population]. *Medicina clinica* 2001;116:86-8.

401. Larussa T, Suraci E, Nazionale I, Abenavoli L, Imeneo M, Lizza F. Bone mineralization in celiac disease. *Gastroenterology research and practice* 2012;2012:198025.
402. Douroudis K, Tarassi K, Athanassiades T, Giannakopoulos F, Kominakis A, Thalassinos N, et al. HLA alleles as predisposal factors for postmenopausal osteoporosis in a Greek population. *Tissue Antigens* 2007;69:592-6.
403. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *The American journal of medicine* 1993;94:646-50.
404. Kakehasi AM, Mendes CM, Coelho LG, Castro LP, Barbosa AJ. The presence of *Helicobacter pylori* in postmenopausal women is not a factor to the decrease of bone mineral density. *Arq Gastroenterol* 2007;44:266-70.
405. Kakehasi AM, Rodrigues CB, Carvalho AV, Barbosa AJ. Chronic gastritis and bone mineral density in women. *Digestive diseases and sciences* 2009;54:819-24.
406. Green PH. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology* 2005;128:S74-8.
407. Murray JA, McLachlan S, Adams PC, Eckfeldt JH, Garner CP, Vulpe CD, et al. Association between celiac disease and iron deficiency in Caucasians, but not non-Caucasians. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2013;11:808-14.
408. Papagiannakis P, Michalopoulos C, Papalexi F, Dalampoura D, Diamantidis MD. The role of *Helicobacter pylori* infection in hematological disorders. *Eur J Intern Med* 2013.
409. Tan HJ, Goh KL. Extragastrintestinal manifestations of *Helicobacter pylori* infection: facts or myth? A critical review. *Journal of digestive diseases* 2012;13:342-9.
410. Goddard AF, James MW, McIntyre AS, Scott BB. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *Gut* 2011;60:1309-16.
411. Abrams JA, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Seronegative celiac disease: increased prevalence with lesser degrees of villous atrophy. *Digestive diseases and sciences* 2004;49:546-50.
412. Rubio-Tapia A, Van Dyke CT, Lahr BD, Zinsmeister AR, El-Youssef M, Moore SB, et al. Predictors of family risk for celiac disease: a population-based study. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2008;6:983-7.
413. Cronin CC, Shanahan F. Exploring the iceberg--the spectrum of celiac disease. *The American journal of gastroenterology* 2003;98:518-20.
414. Kamin DS, Furuta GT. The iceberg cometh: establishing the prevalence of celiac disease in the United States and Finland. *Gastroenterology* 2004;126:359-61; discussion 61.
415. West J, Logan RF, Hill PG, Khaw KT. The iceberg of celiac disease: what is below the waterline? *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2007;5:59-62.

ANEXOS

ANEXO 1: HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

PROTOCOLO FAMILIARES DE CELIACOS

Protocolo: _____

Apellidos y Nombre _____			
Fecha de nacimiento: EDAD _____ ____/____/____		NHC: _____	
Dirección: _____			Teléfono: _____
Peso (Kg): _____	Talla(cm): _____	Alergia: No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Tipo: _____
Enf. autoinmunes: DM <input type="checkbox"/> Tiroides <input type="checkbox"/> CBP <input type="checkbox"/> Enf. dermatológica <input type="checkbox"/> Otras: _____		Dieta previa: DSG <input type="checkbox"/> DCG <input type="checkbox"/>	
Parentesco: <input type="checkbox"/> Padre <input type="checkbox"/> Hermano <input type="checkbox"/> Hijo <input type="checkbox"/> Otros.....		Sexo: <input type="checkbox"/> Varon <input type="checkbox"/> Mujer	
Clínica: <input type="checkbox"/> diarrea <input type="checkbox"/> estreñimiento <input type="checkbox"/> dolor abdominal <input type="checkbox"/> distensión abdominal <input type="checkbox"/> flatulencia <input type="checkbox"/> sensación de saciedad precoz <input type="checkbox"/> anemia ferropénica <input type="checkbox"/> dermatitis herpetiforme <input type="checkbox"/> otros _____			
Recogida de muestras			
Gastroscopia <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Heces Basal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Analítica Basal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
	Heces DCG <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Analítica DCG <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
	Heces DSG <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Analítica DSG <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
Gastroscopia			
Fecha realización: ____/____/____	Hallazgos: <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> H.hiato <input type="checkbox"/> Otros.....		
	Biopsia: <input type="checkbox"/> MARSH0 <input type="checkbox"/> MARSH1 <input type="checkbox"/> MARSH2 <input type="checkbox"/> MARSH3A <input type="checkbox"/> MARSH3B <input type="checkbox"/> MARSH 3C		
HLA II			
HLA-DQ2 <input type="checkbox"/>	DQA1*0501	DQB1*0201	<input type="checkbox"/> Homocigoto
HLA-DQ8 <input type="checkbox"/>	DQA1*0301	DQB1*0302	<input type="checkbox"/> Heterocigoto
HLA DQ _____			<input type="checkbox"/> No componente genético
SEROLOGIA CELIACA			
Visita inicial (V0) Dieta Basal			
Anti-gliadina IgA: _____			
Anti-gliadina IgG: _____			
Anti-tTG: _____			
IgA total: _____			
Datos analítica Basal (V0)			
Hemoglobina	Fe sérico	Ferritina	IST

GOT	GPT	Albúmina	Colest	HDL	TGL
Datos analítica DSG (V2)					
Hemoglobina		Fe sérico	Ferritina		IST
GOT	GPT	Albúmina	Colest	HDL	TGL
DSG					
Dieta sin gluten. Fecha Inicio ____/____/____					
Cumplimiento DSG (según paciente): <input type="checkbox"/> Estricta <input type="checkbox"/> Parcial <input type="checkbox"/> No cumpl.					
Transgresiones dietéticas: <input type="checkbox"/> Diaria <input type="checkbox"/> Semanal <input type="checkbox"/> Ocasional <input type="checkbox"/> Nunca					
Cumplimiento DSG (según investigador): <input type="checkbox"/> Estricta <input type="checkbox"/> Parcial <input type="checkbox"/> No cumpl.					
Tolerancia DSG: <input type="checkbox"/> Excelente <input type="checkbox"/> Muy buena <input type="checkbox"/> Buena <input type="checkbox"/> Regular <input type="checkbox"/> Mala					
Visita inicial (V0) Fecha: ____/____/____					
CSI					
GSRs					
SF-12					
PWBI					
Fecha Heces Basal ____/____/____			Nº deposic: ____/día ____/sem		
Características Heces (Bristol) _____			Observaciones:		
Visita 4ª semana (V1) Fecha: ____/____/____					
CSI					
GSRs					
Fecha Heces DCG ____/____/____			Nº deposic: ____/día ____/sem		
Características Heces (Bristol) _____			Observaciones:		
Visita 8ª semana (V2) Fecha: ____/____/____					
CSI					
GSRs					
Fecha Heces DSG ____/____/____			Nº deposic: ____/día ____/sema		
Características Heces (Bristol) _____			Observaciones:		
VALORACION FINAL					
Abandono estudio: ____/____/____			Estudio completo <input type="checkbox"/> Estudio incompleto <input type="checkbox"/>		
Observaciones Finales					

ANEXO 2: SF36v2

CUESTIONARIO DE SALUD SF-36v2

Sexo: 1 Hombre

Edad: |__|__| años

2 Mujer

Iniciales del |__|__|__|
paciente:

Forma de
administración del
cuestionario: →

1 Auto-administrado →

7c. ¿Ha necesitado ayuda?

1 Sin ninguna ayuda

2 Con ayuda

2 Entrevistador

Fecha de hoy: |__|__|/|__|__|/|__|__|

INSTRUCCIONES:

Las preguntas que siguen se refieren a lo que usted piensa sobre su salud. Sus respuestas permitirán saber cómo se encuentra usted y hasta qué punto es capaz de hacer sus actividades habituales

Conteste cada pregunta tal como se indica. Si no está seguro/a de cómo responder a una pregunta, por favor conteste lo que le parezca más cierto.

Elija su respuesta y haga una marca así:

MARQUE UNA SOLA RESPUESTA

1. En general, usted diría que su salud es:

Excelente

Muy buena

Buena

Regular

Mala

2. ¿Cómo diría que es su salud actual, comparada con la de hace un año?

Mucho mejor
ahora que hace
un año

Algo mejor
ahora que hace
un año

Más o menos igual
ahora que hace un
año

Algo peor ahora
que hace un año

Mucho peor
ahora que hace
un año

LAS SIGUIENTES PREGUNTAS SE REFIEREN A ACTIVIDADES
O COSAS QUE USTED PODRÍA HACER EN UN DÍA NORMAL.

3. Su salud actual, ¿le limita para hacer **esfuerzos intensos**, tales como correr, levantar objetos pesados, o participar en deportes agotadores?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

4. Su salud actual, ¿le limita para hacer **esfuerzos moderados**, como mover una mesa, pasar la aspiradora, jugar a los bolos o caminar más de una hora?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

5. Su salud actual, ¿le limita para **coger o llevar la bolsa de la compra?**

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

6. Su salud actual, ¿le limita para **subir varios pisos** por la escalera?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

7. Su salud actual, ¿le limita para **subir un solo piso** por la escalera?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

8. Su salud actual, ¿le limita para **agacharse o arrodillarse**?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

9. Su salud actual, ¿le limita para caminar **un kilómetro o más**?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

10. Su salud actual, ¿le limita para caminar **varios centenares de metros**?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

11. Su salud actual, ¿le limita para caminar **unos 100 metros**?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

12. Su salud actual, ¿le limita para **bañarse o vestirse por sí mismo**?

Sí, me limita mucho

Sí, me limita un poco

No, no me limita nada

LAS SIGUIENTES PREGUNTAS SE REFIEREN A PROBLEMAS EN SU TRABAJO O EN SUS ACTIVIDADES COTIDIANAS.

13. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo tuvo que **reducir el tiempo** dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

14. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo **hizo menos** de lo que hubiera querido hacer, a causa de su salud física?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

15. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo tuvo que **dejar de hacer algunas tareas** en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

16. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo tuvo **dificultad** para hacer su trabajo o sus actividades cotidianas (por ejemplo, le costó más de lo normal), a causa de su salud física?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

17. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo tuvo que **reducir el tiempo** dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

18. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo **hizo menos** de lo que hubiera querido hacer, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

19. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo hizo su trabajo o sus actividades cotidianas menos **cuidadosamente** que de costumbre, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

20. Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto su salud física o los problemas emocionales han dificultado sus actividades sociales habituales con la familia, los amigos, los vecinos u otras personas?

Nada

Un poco

Regular

Bastante

Mucho

21. ¿Tuvo dolor en alguna parte del cuerpo durante las 4 últimas semanas?

No, ninguno Sí, muy poco Sí, un poco Sí, moderado Sí, mucho Sí, muchísimo

22. Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto el dolor le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)?

Nada Un poco Regular Bastante Mucho

LAS PREGUNTAS QUE SIGUEN SE REFIEREN A CÓMO SE HA SENTIDO Y CÓMO LE HAN IDO LAS COSAS DURANTE LAS 4 ÚLTIMAS SEMANAS. EN CADA PREGUNTA RESPONDA LO QUE SE PAREZCA MÁS A CÓMO SE HA SENTIDO USTED.

23. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió lleno de vida?

Siempre Casi siempre Algunas veces Sólo alguna vez Nunca

24. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo estuvo muy nervioso?

Siempre Casi siempre Algunas veces Sólo alguna vez Nunca

25. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió tan bajo de moral que nada podía animarle?

Siempre Casi siempre Algunas veces Sólo alguna vez Nunca

26. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió calmado y tranquilo?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

27. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo tuvo mucha energía?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

28. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió desanimado y deprimido?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

29. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió agotado?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

30. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió feliz?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

31. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió cansado?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

32. Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué frecuencia la salud física o los problemas emocionales le han dificultado sus actividades sociales (como visitar a los amigos o familiares)?

Siempre

Casi siempre

Algunas veces

Sólo alguna vez

Nunca

POR FAVOR, DIGA SI LE PARECE CIERTA O FALSA

CADA UNA DE LAS SIGUIENTES FRASES.

33. Creo que me pongo enfermo más fácilmente que otras personas.

Totalmente cierta

Bastante cierta

No lo sé

Bastante falsa

Totalmente falsa

34. Estoy tan sano como cualquiera.

Totalmente cierta

Bastante cierta

No lo sé

Bastante falsa

Totalmente falsa

35. Creo que mi salud va a empeorar.

Totalmente cierta

Bastante cierta

No lo sé

Bastante falsa

Totalmente falsa

36. Mi salud es excelente.

Totalmente cierta

Bastante cierta

No lo sé

Bastante falsa

Totalmente falsa

ANEXO 3: ÍNDICE DE BIENESTAR PSICOLÓGICO (PGWBI)

Nombre:.....NHC:.....

ÍNDICE DE BIENESTAR PSICOLÓGICO

1. En general, ¿qué tal se ha sentido durante el mes pasado?

- De excelente humor 5
Muy animado/a..... 4
Bastante animado/a 3
He tenido ratos buenos y ratos malos 2
Más bien desanimado/a..... 1
Muy desanimado/a 0

2. ¿Con qué frecuencia ha tenido molestias a causa de una enfermedad, malestar o dolor durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Todos los días..... 0
Casi todos los días..... 1
La mitad del tiempo 2
De vez en cuando, pero menos de la mitad del tiempo..... 3
Rara vez 4
Ninguna vez..... 5

3. ¿Se ha sentido deprimido/a durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Sí, hasta el punto de querer quitarme la vida 0
Sí, hasta el punto de no importarme nada..... 1
Sí, muy deprimido/a casi todos los días..... 2
Sí, bastante deprimido/a varias veces 3
Sí, un poco deprimido/a de vez en cuando 4
No, no me he sentido deprimido/a en absoluto 5

4. ¿Ha sido capaz de dominar completamente su comportamiento, pensamientos, emociones y sentimientos durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Sí, totalmente..... 5
Sí, la mayor parte del tiempo..... 4
Sí, en general 3
No demasiado bien..... 2
No, y me preocupa un poco..... 1
No, y me preocupa mucho..... 0

5. ¿Ha sufrido de los nervios durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Mucho, hasta el punto de no poder trabajar u ocuparme de mis cosas..... 0
Con mucha frecuencia 1
Bastantes veces..... 2
A veces, las suficientes para preocuparme 3
Un poco..... 4
No, en absoluto..... 5

6. ¿Cuánta energía o vitalidad ha tenido o sentido durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Lleno/a de energía o vitalidad 5
- Con bastante vitalidad la mayor parte del tiempo..... 4
- He tenido altibajos 3
- Generalmente, algo bajo/a de energía..... 2
- Muy poca energía la mayor parte del tiempo..... 1
- Sin energía -me sentía abatido/a, sin fuerza 0

7. Me he sentido triste y desanimado/a durante el mes pasado

(Marque una casilla)

- No, en absoluto..... 5
- Pocas veces..... 4
- En algunos momentos..... 3
- La mayor parte del tiempo..... 2
- Casi todo el tiempo 1
- Todo el tiempo..... 0

8. En términos generales, ¿ha estado en tensión durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Sí, extremadamente tenso/a la mayor parte del tiempo o todo el tiempo 0
- Sí, muy tenso/a la mayor parte del tiempo 1
- Generalmente no, pero me he encontrado bastante tenso/a algunas veces..... 2
- Me he sentido algo tenso/a en algunas ocasiones 3
- He estado generalmente poco tenso/a..... 4
- No he estado tenso/a ni he experimentado ningún tipo de tensión en absoluto 5

9. ¿Se ha sentido satisfecho/a y contento/a con su vida personal durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Muy contento/a todo el tiempo -no podría estar más satisfecho/a..... 5
- Muy contento/a la mayor parte del tiempo..... 4
- En general contento/a, satisfecho/a..... 3
- A veces bastante contento/a, a veces bastante descontento/a..... 2
- En general descontento/a, insatisfecho/a 1
- Muy descontento/a o insatisfecho/a la mayor parte del tiempo 0

10. ¿Se ha sentido lo suficientemente bien para hacer las cosas que le gusta hacer o que tenía que hacer durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Sí, sin duda alguna 5
- La mayor parte del tiempo..... 4
- Los problemas de salud me han limitado de manera importante 3
- Sólo me he sentido lo suficientemente bien para cuidar de mí mismo/a..... 2
- He necesitado alguna ayuda para cuidar de mí mismo/a..... 1
- He necesitado que alguien me ayudase en casi todo lo que tenía que hacer..... 0

11. ¿Se ha sentido tan triste y desanimado/a o tuvo tantos problemas que llegó a preguntarse si había algo que valiera la pena durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Continuamente, tanto que ya casi me he dado por vencido/a 0
Mucho 1
Bastante..... 2
Algo, lo suficiente para preocuparme 3
Un poco..... 4
No, en absoluto..... 5

12. Me he levantado fresco/a y descansado/a durante el mes pasado

(Marque una casilla)

- Ningún día 0
Pocos días 1
Algunos días 2
Bastantes días 3
La mayoría de los días 4
Todos los días..... 5

13. ¿Ha estado preocupado/a o ha temido por su salud durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Muchísimo..... 0
Mucho 1
Bastante..... 2
Algo..... 3
Casi nada..... 4
Nada 5

14. ¿Ha tenido algún motivo para preguntarse si estaba perdiendo la razón o el control sobre su manera de actuar, hablar, pensar, sentir o sobre su memoria durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- No, ninguno 5
Muy pocos 4
Alguno, pero no los suficientes para preocuparme..... 3
Alguno, y estoy un poco preocupado/a..... 2
Alguno, y estoy bastante preocupado/a 1
Sí, muchos, y estoy muy preocupado/a 0

15. Mi vida cotidiana ha estado llena de cosas interesantes durante el mes pasado

(Marque una casilla)

- En ningún momento..... 0
En muy pocas ocasiones 1
En algunos momentos..... 2
En bastantes momentos..... 3
La mayor parte del tiempo..... 4
Todo el tiempo..... 5

16. ¿Se ha sentido activo/a, con energía o por el contrario apático/a, sin ganas de nada durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Muy activo/a y con energía todos los días..... 5
Generalmente activo/a, con energía; nunca desganado/a, apático/a 4
Bastante activo/a, con energía; rara vez desganado/a y apático/a..... 3
Bastante desganado/a, apático/a; rara vez activo/a, con energía..... 2
Generalmente desganado/a, apático/a; nunca activo/a, con energía 1
Muy desganado/a, apático/a todos los días..... 0

17. ¿Se ha sentido ansioso/a, preocupado/a o alterado/a durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Sí, muchísimo, hasta el punto de estar enfermo/a o casi enfermo/a 0
Mucho 1
Bastante..... 2
Algunas veces, las suficientes para preocuparme 3
Un poco..... 4
No, en absoluto..... 5

18. Me he sentido emocionalmente equilibrado/a y seguro/a de mí mismo/a durante el mes pasado

(Marque una casilla)

- En ningún momento..... 0
En muy pocas ocasiones 1
En algunos momentos..... 2
En bastantes momentos..... 3
La mayor parte del tiempo..... 4
Todo el tiempo..... 5

19. ¿Se ha encontrado a gusto, relajado/a o, por el contrario, nervioso/a, tenso/a o irritado/a durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Me he encontrado a gusto, relajado/a durante (5) todo el mes..... 5
Me he encontrado a gusto, relajado/a la mayor parte del tiempo..... 4
Relajado/a en términos generales, pero algo tenso/a en ocasiones 3
Tenso/a en términos generales, pero bastante relajado/a en ocasiones..... 2
He estado nervioso/a, tenso/a e irritado/a la mayor parte del tiempo 1
He estado nervioso/a, tenso/a e irritado/a durante (6) todo el mes 0

20. Me he sentido/a alegre durante el mes pasado

(Marque una casilla)

- En ningún momento..... 0
En muy pocas ocasiones 1
En algunos momentos..... 2
En bastantes momentos..... 3
La mayor parte del tiempo..... 4
Todo el tiempo..... 5

21. Me he sentido cansado/a, fatigado/a, agotado/a o exhausto/a durante el mes pasado

(Marque una casilla)

- En ningún momento..... 5
En muy pocas ocasiones 4
En algunos momentos..... 3
En bastantes momentos..... 2
La mayor parte del tiempo..... 1
Todo el tiempo..... 0

22. ¿Ha estado o creído estar en tensión o estrés durante el mes pasado?

(Marque una casilla)

- Sí, casi más de lo que podía aguantar 0
Sí, bastante..... 1
Sí, algo, más de lo normal 2
Sí, algo, lo normal 3
Sí, un poco 4
No, en absoluto..... 5

ANEXO 4: ESCALA DE VALORACIÓN DE SÍNTOMAS GASTROINTESTINALES (GSRs)

Nombre:.....NHC:.....

ESCALA DE VALORACION DE SINTOMAS GASTROINTESTINALES (GSRs)

1. ¿Ha tenido dolor o malestar en la parte alta del abdomen o en la boca del estómago durante la última semana?

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

2. ¿Ha tenido ardor de estómago durante la última semana? (sensación desagradable de quemazón en el pecho)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

3. ¿Ha tenido reflujo ácido durante la última semana? (subida de pequeñas cantidades de ácido desde el estómago a la garganta)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

4. ¿Ha tenido dolor de hambre durante la última semana? (vacío en el estómago asociado a la necesidad de comer entre comidas)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

5. ¿Ha tenido náuseas durante la última semana? (por náuseas nos referimos a la sensación que antecede a las arcadas y a los vómitos)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

6. ¿Ha tenido molestias porque “le hayan hecho ruido las tripas”?

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

7. ¿Ha tenido hinchazón de estómago durante la última semana? (tener gases en el estómago)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

8. ¿Ha tenido eructos durante la última semana? (por eructos nos referimos a la expulsión de aire por la boca, que se asocia a menudo con una sensación de alivio)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

9. ¿Ha tenido ventosidades durante la última semana? (necesidad de “tirarse pedos”, que se asocia a menudo con sensación de alivio)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

10. ¿Ha estado estreñado durante la última semana? (“hacer de vientre” con menor frecuencia de la habitual)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

11. ¿Ha tenido diarrea durante la última semana? (aumento excesivo en la frecuencia de las deposiciones)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

12. ¿Ha tenido deposiciones blandas durante la última semana? (si sus deposiciones han sido unas veces duras y otras blandas, esta pregunta se refiere solamente a las molestias que haya podido sentir a causa de las deposiciones blandas)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

13. ¿Ha tenido deposiciones duras durante la última semana? (Si sus deposiciones han sido unas veces duras y otras blandas, esta pregunta se refiere solamente a las molestias que haya podido sentir a causa de las deposiciones duras)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

14. ¿Ha tenido una necesidad urgente de hacer de vientre durante la última semana? (necesidad repentina de ir al lavabo, que suele asociarse a la sensación de “no poder aguantar más”)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

15. ¿Al ir al lavabo durante la última semana, ¿ha tenido la sensación de no haber terminado de hacer de vientre? (sensación de no haber evacuado completamente a pesar de haberse esforzado)

- Ninguna molestia en absoluto
- Molestias insignificantes
- Ligeras molestias
- Molestias moderadas
- Molestias bastante fuertes
- Molestias fuertes
- Molestias muy fuertes

ANEXO 5: ÍNDICE DE SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD CELÍACA (CSI)

ÍNDICE DE SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD CELÍACA (CSI)

1. ¿Ha presentado en alguna ocasión molestias abdominales durante las últimas 4 semanas?

- Nunca..... 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

2. ¿En las últimas 4 semanas ha tenido náuseas?

- Nunca..... 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

3. ¿Ha presentado ruidos en el estómago durante las últimas 4 semanas?

- Nunca..... 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

4. ¿Se ha sentido hinchazón del estómago en las últimas 4 semanas?

- Nunca..... 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

5. ¿En las últimas 4 semanas he tenido diarrea?

- Nunca..... 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

6. ¿Cuándo va al WC durante las últimas 4 semanas, que sigue teniendo ganas de hacer de vientre cuando ya ha terminado la defecación?

- Nunca 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

7. ¿Ha padecido dolor abdominal cuando tiene hambre durante las 4 últimas semanas?

- Nunca 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

8. ¿En las últimas 4 semanas ha tenido sensación de falta de energía?

- Nunca 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

9. ¿En las últimas 4 semanas ha presentado dolor de cabeza?

- Nunca 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

10. ¿Ha padecido sensación de ansia por comer en las últimas 4 semanas?

- Nunca 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

11. ¿Ha tenido falta de apetito en las últimas 4 semanas?

- Nunca 1
Pocas veces..... 2
Ocasional..... 3
Frecuentemente..... 4
Todo el tiempo..... 5

12. ¿Cómo considera su calidad de vida en relación con la enfermedad celíaca?

- Excelente..... 1
- Muy buena..... 2
- Buena..... 3
- Regular..... 4
- Mala..... 5

13. ¿Y globalmente, como considera que es su salud?

- Excelente..... 1
- Muy buena..... 2
- Buena..... 3
- Regular..... 4
- Mala..... 5

14. ¿Determine el grado de dolor físico que ha padecido durante las últimas 4 semanas?

- Nada..... 1
- Un poco..... 2
- Moderado..... 3
- Intenso..... 4
- Insoportable..... 5

15. “Me encuentro bien”. Señale la opción con la que más se identifica:

- Estoy totalmente de acuerdo..... 1
- Estoy bastante de acuerdo..... 2
- En ocasiones..... 3
- Casi nunca..... 4
- En absoluto..... 5

16. “Mi estado de salud es similar al de las personas que conozco de mi misma edad” identifique la opción más correcta?

- Estoy totalmente de acuerdo..... 1
- Estoy bastante de acuerdo..... 2
- En ocasiones..... 3
- Casi nunca..... 4
- En absoluto..... 5

ANEXO 6: CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA DE INFORMACION AL SUJETO PARTICIPANTE SOLICITUD DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL ESTUDIO:

“Respuesta clínica, inmunológica y microbiológica a la ingesta controlada de gluten en los familiares de pacientes celíacos en función de la carga genética”

INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación relacionado con la Enfermedad Celiaca, en el que se le invita a participar. Por ello, queremos proporcionarle la información correcta y suficiente para que pueda valorar si desea o no participar en el estudio. Lea con atención esta hoja informativa y nosotros le aclararemos cualquier duda que le pueda surgir.

En primer lugar, queremos que sepa que su participación (o la de su familiar a su cargo) es voluntaria. Si decide que no quiere participar, no se preocupe, esto no repercutirá de ninguna manera en la atención que todos los profesionales del Hospital le prestaremos. Por el contrario, si decide participar, sepa que puede retirarse de él cuando quiera y sin tener que dar explicaciones.

FINALIDAD DEL ESTUDIO

El grupo de médicos que solicita su participación está formado por médicos del Hospital de León y de la Universidad de León, procedentes de diferentes especialidades (Aparato Digestivo, Inmunología, Anatomía Patológica, Bioquímica y Microbiología) que forman un equipo multidisciplinar con experiencia en el trabajo conjunto y coordinado en las enfermedades que afectan a la mucosa del tubo digestivo.

La enfermedad celiaca constituye una intolerancia al gluten con una frecuencia en aumento en nuestra población. Existen muchas incógnitas acerca de esta enfermedad y la finalidad principal de este proyecto es responder a alguna de ellas. El objetivo principal es analizar la respuesta que tienen los familiares de pacientes con Enfermedad Celiaca ante el gluten de la dieta. La hipótesis de este trabajo se basa en el alto riesgo que tienen los familiares de padecer también enfermedad celiaca. Este

hecho nos hace pensar que podemos detectar cambios clínicos o analíticos en función del tipo de dieta y de la genética que presenta.

¿QUÉ SOLICITAMOS DE USTED?

Como familiar de paciente celiaco de forma rutinaria se realiza un cribado de enfermedad mediante análisis de sangre y biopsia de duodeno en función del grado de sospecha. En este estudio además de las prácticas de rutina se le va a proponer una dieta sin gluten similar a la que realiza su familiar afectado de celiaca y una dieta con un suplemento controlado de gluten. En estas tres fases de la dieta se le va a solicitar:

- La realización de un cuestionario clínico para ver cambios en posibles síntomas digestivos y en calidad de vida relacionada con la salud.
- Muestras de suero y heces para su posterior análisis.

En función de su componente genético de riesgo de enfermedad celiaca se le va a proponer también la realización de una biopsia de duodeno para evaluar daño intestinal. Esta biopsia solamente sería realizada en un momento del estudio mediante una endoscopia digestiva.

Usted puede revocar su concurso en el estudio una vez iniciado éste, en cualquier momento, sin perjuicio alguno, sin tener que dar explicaciones y sin que afecte en modo alguno a la atención de los médicos de la Sección de Aparato Digestivo que le atienden regularmente.

Su médico le proporcionará cualquier información adicional relevante que surja durante la evolución del estudio y que pueda cambiar su decisión de seguir participando en el mismo.

CONFIDENCIALIDAD

Su identidad personal será disociada de las muestras que usted aporte para el estudio mediante la adjudicación de un código numérico, de tal forma que sólo los médicos que le prestan atención directa la conocerán. El tratamiento, la comunicación y la cesión de datos de carácter personal se ajusta a lo dispuesto en la Ley de Protección de Datos (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre).

Los resultados del estudio podrán ser comunicados en Reuniones y Publicaciones Científicas, manteniéndose siempre una estricta confidencialidad sobre la identidad de los pacientes

COSTES

En este estudio no se contempla ninguna compensación económica para los participantes. Del mismo modo, todas las pruebas a realizar así como cualquier consulta que desee realizar al médico sobre el objeto de la investigación será gratuitas, no tendrán coste alguno para usted

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Si tras leer detenidamente esta información y recibir las oportunas aclaraciones a las preguntas que pueda formular, decide participar en el estudio deberá firmar el presente documento. Tanto si decide hacerlo como si no le interesa participar, muchas gracias por su colaboración.

Estudio: “Respuesta clínica, inmunológica y microbiológica a la ingesta controlada de gluten en los familiares de pacientes celíacos en función de la carga genética”

Yo....., con DNI número declaro recibido información detallada sobre este estudio, he leído y entendido la información que se me ha presentado de la que se me entrega una copia y he podido consultar mis dudas con el Dr..... (Investigador).

Como (enfermo, padre, madre o responsable legal, señale lo que proceda) DOY MI CONSENTIMIENTO voluntariamente para la participación en este estudio y para la utilización de las muestras de sangre y tejidos, exclusivamente para los fines de investigación anteriormente citados.

Comprendo que mi participación es voluntaria. Doy mi consentimiento para que los coordinadores accedan a mis datos y soy consciente de que dicho consentimiento es revocable e independiente de mi participación en el estudio.

Comprendo que puedo retirarme del estudio: Cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Fecha: _____ **Firma del participante:** _____
(completar por el participante)

Fecha: _____ **Firma del investigador:** _____
(completar por el investigador)

CURRICULUM

CURRICULUM VITAE

Nombre: Luis Manuel Vaquero Ayala.

Fecha Nacimiento: 20/1/1981.

Teléfono: **662318599**

NIF: 71.143.340-Q



Dirección:

C/ Lope de Fenar 17 1ªA
24003 León.

e-mail:

luisvaqueroayala@gmail.com

FORMACIÓN ACADÉMICA

- Universidad Autónoma de Barcelona: Diplomado en Estadística Aplicada a Ciencias de la Salud. *Barcelona, 2010-2012*
- Universidad de León. Máster en Innovación en Ciencias Biomédicas y de la Salud. PROYECTO DE FIN DE MÁSTER “DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA EN FAMILIARES DE PRIMER GRADO” por la Universidad de León en Julio 2010. *León, 2010*
- Universidad de Valladolid. Licenciatura en Medicina y Cirugía. **PREMIO EXTRAORDINARIO DE LA PROMOCIÓN.** *Valladolid, 2002-2008*

EXPERIENCIA PROFESIONAL

- **Complejo Asistencial Universitario de León.** *León, Junio 2013- actualidad*
- *FEA Servicio de A. Digestivo
- *MIR Servicio de A. Digestivo. Premio al mejor residente de la promoción. *León, 2009 - 2013*

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

- Co-investigador en 6 proyectos multidisciplinares financiados entre los que destaca:
 - “CARACTERÍSTICAS Y EVOLUCIÓN DE LA ENTERITIS LINFOCÍTICA DUODENAL EN FUNCIÓN DEL RIESGO GENÉTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA, DE LA RETIRADA DEL GLUTEN DE LA DIETA Y DE LA ERRADICACIÓN DEL HELICOBACTER PYLORI” PI 13/01133. financiado por el INSTITUTO DE SALUD CARLOS III beca FIS.
 - “CRIBADO MEDIANTE BIOPSIA DUODENAL EN FAMILIARES ADULTOS DE PACIENTES CELÍACOS, RELACIÓN CON LA CLÍNICA, INGESTA DE GLUTEN Y PERMEABILIDAD INTESTINAL. financiado por la Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León.
 - Ensayo clínico multidisciplinar proyecto DELIAC “MARCADORES PARA EL SEGUIMIENTO DE LA DIETA SIN GLUTEN”, financiado por el subprograma innpacto 2011.
 - “RESPUESTA CLÍNICA, INMUNOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA A LA INGESTA CONTROLADA DE GLUTEN EN LOS FAMILIARES DE PACIENTES CELÍACOS EN FUNCIÓN DE LA CARGA GENÉTICA” P110/02447, financiado INSTITUTO DE SALUD CARLOS III beca FIS.
 - “ACTIVIDAD SÉRICA DE LA PROLIL-ENDOPEPTIDASA Y DIPEPTIDYL PEPTIDYL PEPTIDASA IV EN FUNCIÓN DE LA INGESTA DE GLUTEN Y DE ENTEROPATÍA SENSIBLE AL GLUTEN “, financiado por la Obra Social Caja Burgos.

- "LINFOCITOS T GAMMA-DELTA EN LA ENFERMEDAD CELÍACA: ESTUDIO FENOTÍPICO Y FUNCIONAL EN NIÑOS Y ADULTOS CELÍACOS Y EN FAMILIARES SANOS GENÉTICAMENTE SUSCEPTIBLES", financiado por la Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León.

PUBLICACIONES

- Vaquero L, Arias L, Nuñez A, Caminero A, Hernandez M, Casqueiro J, Ruiz de Morales JM, Vivas S. First degree relatives screening. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2014 Mar;26(3):263-7
- Vaquero L, Alvarez-Cuenllas B, García-Alvarado M, Nuñez A, García S, Hernando M, Vivas S. Intestinal lymphoma associated with celiac disease in early stages of life. Aceptado para su publicación en la Revista Española de Enfermedades digestivas.
- Vaquero L, Alvarez-Cuenllas B, Aparicio M, García M, Honrado E, Olcoz JL, Vivas S. Chronic diarrhea associated with a lymphoproliferative process. Gastroenterol Hepatol. 2013;36:458-60.
- Vaquero LM, García M, Álvarez B, Pisabarrros C, Sierra M, Vivas S et al. Terminal ileitis of uncommon etiology. Gastroenterol Hepatol. 2012;35:608-9.
- Vaquero L, Alvarado MG, Arias L, Calleja S, Hernando M, Vivas S et al. Enteropathy-associated intestinal t-cell lymphoma without celiac disease. Gastroenterol Hepatol. 2012;35:17-21.

CAPITULOS EN LIBROS

- **Vaquero Ayala L**, Arias Rodriguez L, Vivas Alegre S (2012). "Enfermedad celíaca refractaria". En Rodrigo L, "La enfermedad celíaca". Madrid, ED Omnia Science Monográficos.
- **Caminero A, Nistal E; Herrán A, Andrés J, Vaquero L, Vivas S, Ruiz de morales JM, Casqueiro J. (2013)** . "Glúten Metabolism in humans: involvement of the gut microbiota". En Ronald R. Watson, PhD, Victor R. Preedy, PhD, Sherma Zibadi, MD, PhD, "Wheat and Rice in disease prevention and Health. ED Elsevier.

COMUNICACIONES EN CONGRESOS

- 55 posters y 44 comunicaciones orales-ponencias presentadas diferentes congresos. Entre ellas destaca:
 - Cápsula endoscópica: indicaciones y revisiones de los hallazgos endoscópicos. Moderador: Dr. Luis Fernández Salazar. Clínico Ponente: Dr. Luis Vaquero Ayala. Mesa de residentes de la Semana de las Enfermedades Digestivas 2012. Bilbao, 2-5 de Junio 2012.
 - Optimación en los métodos de screening de la enfermedad celíaca en familiares de primer grado adultos. SED 2010. **PREMIO A LA MEJOR COMUNICACIÓN POSTER.**
 - Evaluación de los procedimientos de cribado de la enfermedad celíaca en los familiares de primer grado de los pacientes celíacos. XXXVI Reunión ACAD 2013. **PREMIO A LA MEJOR COMUNICACIÓN ORAL.**

Coeliac disease screening in first-degree relatives on the basis of biopsy and genetic risk

Luis Vaquero^a, Alberto Caminero^d, Alejandro Nuñez^a, Mercedes Hernando^b, Cristina Iglesias^c, Javier Casqueiro^{e,d} and Santiago Vivas^{a,f}

Background Serological markers of coeliac disease (CD) lack diagnostic value to identify mild histopathological lesions mainly in adults at risk of CD.

Aims The aim of this study was to evaluate the usefulness of human leukocyte antigen (HLA)-DQ2/8 genotyping, followed by duodenal biopsy for the detection of CD in adult first-degree relatives (FDRs) of patients with CD.

Materials and methods Ninety-two adult DQ2/8 positive FDRs were consecutively included. A duodenal biopsy was offered irrespective of the serology result or associated symptoms. The clinical features, associated autoimmune diseases and biochemical parameters were recorded.

Results Sixty-seven FDRs (mean age 34 years) underwent a duodenal biopsy. Histopathological alterations were found in 32 (48%) and showed the following stages: 12 Marsh I (18%), one Marsh II (1.5%), four Marsh IIIA (6%), five Marsh IIIB (7.5%) and 10 Marsh IIIC (15%). Positive serological markers were present in 17/67 (25%), with only one showing Marsh I and the remainder presenting some degree of duodenal atrophy (Marsh III). In addition, 33/67 (54%) had gastrointestinal symptoms, with dyspepsia being the most prevalent. The distribution of symptoms, anaemia and autoimmune disease was independent

of the duodenal histopathological stage. Serology-based screening would diagnose 50% of the cases showing any degree of CD spectrum and miss 6% of the cases with mucosal atrophy.

Conclusion Adult FDRs of patients with CD can benefit from a screening strategy on the basis of HLA-DQ genotyping, followed by a duodenal biopsy. Gastrointestinal symptoms and lymphocytic enteritis are common findings that may benefit from a gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 00:000–000 © 2013 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2013, 00:000–000

Keywords: coeliac disease, gluten-free diet, human leukocyte antigen typing, lymphocytic enteritis, screening

^aGastroenterology Unit, ^bPathology Department, ^cPaediatric Department, University Hospital of León, Altos de Nava s/n, ^dInstitute of Molecular Biology (INBIOMIC), ^eMicrobiology Department and ^fInstitute of Biomedicine (IBIOMED), University of León, León, Spain

Correspondence to Santiago Vivas, MD, Gastroenterology Unit, University Hospital of León, Altos de Nava s/n, 24071 León, Spain
Tel: +34 987 234 900 x43243; fax: +34 987 233 322;
e-mail: svivasa@gmail.com

Received 29 August 2013 Accepted 31 October 2013

Introduction

Coeliac disease (CD) is an immune-mediated sensitivity to gluten. It is actually considered to be a multifactorial disorder with a broad spectrum of symptoms and intestinal villous alterations that include lymphocytic enteritis and mucosal atrophy [1].

A familial predisposition is well known in CD. First-degree relatives (FDRs) represent a group of individuals at risk for CD, with an overall prevalence of 16% [2]. Thus, FDRs must be screened for CD using a serological screen, followed by a duodenal biopsy in those who test positive. However, this screening strategy has several concerns, especially in adult FDRs.

CD presentation is known to be different in adults because they usually show lower antibody titres and less severe histopathological changes than CD presentation in children [3]. Tissue transglutaminase antibodies (tTGAs) are most commonly used in screening, but their sensitivity is low in cases with a minor degree of villous atrophy [4]. In these cases, the serological screen

may be negative in a high percentage of FDRs, and subsequent follow-up tests are performed until the antibodies become positive.

Recent data suggest that FDRs may have CD with a negative serology, but still show lymphocytic enteritis and symptoms of malabsorption. A screening approach on the basis of human leukocyte antigen (HLA) genotyping, followed by a duodenal biopsy in positive cases can avoid the low sensitivity of serology in those cases with mild enteropathy. Using this screening method, the number of cases detected among the FDRs might increase [5].

Our aim was to evaluate the usefulness of a screening strategy in the adult FDRs of patients with CD on the basis of HLA genotyping, followed by a duodenal biopsy for the diagnosis of CD.

Materials and methods

Patients

Adult FDRs of CD cases diagnosed at the gastroenterology outpatient clinic of the University Hospital of León

(adult and paediatric) were consecutively screened and invited to participate in the study between January 2009 and April 2012. The diagnosis of CD in the index cases was made according to the previously used ESPGHAN criteria [6].

HLA-DQ2 and HLA-DQ8 were typed in 125 FDR during the study period. Ninety-two adult FDRs were HLA-DQ2 positive or HLA-DQ8 positive and the remaining 33 showed different DQ alleles. Finally, 67 patients completed the study, with the remaining 25 refusing to undergo the duodenal biopsy. All of the 25 patients who refused duodenal biopsy and all of the 33 patients with negative HLA-DQ2/8 showed negative tTGA levels. The study was approved by our ethical committee, and all the participants signed a written informed consent.

Study protocol

Symptoms such as diarrhoea, constipation, abdominal pain and dyspepsia were recorded in a questionnaire. The presence of anaemia or autoimmune diseases was also recorded.

The quantitative enzyme-linked immunosorbent assay detection of the human immunoglobulin A (IgA) class tTGA in serum was performed using available commercial kits (Phadia Diagnostics, Uppsala, Sweden). The manufacturer reference range for a positive result was greater than 10 U. On the basis of our experience, a cut-off value of 4 U showed a diagnostic value similar to IgA antiendomysial antibodies [7,8]. The serum levels of IgA were in the normal range in all the patients.

The adult FDRs were typed for HLA-DQ2 (*DQA1*0501* and *DQB1*0201* alleles) and HLA-DQ8 (*DQA1*03* and *DQB1*0302* alleles) by a PCR using specific primers [9].

All 67 FDRs underwent an upper endoscopy to obtain 4–6 specimens from the second and third portions of the duodenum. A technician with experience in processing duodenal samples oriented the biopsies and the histopathological analysis was carried out using haematoxylin–eosin staining and CD3 immunophenotyping. An expert pathologist (M.H.) examined the biopsies and classified them according to the revised Marsh criteria [10]. Lymphocytic enteritis (Marsh I) was defined when more than 25 intraepithelial lymphocytes per 100 epithelial cells were present.

Statistical analysis

Categorical variables were expressed as numbers and percentages, and quantitative variables as mean and SD. Categorical variables were analysed by cross-tabulations using a χ^2 -test with a continuity correction test when necessary. Differences between groups for quantitative variables were assessed using Student's *t*-test or the analysis of variance test or the Mann–Whitney *U*-test when the group values deviated from a normal curve.

P values less than 0.05 was selected to reject the null hypothesis by two-tailed tests.

Results

The 67 FDRs had a mean age of 34 years, with a similar sex prevalence (Table 1). Half indicated that they had symptoms in the clinical questionnaire, with dyspepsia being the most prevalent. The prevalence of a positive serological marker (tTGA > 3 IU) was 25% (17/67).

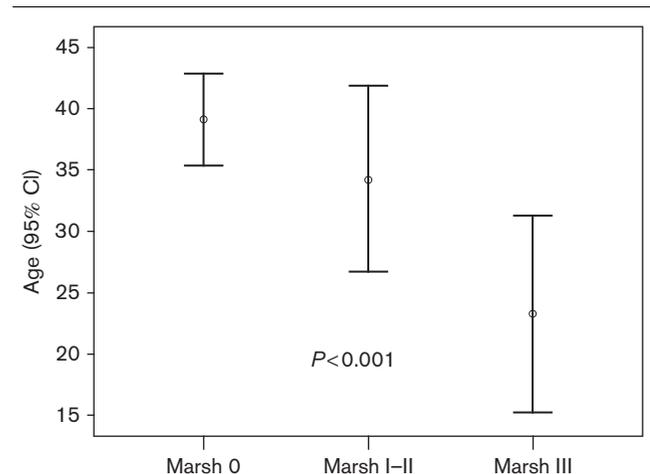
Histopathological alterations were found in 32 of the 67 FDRs (48%). Of the 67 FDRs, 19 cases (28.3%) had a different degree of villous atrophy (Marsh III) and 13 (19.4%) had an inflammatory stage (Marsh I and II). There was a negative correlation between age and the degree of histopathological severity. Thus, FDRs with normal biopsy results were significantly older than those with lymphocytic enteritis and mucosal atrophy (Fig. 1). Furthermore, the FDRs classified as Marsh III were

Table 1 Demographic, serologic and symptomatic data of the adult first-degree relatives included in the study

	<i>n</i> = 67 [<i>n</i> (%)]
Age [mean (range)]	34 (18–66)
Sex (male/female)	33/34
Symptomatic	36/67 (54)
Dyspepsia	15/36 (41.6)
Diarrhoea	9/36 (25)
Constipation	4/36 (11.1)
Abdominal pain	3/36 (8.3)
Anaemia	2/36 (5.5)
Diabetes	1/36 (2.7)
Hypothyroidism	2/36 (5.5)
HLA-DQ2 or HLA-DQ8 homozygote/heterozygote	37/30
tTGA positive	17/67 (25)

HLA, human leukocyte antigen; tTGA, tissue transglutaminase antibody.

Fig. 1



Relatives with villous atrophy (Marsh III) were significantly younger than those with normal mucosa or lymphocytic enteritis. CI, confidence interval.

significantly younger than those classified as Marsh I–II (23.26 vs. 34.23 years; $P = 0.04$).

As expected, Marsh III was observed in 16/17 FDRs who were tTGA positive, whereas Marsh I was observed in only one. In contrast, among the 50 FDRs with negative tTGA serum levels, the presence of villous atrophy was found in 3/50 FDRs (Table 2).

As shown in Fig. 2, the current screening strategy showed some degree of duodenal histopathology alterations in 48% of the cases, whereas the serological screening method showed a positive diagnosis in 25% and missed 6% of cases with mucosal atrophy.

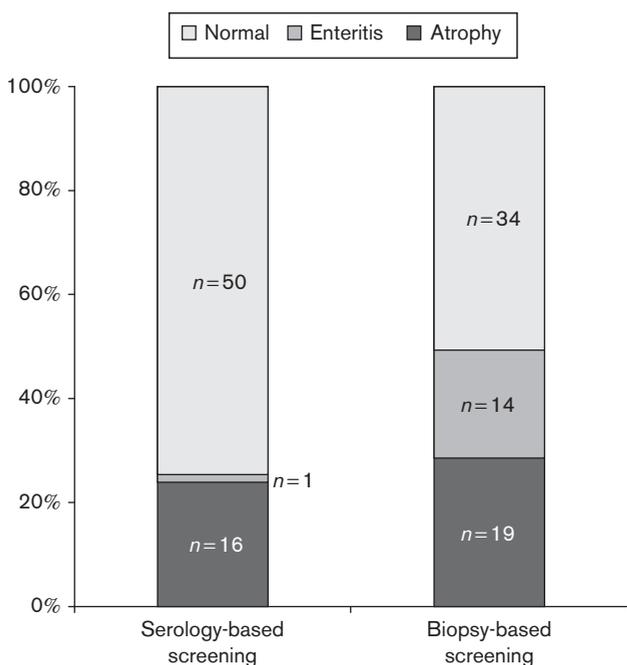
We have not found an association of the presence of symptoms, anaemia or autoimmune disease with the

Table 2 Relationship between tissue transglutaminase antibody result and degree of histological severity

	Total (n=67) [n (%)]	Positive tTGA (n=17) [n (%)]	Negative tTGA (n=50) [n (%)]
Marsh 0	35 (52)	0/35 (0)	35/35 (100)
Marsh I	12 (18)	1/12 (1)	11/12 (91)
Marsh II	1 (1.5)	0/1 (0)	1/1 (100)
Marsh IIIA	4 (6)	2/4 (50)	2/4 (50)
Marsh IIIB	5 (7.5)	5/5 (100)	0/5 (0)
Marsh IIIC	10 (15)	9/10 (90)	1/10 (1)

tTGA, tissue transglutaminase antibody.

Fig. 2



Differences in the diagnostic yield between the biopsy and standard screening by serology in first-degree relatives with genetic risk.

degree of duodenal damage. The distribution of the 36 symptomatic FDRs was similar among the groups with normal mucosa, inflammation or atrophy.

The presence of homozygosis for some of the HLA-DQ alleles, DQ2 and DQ8, was associated with a higher percentage of tTGA positives (32 vs. 12%; $P = 0.08$) and a greater presence of duodenal atrophy (29 vs. 19%; $P = 0.2$) than the presence of heterozygosis for one of these alleles. However, neither comparison was significant.

Discussion

Our results showed a very high prevalence of histopathological abnormalities included in the spectrum of CD: approximately half of our sample had some degree of duodenal mucosa alteration. Furthermore, mucosal atrophy, considered the classic lesion associated with CD, was present in 28% of the adult FDRs in our series. Using this diagnostic approach, our detection rate was more than three-fold higher than in most of the serology-based screening studies.

We must take into account the observation that all the FDRs recruited in our study had HLA-DQ2/8 alleles. In Spain, HLA-DQ2 alleles are present in 64% of the FDRs [11], and our sample represents more than 70% of the FDRs as we have selected those with HLA-DQ2 or HLA-DQ8 alleles. Another difference from other screening studies in CD relatives is that we have studied only adult members and mainly parents. Compared with studies involving parents and siblings, the prevalence of CD was significantly lower in the parents [12], and thus our findings reflect a high prevalence in this selected group in which the serological screen may detect less than 2% of the affected cases [12]. Our prevalence of 28% Marsh III and 20% Marsh I is significantly different from the results of different series based on serological screening (3–17%) [12–15].

tTGA titres are known to be lower in adults than in children at the time of CD diagnosis [3]. Furthermore, the parents of CD children on a gluten-free diet (GFD) are most likely cooking and eating lower amounts of gluten than the general population, and consequently, tTGA production is not fully stimulated. Thus, the diagnosis of CD in adult FDRs may be missed more frequently than in children when only serological screening is applied [16]. However, we have found a high percentage of positive tTGA titres (24%) and only one case of Marsh I in those with positive antibodies.

The advantage of taking a duodenal biopsy when the tTGA titre is negative is that we can characterize the full spectrum of CD enteropathy, not only mucosal atrophy but also lymphocytic enteritis. The study by Esteve *et al.* [5] recruited HLA-DQ2-positive FDRs and found that 48.6% of those who underwent a duodenal biopsy

had histological abnormalities. The percentage of cases with lymphocytic enteritis in that study was comparable with our results (24.6%). The main difference is that Esteve and colleagues included FDRs from 12 months to 77 years in age, whereas we included only adults. Despite including older relatives, we observed a similar percentage of histological abnormalities. In addition, we observed that relatives with the most severe lesions (Marsh III) were significantly younger than those with lymphocytic enteritis (Marsh I) or normal mucosa (Marsh 0). This finding suggests that the majority of patients with Marsh I likely remain in this grade for a long time and that Marsh I represents the most common stage of CD in adults.

Follow-up strategies on the basis of serological tests in all FDRs or only in those with HLA-DQ2/8-positive results have been proposed [17,18]. However, the incidence of CD in adults is much lower than that in the studies involving children or adolescents, which may be because of a decrease in the incidence in older age groups or a lower adherence to screening programmes in older FDRs. We showed that 6% of FDRs with a negative tTGA titre will be missed and that these individuals will continue to have a mucosal lesion and likely some degree of malabsorption until they are detected on serological follow-up screening or complications develop. Moreover, 26% of patients classified as Marsh I and Marsh II were not detected by anti-tTGA tests, some of whom would progress to mucosal atrophy.

We did not carry out a cost analysis of our approach. Previous studies have suggested that HLA typing to select FDRs with genetic risk would not reduce the serological screening costs [19]. However, in recent years, the cost of HLA typing has become lower because of its widespread use, and this test will exclude some FDRs from follow-up. The main difference in our strategy compared with the follow-up is the initial number of upper endoscopies and duodenal biopsies. We must take into account the finding that half of our adult FDRs complained about gastrointestinal symptoms. Some of these individuals would likely need a diagnostic upper endoscopy within the follow-up period with a duodenal biopsy, given that 42% indicate that dyspepsia is their main symptom [20].

We observed an association of HLA-DQ2 or HLA-DQ8 homozygosity with a higher tTGA titre and duodenal atrophy, although the data were not significant. As reported previously, this gene dosage is consistent with the idea that different clinical/pathologic evolutions might be related to different immunogenesis [21,22]. The selection of those FDRs with a higher genetic risk for biopsy might be useful for screening and follow-up purposes.

In contrast with the results obtained by Esteve *et al.* [5], we did not find an association of the clinical symptoms,

anaemia or autoimmune diseases with the grade of histological alterations. The older age of our FDRs and the high percentage of symptomatic patients may explain this difference. However, a similar percentage of symptoms and anaemia was observed between patients with Marsh I and Marsh III. Therefore, these FDRs might benefit from a GFD, independent of the severity of their duodenal lesions.

Coeliac patients detected from a screening programme are well known to have poorer adherence than those diagnosed on the basis of symptoms [23]. However, compliance with a GFD is most likely related to the severity of the symptoms [24]. In this sense, the high prevalence of symptoms in FDRs with duodenal alterations may benefit the adherence with a GFD and prevent CD-related complications, such as osteoporosis, autoimmune disease and lymphoma [25]. There is no doubt that those FDRs with negative serology but villous atrophy should be advised to comply with a strict GFD.

However, a screening strategy on the basis of duodenal biopsies will inevitably lose those completely asymptomatic FDRs who are afraid of undergoing a duodenal biopsy. Therefore, mainly those FDRs with symptoms or associated diseases would accept biopsy. However, this selection would be useful to diagnose those who best adhere to GFD.

Although the long-term prognosis and risks or complications of FDRs with lymphocytic enteritis are unknown, at least those with symptoms or autoimmune disturbances might be advised to eat a GFD. A recent study showed that the main aetiology of duodenal lymphocytosis in FDRs after trying a GFD was a histological response compatible with CD [26]. However, we have not investigated the presence of *Helicobacter pylori* or the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in our patients. These are two frequent causes of lymphocytic enteritis that would be taken into account before the diagnosis of CD and need to be analysed in future studies [26].

Further research and follow-up are needed to identify the prognosis of lymphocytic enteritis detected in FDRs and the response of this stage to a GFD. Until that time, a diagnostic strategy on the basis of HLA-DQ genotyping, followed by a duodenal biopsy in positive relatives, may be an alternative to detect FDRs with alterations in the duodenal mucosa irrespective of the serological test results.

Acknowledgements

This study was funded in part by a grant from the Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigación Sanitaria (Ref. PI070611), cofunded by FEDER (European Regional Development Fund).

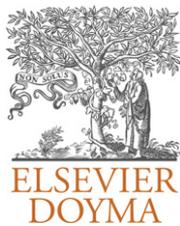
Santiago Vivas is the guarantor of the article. Luis Vaquero, Alberto Caminero, Cristina Iglesias, Mercedes Hernando and Alejandro Nuñez performed the research, collected the data and contributed towards the design of the study. Javier Casqueiro and Santiago Vivas designed the research study and wrote the paper. All the authors approved the final version of the manuscript.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

References

- Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2013; **108**:656–676, quiz 677.
- Dube 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**:S57–S67.
- Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, *et al.* Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2008; **103**:2360–2365, quiz 2366.
- 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**:4775–4780.
- Esteve M, Rosinach M, Fernandez-Banares F, Farre C, Salas A, Alsina M, *et al.* Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis. *Gut* 2006; **55**:1739–1745.
- Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990; **65**:909–911.
- Fernandez ML, Vivas S, Ruiz de Morales JM, Marugan JM. Usefulness of anti-transglutaminase antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Gastroenterol Hepatol* 2005; **28**:437–440.
- Vivas S, Ruiz de Morales JM, Martinez J, Gonzalez MC, Martin S, Martin J, *et al.* Human recombinant anti-transglutaminase antibody testing is useful in the diagnosis of silent coeliac disease in a selected group of at-risk patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; **15**:479–483.
- 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**:119–134.
- 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**:1185–1194.
- Farre 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. Catalanian Coeliac Disease Study Group. *Dig Dis Sci* 1999; **44**:2344–2349.
- Dogan Y, Yildirimaz S, Ozercan IH. Prevalence of celiac disease among first-degree relatives of patients with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; **55**:205–208.
- Vitoria JC, Arrieta A, Astigarraga I, Garcia-Masdevall D, Rodriguez-Soriano J. Use of serological markers as a screening test in family members of patients with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; **19**:304–309.
- Book L, Zone JJ, Neuhausen SL. Prevalence of celiac disease among relatives of sib pairs with celiac disease in U.S. families. *Am J Gastroenterol* 2003; **98**:377–381.
- Biagi F, Campanella J, Bianchi PI, Zanellati G, Capriglione I, Klersy C, *et al.* The incidence of coeliac disease in adult first degree relatives. *Dig Liver Dis* 2008; **40**:97–100.
- Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garrity C, *et al.* The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; **128**:S38–S46.
- Bonamico M, Ferri M, Mariani P, Nenna R, Thanasi E, Luparia RP, *et al.* Serologic and genetic markers of celiac disease: a sequential study in the screening of first degree relatives. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; **42**:150–154.
- Biagi F, Corazza GR. First-degree relatives of celiac patients: are they at an increased risk of developing celiac disease? *J Clin Gastroenterol* 2009; **43**:3–4.
- Chang M, Green PH. Genetic testing before serologic screening in relatives of patients with celiac disease as a cost containment method. *J Clin Gastroenterol* 2009; **43**:43–50.
- Santolaria Piedrafita S, Fernandez Banares F. Gluten-sensitive enteropathy and functional dyspepsia. *Gastroenterol Hepatol* 2012; **35**:78–88.
- Biagi F, Bianchi PI, Vattiato C, Marchese A, Trotta L, Badulli C, *et al.* Influence of HLA-DQ2 and DQ8 on severity in celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2012; **46**:46–50.
- Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Nenna R, Maiella G, *et al.* HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol* 2009; **70**:55–59.
- Fabiani E, Taccari LM, Ratsch IM, Di Giuseppe S, Coppa GV, Catassi C. Compliance with gluten-free diet in adolescents with screening-detected celiac disease: a 5-year follow-up study. *J Pediatr* 2000; **136**:841–843.
- Ciacci C, Cirillo M, Cavallaro R, Mazzacca G. Long-term follow-up of celiac adults on gluten-free diet: prevalence and correlates of intestinal damage. *Digestion* 2002; **66**:178–185.
- Lebwohl B, Granath F, Ekbohm A, Smedby KE, Murray JA, Neugut AI, *et al.* Mucosal healing and risk for lymphoproliferative malignancy in celiac disease: a population-based cohort study. *Ann Intern Med* 2013; **159**:169–175.
- Rosinach M, Esteve M, Gonzalez C, Temino R, Marine M, Monzon H, *et al.* Lymphocytic duodenitis: aetiology and long-term response to specific treatment. *Dig Liver Dis* 2012; **44**:643–648.



OBSERVACIÓN CLÍNICA

Linfoma intestinal de células T asociado a enteropatía y sin relación con enfermedad celíaca

Luis Vaquero^{a,*}, María G. Alvarado^a, Laura Arias^a, Sara Calleja^b, Mercedes Hernando^c, Cristina Diez-Tascón^c y Santiago Vivas^a

^a Servicio de Aparato Digestivo, Complejo Asistencial Aniversario de León, León, España

^b Sección de Inmunología, Complejo Asistencial Aniversario de León, León, España

^c Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Asistencial Aniversario de León, León, España

Recibido el 26 de agosto de 2011; aceptado el 6 de noviembre de 2011

Disponible en Internet el 15 de diciembre de 2011

PALABRAS CLAVE

Enfermedad intestinal;
Enfermedad celíaca;
Enteropatía asociada a linfoma de células T

KEYWORDS

Intestinal lymphoma;
Celiac disease;
Enteropathy associated T-cell lymphoma

Resumen La enteropatía asociada a linfoma de células T tipo II es un linfoma intestinal infrecuente.

Presentamos el caso de un varón de 73 años con diarrea y pérdida de peso. La biopsia duodenal presentaba atrofia e infiltrado de linfocitos irregulares. La inmunohistoquímica detectó positividad para CD3, CD8, CD56 con reordenamiento monoclonal del TCR. El genotipado de HLA-DQ era DQ5/DQ9. El test para EBVRNA fue negativo.

Antes del tratamiento específico quimioterápico ingresó por infección respiratoria, y falleció por causa independiente del linfoma.

El diagnóstico diferencial de los procesos linfoproliferativos CD56-positivo incluye EATL tipo II, linfoma intestinal primario de células T/NK y linfoma de células T hepatoesplénico.

El paciente presentaba CD8 y CD56+ marcadores que permiten descartar EALT tipo I. La genotipificación HLA-DQ no corresponde a enfermedad celíaca, y la biopsia presentaba proliferación de linfocitos con atipias. El linfoma intestinal primario de células T/NK se caracteriza principalmente por ausencia de CD8 y del reordenamiento monoclonal del TCR presentes en este caso.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Enteropathy-associated intestinal t-cell lymphoma without celiac disease

Abstract Type II enteropathy-associated T-cell lymphoma (EATL) is an uncommon intestinal lymphoma. We report the case of a 73-year-old man with diarrhea and weight loss. Duodenal biopsy showed atrophy and infiltration of irregular lymphocytes. Immunohistochemistry was positive for CD3, CD8, and CD56 with monoclonal TCR rearrangement. The HLA-DQ genotype was DQ5/DQ9. The Epstein-Barr virus RNA test was negative. Before specific chemotherapy could

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: luisvaqueroayala@gmail.com (L. Vaquero).

be administered, the patient was admitted to hospital for a respiratory infection and died from a cause unrelated to his lymphoma. The differential diagnosis of CD56-positive lymphoproliferative processes include type II EATL, primary T-cell/natural killer-cell intestinal lymphoma and hepatosplenic T-cell lymphoma. The patient had CD8 and CD56+ markers that allowed type I EATL to be excluded. The HLA-DQ genotype did not correspond to celiac disease and the biopsy showed proliferation of lymphocytes with atypia. The primary intestinal T-cell/natural killer-cell lymphoma was characterized mainly by the absence of CD8 and monoclonal reassortment of the TCR present in this case.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El diagnóstico diferencial de los procesos linfoproliferativos gastrointestinales que muestran expresión del antígeno CD56 incluye el linfoma de células T asociado a enteropatía tipo II (EATL), el linfoma intestinal primario de células T/*natural killer* (T/NK) (tipo nasal) y el linfoma de células T hepatoesplénico¹.

El EATL es un tipo de linfoma T poco frecuente, representa menos del 5% de los linfomas gastrointestinales y menos del 1% de los linfomas no hodgkinianos. Se caracteriza por ser muy agresivo, presentando una supervivencia a 2 años del 15-20%. Se subdivide en 2 tipos según la *World Health Organization* (WHO)². El tipo I es el más frecuente, se asocia a la enfermedad celíaca y se caracteriza por la ausencia de expresión de los antígenos CD8 y CD56. El tipo II supone el 10-20% de las EATL en los países orientales, pero en los países occidentales es mucho más raro y no se asocia a la enfermedad celíaca. A diferencia del tipo I, se caracteriza por su positividad para CD8 y CD56 y por presentar reordenamiento clonal del gen del receptor de células T (TCR)^{3,4}.

Presentamos el caso de un proceso linfoproliferativo de linfocitos T CD56 positivo que infiltra el intestino delgado y cursa con enteropatía.

Caso clínico

Paciente varón de 73 años con antecedentes de infarto agudo de miocardio y neumoconiosis grado III. El cuadro clínico comenzó de forma brusca con diarrea de más de 6 deposiciones/día, sin productos patológicos, acompañado de dolor abdominal y con pérdida de peso durante 2 meses antes de ser evaluado en nuestra unidad. Los anticuerpos antitransglutaminasa recombinante humana tipo IgA fueron negativos. La gastroscopia fue normal y la colonoscopia completa con toma de biopsias tampoco mostró hallazgos patológicos. La ecografía abdominal y el tránsito con bario fueron normales. Sin embargo, el estudio anatomopatológico de las biopsias duodenales reveló signos compatibles de enfermedad celíaca, adenoatrofia vellositaria (grado IIIa de la clasificación de Marsh) en la que destacaba un infiltrado inflamatorio con predominio de linfocitos irregulares. El análisis con inmunohistoquímica (IHQ) detectó positividad para CD3, CD8, CD56 y Ki67 (fig. 1). En la citometría de flujo,

aproximadamente un 97% de los linfocitos intraepiteliales (LIE) expresaban el marcador de linfocitos T (CD3+ CD16-56+), de los cuales el 83% expresaban un perfil CD4+ CD8- y un 16,31% coexpresaban CD4 y CD8. Por otra parte, un 2,47% de los LIE expresaban de manera simultánea CD3 y CD16-56 (linfocitos NKT). Mediante técnicas de biología molecular (PCR y análisis de fragmentos en secuenciador automático) se detectó un reordenamiento monoclonal del receptor de la célula T (TCR), tanto de las cadenas $\alpha\beta$ como $\gamma\delta$. La genotipificación HLA-DQ del paciente resultó DQ5/DQ9, distinto a los haplotipos que normalmente se relacionan con la enfermedad celíaca (DQ2/DQ8).

La prueba de hibridación in situ para EBV RNA (EBER) fue negativa. En la tomografía computarizada (TC) se observaron múltiples adenopatías mesentéricas y retroperitoneales en el origen de las arterias renales menores de 1 cm. Tanto el hígado como el bazo eran de tamaño normal y sin lesiones ocupantes de espacio.

Con estos datos, el diagnóstico realizado fue linfoma T asociado a EATL tipo II. De acuerdo con el servicio de hematología y mientras se esperaba el resultado del análisis de reordenamiento clonal de TCR se inició tratamiento con esteroides (prednisona, 60 mg/día). El paciente mejoró clínicamente con desaparición de la diarrea y ganancia ponderal durante las 4 semanas que estuvo a tratamiento con corticosteroides. Lamentablemente, cuando se iba a iniciar tratamiento específico quimioterápico el paciente precisó ingreso por complicación infecciosa de la neumoconiosis. La respuesta al tratamiento médico no fue adecuada y falleció por causa independiente del proceso linfoproliferativo, que no presentó signos de progresión sistémica.

Discusión

Tanto la EATL como el linfoma intestinal primario de células T/NK (tipo nasal) son linfomas de células T periféricos que afectan al tracto gastrointestinal y que se originan a partir de linfocitos T maduros^{5,6}. En la tabla 1 se resumen las principales características diferenciales de estos tumores. El linfoma intestinal primario de células T/NK (tipo nasal) es muy raro en países occidentales y se asocia con mal pronóstico (supervivencia a 5 años del 22%). El EBV es positivo dado que está implicado en su patogenia. Las células neoplásicas son similares a las de la EATL. Además expresan CD56 y CD3, sin embargo son negativas para CD8⁷. A

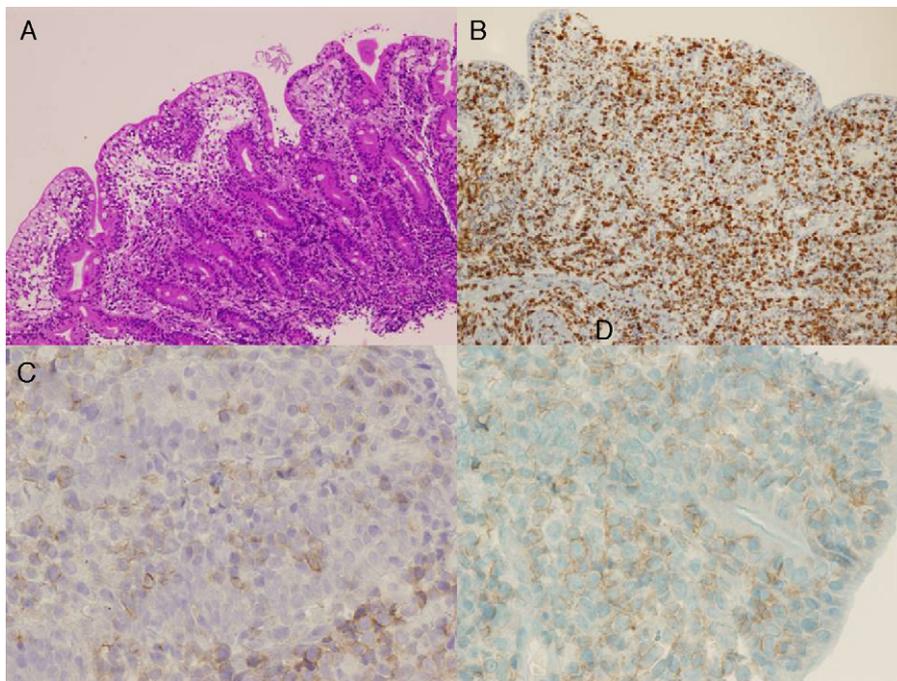


Figura 1 Anatomía patológica de la biopsia de la 3.^a porción duodenal. A) Atrofia vellositaria marcada con infiltrado linfocitario a nivel intraepitelial y en la lamina propia. B) Tinción para el marcador Ki-67 que presenta una intensa captación en los núcleos celulares, que indica una importante proliferación celular. C) y D) Inmunohistoquímica para el marcador de linfocitos CD56 y CD8, respectivamente, que muestran una marcada captación intracitoplasmática de la población linfocitaria intramucosa.

diferencia del EATL, la ausencia de reordenamiento monoclonal de TCR puede ayudar a confirmar el diagnóstico.

La enteropatía asociada a linfoma de células T (EATL) es un raro tumor intestinal, localizado principalmente en el intestino delgado proximal, que se origina a partir de linfocitos T intraepiteliales y se acompaña de atrofia vellositaria e hiperplasia de las criptas de la mucosa del intestino delgado, aunque también puede observarse en estómago o colon. Es un proceso muy agresivo en el que inicialmente los pacientes manifiestan síntomas de malabsorción, originando en fases más avanzadas dolor abdominal, fiebre, obstrucción o perforación intestinal, al comienzo de su sintomatología. La WHO subdivide la EATL en 2 tipos. El más frecuente es

el tipo I, fuertemente asociado con la enfermedad celíaca, por lo tanto asociado al genotipo HLA-DQ2 o DQ8. Morfológicamente las células tumorales son pleomórficas, de tamaño medio o grande, positivas para CD3, CD7, CD103 y negativas para CD4, CD8, y CD56⁸. Estas células presentan reordenamiento clonal del TCR. El tipo II es menos frecuente, y no se asocia con la enfermedad celíaca, aunque al igual que nuestro caso, puede presentar atrofia vellositaria intestinal similar a la tipo I. Su comportamiento clínico suele ser más agresivo incluso que en el tipo I. Es importante la genotipificación HLA que suele ser diferente de HLA-DQ2 o DQ8 que siempre se suele encontrar en el tipo I. Se caracterizan por presentar células monomórficas de pequeño a mediano tamaño. Las células tumorales son positivas para CD56, CD8 y CD3, y son

Tabla 1 Diagnóstico diferencial entre los 2 tipos de linfoma de células T asociado a enteropatía tipo II y el linfoma T tipo *natural killer*

	EATL I	EATL II	Linfoma de células T/NK (tipo nasal)	Paciente actual
Morfología celular	Variable	Células monomórficas de pequeño o mediano tamaño	Variable	Células de pequeño tamaño
CD8	-	+	-	+
CD56	-	+	+	+
EBV	-	-	+	-
Reordenamiento clonal de TCR	+	+	-	+
Genotipo HLA	DQ2/DQ8	Variable	Variable	DQ5/9

negativas para CD4³, siendo CD8 y CD56 los marcadores fundamentales para realizar el diagnóstico. También presentan reordenamiento clonal del gen del receptor de células T.

En nuestro caso, el paciente presentaba los clásicos síntomas de malabsorción con diarrea y pérdida de peso. Aunque histológica y clínicamente parecía compatible con una enfermedad celíaca, la presencia de un infiltrado inflamatorio de linfocitos irregulares orientaba hacia un posible origen linfoproliferativo. Tras realizar estudio IHQ se detectó proliferación de linfocitos que expresaban CD56 y CD8, descartando la EATL tipo I. Además, mediante técnicas de biología molecular se detectó un reordenamiento monoclonal del TCR, que junto con la obtención de resultado negativo para EBV RNA elimina la posibilidad del linfoma intestinal de células T/NK (tipo nasal). En nuestro caso se realizó un análisis de los LIE mediante citometría de flujo. Esta técnica es complementaria a la IHQ y define la población intraepitelial, que en este caso también expresaba CD56 y CD8, aunque en un porcentaje pequeño a diferencia de la IHQ. Esto puede ser debido a que estos linfocitos no expresen los receptores CD56 y CD8 de superficie pero sí los intracitoplasmáticos que es lo que detecta la IHQ. También puede ser debido a que la IHQ también detecta linfocitos que penetran por debajo de la lámina propia que no son analizadas en la citometría.

Cabe destacar en nuestro paciente que no se observaron lesiones en la endoscopia ni masas en los estudios de imagen indicativas de linfoma, salvo las adenopatías aumentadas de tamaño. De aquí la importancia de la toma de biopsias duodenales en los casos de diarrea crónica, que en nuestro caso llevaron al diagnóstico. La atrofia vellositaria duodenal orientó en un principio hacia enfermedad celíaca, pero la ausencia de marcadores genéticos y la serología negativa nos hacían descartar una relación con el gluten. En este sentido, los procesos linfoproliferativos forman parte del diagnóstico diferencial de la atrofia vellositaria intestinal en ausencia de enfermedad celíaca⁹.

Además del análisis de las biopsias duodenales es necesaria una serología celíaca y la genotipificación HLA-DQ, para poder descartar un linfoma T asociado a enfermedad celíaca, como en nuestro caso. Otras exploraciones complementarias para estudiar la extensión intestinal del tumor son la cápsula endoscópica o la enteroscopia. Estas permiten observar una mucosa intestinal friable con ulceraciones y atrófica, aunque en otras ocasiones se presenta como una masa. Con la cápsula endoscópica es posible la visualización de este tipo de lesiones que posteriormente se pueden biopsiar mediante enteroscopia. Las pruebas de imagen como la TC toracoabdominal, la resonancia magnética (RM) o la tomografía por emisión de positrones (PET) con 18-fluorodesoxiglucosa permiten evaluar la presencia de tumor extraintestinal.

Shet et al.¹⁰ analizan recientemente 170 pacientes con linfomas que afectan al tracto gastrointestinal. De ellos, solamente 4 tenían EATL, y uno se correspondía con EATL tipo II. Histológicamente este tumor presentaba un infiltrado de células monomórficas de pequeño tamaño positivo para CD3, CD8, CD56 y negativa para CD4. Los otros 3 casos se correspondían a EATL tipo I asociada a la enfermedad celíaca. Otro estudio con una serie mundial de pacientes con linfoma determinó que solamente el 5% correspondían a EATL¹¹. Estos estudios demuestran lo poco frecuentes que

son estos tumores dentro de los linfomas gastrointestinales.

Deguchi et al.¹² publicaron el caso de un paciente con proliferación atípica en el intestino delgado de linfocitos T similares a células *natural killer* (NK). El paciente fue diagnosticado después de la realización de laparoscopia de urgencia por peritonitis por perforación intestinal. Las células afectadas eran CD3+, CD8+, CD56+, CD30. Presentaba reorganización clonal del TCR. El test de hibridación in situ para EBV RNA (EBER) fue negativo. El paciente a los 5 meses precisó otra laparotomía de urgencia por nueva perforación demostrando que el linfoma había invadido gran parte del tracto gastrointestinal, falleciendo en corto espacio de tiempo. Este autor propone como posible origen de linfomas de células T similares a NK la persistencia de lesiones inflamatorias en el intestino que provocan proliferación de linfocitos T evadiendo los mecanismos de apoptosis.

A pesar de los avances terapéuticos, la supervivencia en la EATL tipo II presenta peor pronóstico que en la EATL tipo I, y no supera los pocos meses. La terapia clásica se basaba en la aplicación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP)¹³. Un nuevo régimen de tratamiento descrito por Bishton et al. se basaba en la administración de 2 ciclos de ifosfamida, etopósido y epirubicina seguido de 2 ciclos de metotrexato con ácido fólico. Posteriormente los pacientes recibían carmustina, etopósido, citarabina y melfalan (BEAM) y trasplante autólogo de médula ósea. Los resultados de ambas terapias son bastante insatisfactorios.

Recientemente se está evaluando el papel del trasplante alogénico. Otro posible nuevo tratamiento es el alemtuzumab, anticuerpo monoclonal anti-CD52 que se encuentra en linfocitos T maduros¹⁴⁻¹⁶. Un estudio que evalúa el tratamiento combinado de CHOP con alemtuzumab en 24 pacientes con linfomas de células T periféricas obtuvo resultados prometedores. Por lo tanto, antes del tratamiento es recomendable evaluar la expresión en la superficie del linfocito del CD52. En nuestro caso solamente se realizó tratamiento inicial empírico con corticoides a la espera de iniciar tratamiento con alemtuzumab una vez fenotipificado el linfoma, aunque no se pudo aplicar por la evolución fatal del paciente.

En resumen, el caso que presentamos se refiere a un paciente diagnosticado de EATL tipo II, tras descartar EATL tipo I (por genotipo no asociado a enfermedad celíaca, análisis IHQ) y el linfoma T/NK tipo nasal (por monoclonalidad TCR y EBV). El empleo de las técnicas de IHQ y de biología molecular permite llegar al diagnóstico definitivo en este tipo de tumores poco frecuentes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- McElroy MK, Read WL, Harmon GS, Weidner N. A unique case of an indolent CD56-positive T-cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract: a lesion potentially misdiagnosed as natural killer/T-cell lymphoma. *Ann Diagn Pathol.* 2011;15:370.

2. Gale J, Simmonds PD, Mead GM, Sweetenham JW, Wright DH. Enteropathy-type intestinal T-cell lymphoma: clinical features and treatment of 31 patients in a single center. *J Clin Oncol*. 2000;18:795-803.
3. Akiyama T, Okino T, Konishi H, Wani Y, Notohara K, Tsukayama C, et al. CD8+, CD56+ (natural killer-like) T-cell lymphoma: clinicopathology and molecular study of five Japanese patients. *Pathol Int*. 2008;58:626-34.
4. Chuang SS, Liao YL, Liu H, Lin SH, Hsieh PP, Huang WT, et al. The phenotype of intraepithelial lymphocytes in Taiwanese enteropathy-associated T-cell lymphoma is distinct from that of the West. *Histopathology*. 2008;53:234-6.
5. Tack GJ, Verbeek WH, van de Water JM, von Blomberg BM, Bhola SL, Ylstra B, et al. Phenotypic and genomic analysis of an exceptional case of enteropathy associated T-cell lymphoma. *Leuk Res*. 2010;34:e183-9.
6. Zetl A, deLeeuw R, Haralambieva E, Mueller-Hermelink HK. Enteropathy-type T-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2007;127:701-6.
7. Lavergne A, Brocheriou I, Delfau MH, Copie-Bergman C, Houdart R, Gaulard PH. Primary intestinal gamma-delta T-cell lymphoma with evidence of Epstein-Barr virus. *Histopathology*. 1998;32:271-6.
8. Al-Toma A, Verbeek WH, Hadithi M, von Blomberg BM, Mulder CJ. Survival in refractory coeliac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma: retrospective evaluation of single-centre experience. *Gut*. 2007;56:1373-8.
9. Green PH, Cellier C. Celiac Disease. *N Engl J Med*. 2007;357:1731-43.
10. Shet T, Karpate A, Bal M, Gupta S, Gujral S, Nair R. Primary intestinal T cell lymphomas in Indian patients-in search of enteropathic T cell lymphoma. *Indian J Pathol Microbiol*. 2010;53:455-9.
11. Delabie J, Holte H, Vose JM, Ullrich F, Jaffe ES, Savage KJ, et al. Enteropathy-associated T-cell lymphoma: clinical and histological findings from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 2011;118:148-55.
12. Deguchi Y, Yoshimatsu K, Endo S. Natural killer-like T cell lymphoma of the small intestine: report of a case. *Surg Today*. 2006;36:474-7.
13. van de Water JM, Cillessen SA, Visser OJ, Verbeek WH, Meijer CJ, Mulder CJ. Enteropathy associated T-cell lymphoma and its precursor lesions. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010;24:43-56.
14. Dearden CE, Matutes E. Alemtuzumab in T-cell lymphoproliferative disorders. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2006;19:795-810.
15. Dearden CE. T-cell prolymphocytic leukemia. *Med Oncol*. 2006;23:17-22.
16. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Ramos F, Suarez-Vilela D. Alemtuzumab for refractory celiac disease in a patient at risk for enteropathy-associated T-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2006;354:2514-5.