

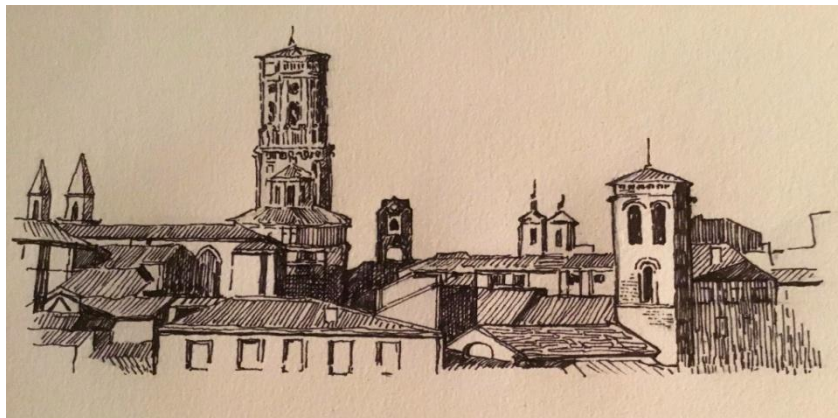
eman ta zabal zazu



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

ANÁLISIS DEL PERFIL INFLAMATORIO, CLÍNICO Y NUTRICIONAL DE LA ENFERMEDAD CELIACA AL DIAGNÓSTICO Y TRAS LA IMPLANTACIÓN DE LA DIETA SIN GLUTEN

Tesis doctoral



Victoria Díez Bayona

2021

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Félix Sánchez-Valverde, que me introdujo en la investigación durante la residencia de Pediatría, a quien acudí sin dudar cuando me planteé trabajar en una tesis doctoral y quien me ha guiado, aconsejado, corregido y acompañado en este largo e interesante camino.

Al Doctor Juan Carlos Vitoria por su disponibilidad, por sus consejos y por transmitir su dedicación a la Pediatría en cada conversación mantenida.

Al Doctor Luis Castaño por sus recomendaciones y su asesoramiento, fundamentales para que este proyecto haya mejorado y haya visto la luz.

Y a todos los que me enseñaron y me enseñan con su buen hacer diario que la vocación es mucho más que cumplir con el horario laboral establecido.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	9
ÍNDICE DE TABLAS	11
ABREVIATURAS.....	15
1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. Definición	19
1.2. Historia	19
1.3. Predisposición genética.....	21
1.4. Epigenética	22
1.5. Factores relacionados con la pérdida de tolerancia al gluten	23
1.6. Serología.....	24
1.7. Anatomía patológica	26
1.8. Diagnóstico.....	29
1.9. Variabilidad en la presentación clínica.....	33
1.10. Seguimiento	35
1.11. Enfermedad celiaca y malignidad	36
1.12. Tratamiento.....	36
1.13. Epidemiología.....	37
2. JUSTIFICACIÓN.....	39
3. HIPÓTESIS.....	43
4. OBJETIVOS	47
4.1. Objetivo principal	49
4.2. Objetivos secundarios	49
5. MATERIAL Y MÉTODOS	51
5.1. Población estudiada	53
5.2. Diagnóstico de enfermedad celiaca	53
5.3. Variables.....	53

5.3.1. Variables al diagnóstico.....	53
5.3.2. Variables en el seguimiento	54
5.4. Métodos	55
5.4.1. Serología.....	55
5.4.2. Biopsia	56
5.4.3. HLA	56
5.4.4. Análisis estadístico	57
6. RESULTADOS	59
6.1. RESULTADOS DESCRIPTIVOS AL DIAGNÓSTICO	61
6.1.1. Muestra	61
6.1.2. Sexo	61
6.1.3. Edad al diagnóstico.....	61
6.1.4. Presentación clínica.....	62
6.1.5. Grupos de riesgo	62
6.1.6. Antropometría al diagnóstico	62
6.1.7. Serología al diagnóstico.....	63
6.1.8. Parámetros bioquímicos nutricionales al diagnóstico	67
6.1.9. Interleukinas al diagnóstico	68
6.1.10. Anatomía patológica	69
6.1.11. Genética	71
6.2. RESULTADOS EVOLUTIVOS A LO LARGO DEL PRIMER AÑO DE DIETA SIN GLUTEN	72
6.2.1. Evolución de la antropometría durante el primer año de dieta sin gluten.....	72
6.2.2. Evolución de la serología de enfermedad celiaca durante el primer año de dieta sin gluten	78
6.2.3. Evolución de los parámetros bioquímicos nutricionales durante el primer año de dieta sin gluten.....	83
6.2.4. Evolución de los valores de las interleukinas durante el primer año de dieta sin gluten	97

6.3. RESULTADOS ASOCIATIVOS.....	104
6.3.1. Presentación clínica.....	104
6.3.2. Genética	109
6.3.3. IgA antitransglutaminasa tisular	114
6.3.4. Análisis de conglomerados.....	119
7. DISCUSIÓN.....	129
7.1. Características de la muestra	131
7.2. Evolución clínica y analítica desde el diagnóstico y durante el primer año tras la implantación de la dieta sin gluten	133
7.3. Correlación entre la forma de presentación clínica y diferentes parámetros al diagnóstico	138
7.4. Diferencias en la evolución durante el primer año de dieta sin gluten en función de la forma de presentación clínica	140
7.5. Correlación entre el HLA de riesgo y diferentes parámetros al diagnóstico	142
7.6. Diferencias en la evolución durante el primer año de dieta sin gluten en función del HLA de riesgo	143
7.7. Correlación entre los niveles de IgA antitransglutaminasa tisular y diferentes parámetros al diagnóstico	144
7.8. Diferencias en la evolución durante el primer año de dieta sin gluten en función de los niveles de IgA antitransglutaminasa tisular	145
7.9. Análisis de conglomerados.....	146
8. LIMITACIONES DE ESTE ESTUDIO	149
9. RESUMEN	153
10. CONCLUSIONES	157
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Etiopatogenia de la EC desde el punto de vista inmunológico.....	25
Figura 2. Algoritmo diagnóstico para niños con síntomas sugestivos de EC (ESPGHAN 2012)..	32
Figura 3. Algoritmo diagnóstico para niños asintomáticos con riesgo de padecer EC (ESPGHAN 2012)	33
Figura 4. Distribución de los pacientes de la muestra en función de la edad al diagnóstico.	61
Figura 5. Porcentajes de pacientes según grupos de riesgo.....	62
Figura 6. Porcentajes de pacientes con anticuerpos positivos al diagnóstico.....	66
Figura 7. Porcentaje de cada grado de Marsh en las biopsias realizadas.....	71
Figura 8. Genotipo HLA.	72
Figura 9. Evolución de la media del z score de peso el primer año de DSG.	74
Figura 10. Evolución de la media del z score de talla el primer año de DSG.	75
Figura 11. Evolución de la media del z score del IMC el primer año de DSG.....	76
Figura 12. Evolución de la media del IN el primer año de DSG.....	77
Figura 13. Evolución de la positividad de los AGA el primer año de DSG.....	78
Figura 14. Evolución de la positividad de los EMA el primer año de DSG.	79
Figura 15. Evolución de la positividad de la IgA anti-tTG el primer año de DSG.	79
Figura 16. Evolución de la media de AGA el primer año de DSG.....	80
Figura 17. Evolución de la media de EMA el primer año de DSG.	81
Figura 18. Evolución de la media de IgA anti-tTG el primer año de DSG.....	82
Figura 19. Evolución del colesterol el primer año de DSG.....	84
Figura 20. Evolución de los triglicéridos el primer año de DSG.	85
Figura 21. Evolución de la albúmina el primer año de DSG.....	86
Figura 22. Evolución del hierro el primer año de DSG.....	87
Figura 23. Evolución de la transferrina el primer año de DSG.....	88
Figura 24. Evolución del zinc el primer año de DSG.	89
Figura 25. Evolución de la prealbúmina el primer año de DSG.	90

Figura 26. Evolución de la IgA total el primer año de DSG.	91
Figura 27. Evolución del IGF-1 el primer año de DSG.	92
Figura 28. Evolución de la cobalamina el primer año de DSG.	93
Figura 29. Evolución del folato el primer año de DSG.	94
Figura 30. Evolución de la leptina el primer año de DSG.....	95
Figura 31. Evolución del calcidiol (25-OH-colecalciferol) el primer año de DSG.	96
Figura 32. Evolución de la vitamina E (alfa-tocoferol) el primer año de DSG.....	97
Figura 33. Evolución de la IL-6 el primer año de DSG.	99
Figura 34. Evolución de la IL-4 los 6 primeros meses de DSG.....	100
Figura 35. Evolución de la IL-8 los 6 primeros meses de DSG.....	101
Figura 36. Evolución de la IL-1 β los 6 primeros meses de DSG.....	102
Figura 37. Evolución del TNF- α los 6 primeros meses de DSG.....	103
Figura 38. Distribución en dos clústers.	121
Figura 39. Distribución en tres clústers.	122
Figura 40. Distribución en cuatro clústers.	124

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de Marsh-Oberhuber de las lesiones histopatológicas características de la EC.....	28
Tabla 2. Datos antropométricos al diagnóstico.	63
Tabla 3. Serología al diagnóstico.....	63
Tabla 4. Positividad y negatividad de EMA e IgA anti-tTG en pacientes AGA negativos al diagnóstico.	64
Tabla 5. Positividad y negatividad de AGA e IgA anti-tTG en pacientes EMA negativos al diagnóstico.	64
Tabla 6. Positividad y negatividad de AGA y EMA en pacientes IgA anti-tTG negativos al diagnóstico.	65
Tabla 7. Porcentajes de pacientes con anticuerpos positivos al diagnóstico.	66
Tabla 8. Parámetros bioquímicos nutricionales al diagnóstico.	67
Tabla 9. Interleukinas al diagnóstico.	69
Tabla 10. Porcentajes de LIEs totales y sus subpoblaciones.....	70
Tabla 11. Evolución de la antropometría el primer año de DSG.	73
Tabla 12. Modelo mixto para la variable z score peso.....	74
Tabla 13. Modelo mixto para la variable z score talla.	75
Tabla 14. Modelo mixto para la variable z score IMC.....	76
Tabla 15. Modelo mixto para la variable IN.....	77
Tabla 16. Evolución del porcentaje de serologías positivas el primer año de DSG.	78
Tabla 17. Modelo mixto para la variable AGA.	81
Tabla 18. Modelo mixto para la variable EMA.....	82
Tabla 19. Modelo mixto para la variable IgA anti-tTG.....	83
Tabla 20. Evolución de los parámetros bioquímicos nutricionales el primer año de DSG.	83
Tabla 21. Modelo mixto para la variable colesterol.	85
Tabla 22. Modelo mixto para la variable triglicéridos.	86
Tabla 23. Modelo mixto para la variable albúmina.	87

Tabla 24. Modelo mixto para la variable hierro.	88
Tabla 25. Modelo mixto para la variable transferrina.	89
Tabla 26. Modelo mixto para la variable zinc.	90
Tabla 27. Modelo mixto para la variable prealbúmina.	90
Tabla 28. Modelo mixto para la variable IgA total.	91
Tabla 29. Modelo mixto para la variable IGF-1.	92
Tabla 30. Modelo mixto para la variable cobalamina.	93
Tabla 31. Modelo mixto para la variable folato.	94
Tabla 32. Modelo mixto para la variable leptina.	95
Tabla 33. Modelo mixto para la variable calcidiol.	96
Tabla 34. Modelo mixto para la variable vitamina E.	97
Tabla 35. Evolución de las IL durante el primer año (IL-6) y durante los 6 primeros meses (IL-4, IL-8, IL-1 β , TNF- α) tras la instauración de la DSG.	98
Tabla 36. Modelo mixto para la variable IL-6.	99
Tabla 37. Modelo mixto para la variable IL-4.	100
Tabla 38. Modelo mixto para la variable IL-8.	101
Tabla 39. Modelo mixto para la variable IL-1 β	102
Tabla 40. Modelo mixto para la variable TNF- α	103
Tabla 41. Edad, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología, CK proinflamatorias, anatomía patológica, LIEs y genética de pacientes con clínica clásica y pacientes con clínica no clásica.	105
Tabla 42. Modelo general lineal univariante para la forma de presentación clínica.	107
Tabla 43. Modelo general lineal univariante para la forma de presentación clínica: interleukinas.	109
Tabla 44. Edad, presentación clínica, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología, CK proinflamatorias, anatomía patológica y LIEs de pacientes portadores de DQ2 en homocigosis y pacientes no portadores de DQ2 en homocigosis.	110
Tabla 45. Modelo general lineal univariante para el HLA de riesgo.	112
Tabla 46. Modelo general lineal univariante para el HLA de riesgo: interleukinas.	113

Tabla 47. Edad, presentación clínica, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología (AGA y EMA), CK proinflamatorias, anatomía patológica, LIEs y genética de pacientes con IgA anti-tTG mayor y menor de 10 veces el valor de corte.	115
Tabla 48. Modelo general lineal univariante para la IgA anti-tTG.	117
Tabla 49. Modelo general lineal univariante para la IgA anti-tTG: interleukinas.	119
Tabla 50. Datos descriptivos de la muestra para el análisis de conglomerados.	120
Tabla 51. Medias de las variables en la agrupación en dos clústers.	121
Tabla 52. Medias de las variables en la agrupación en tres clústers.	123
Tabla 53. Medias de las variables en la agrupación en cuatro clústers.	125
Tabla 54. Análisis de distribución del sexo, la presentación clínica y la IgA anti-tTG en dos clústers.	126
Tabla 55. Análisis de distribución del HLA de riesgo en dos clústers.	126
Tabla 56. Análisis de distribución de la anatomía patológica en dos clústers.	127

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AGA: Anticuerpos antigliadina

Alb: Albúmina

Anti-tTG: Anticuerpos antitransglutaminasa tisular

CE: Células epiteliales

CK: Citokina

DGP: Péptidos deaminados de la gliadina

DH: Dermatitis herpetiforme

DM-1: Diabetes mellitus tipo 1

DSG: Dieta sin gluten

EC: Enfermedad Celiaca

ELISA: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)

EMA: Anticuerpos antiendomiso

ESPGHAN: Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica

Fe: Hierro

GWAS: *Genome-Wide Association Studies* (Estudios de asociación de genoma completo)

HDL: *High Density Lipoprotein* (Lipoproteína de alta densidad)

HLA: Antígeno leucocitario humano

IFN: Interferón

IgA: Inmunoglobulina A

IGF-1: Factor de crecimiento insulinoide-1

IL: Interleukina

IMC: Índice de masa corporal

IN: Índice nutricional

kU: kiloUnidades

LIEs: Linfocitos intraepiteliales

N: valor normal

n: tamaño muestral

PCR: *Polymerase Chain Reaction* (reacción en cadena de la polimerasa)

PreAlb: Prealbúmina

RIC: Rango intercuartil

sd: *standard deviation* (desviación típica)

SDS: *standard deviation score* (puntuación de desviación típica)

SSO: *Sequence-Specific Oligonucleotide* (oligonucleótido con especificidad de secuencia)

Tf: Transferrina

TG: Triglicéridos

tTG: Transglutaminasa tisular

TLR: *Toll-Like Receptor* (Receptor de tipo Toll)

TOLLIP: *Toll-interacting protein* (Proteína de interacción con Toll)

unid arbit: unidades arbitrarias

V. máx: Valor máximo

V. mín: Valor mínimo

vs.: versus

X: media

Zn: Zinc

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición

La Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) define la Enfermedad Celiaca (EC) en su última guía diagnóstica, que data del año 2020 (1), como un proceso sistémico de carácter inmunológico, desencadenado por el consumo de gluten y de otras prolaminas relacionadas (secalinas, hordeínas y, posiblemente, aveninas) que se da en sujetos genéticamente predispuestos (genes de la región HLA). Cursa con una combinación variable de síntomas clínicos, marcadores serológicos específicos, haplotipo HLA-DQ2/DQ8 y enteropatía (2).

1.2. Historia

La primera definición de enfermedad celiaca fue establecida por Areteo de Capadocia en el siglo II. Fue publicada en 1856 por la *Sydenham Society*: “El estómago como órgano digestivo trabaja en la digestión cuando la diarrea se apodera del paciente. Si esta diarrea no procede de una causa leve de sólo uno o dos días de duración y si, además, el estado general del paciente se debilita por atrofia del cuerpo, se forma la Enfermedad Celiaca de naturaleza crónica.” Pensaba que se debía a un proceso de digestión incompleto y destacaba en los pacientes la debilidad extrema que presentaban, afirmando que era una enfermedad que afectaba sólo a adultos, sobre todo a aquéllos de edad avanzada y a mujeres. El Dr. Samuel Jones Gee, en 1887, fue el primero en afirmar que la enfermedad afectaba a pacientes de todas las edades, especialmente a niños entre uno y cinco años, y estableció que el tratamiento fundamental consistía en “regular la comida”. El Dr. R. A. Gibbons, en 1889, escribió dos artículos sobre la EC en el *Edinburgh Medical Journal*, en los que proponía que la enfermedad dependía de una alteración en la inervación del aparato digestivo (hígado, páncreas, intestino y posiblemente también estómago y glándulas salivares), que provocaría una alteración en la digestión y la absorción en sangre de “elementos deletéreos”. El Dr. W. B. Cheadle, en 1903, llamó a la EC “acolia” por la aparente ausencia de bilis en las heces y observó que ocurría sobre todo en niños menores de 5 años de edad, con mucha más frecuencia en los dos primeros años de vida. Estaba de acuerdo con Gibbons en que el origen era nervioso y, por primera vez, describió un exceso de grasa en las deposiciones. En 1908, Herter, en su libro *Infantilism from Chronic Intestinal Infection*, propuso que la enfermedad se producía por una inflamación intestinal causada por la persistencia y el sobrecrecimiento de la flora bacteriana propia del periodo de lactancia, observando que los carbohidratos eran muy mal tolerados. Diez años después, G. F. Still estableció que la enfermedad se debía a un desorden digestivo grave y que el tratamiento debía ser más o menos empírico, aunque concretó que el pan agravaba los síntomas. Sidney Haas, en 1924, expuso el éxito en el tratamiento de ocho niños tratados con una dieta con alto contenido en plátano y que excluía explícitamente el pan, las galletas, las patatas y los cereales. Dicho manejo se mantuvo hasta los años 50 (3).

Durante la Segunda Guerra Mundial, Willem Karel Dicke, un pediatra holandés, comprobó que la escasez de pan en la dieta mejoraba la clínica de los niños con EC y que la

reintroducción del mismo provocaba su recaída. Este pediatra, además, fue el primero que observó una posible relación entre el trigo y la situación de malabsorción y rash en un niño en 1930. La madre de este niño le contó que la retirada del pan y las galletas de la dieta mejoraba los síntomas cutáneos. Posteriormente, identificó el gluten como principal actor de la enfermedad (4).

En 1954, el Dr. Paulley estableció que el estudio de material duodenal era necesario para avanzar en la comprensión de la enfermedad, pues objetivó en muestras obtenidas mediante cirugía la existencia de atrofia vellositaria en pacientes con EC (5). Sakula y Shiner, en 1957, a través de muestras obtenidas sin precisar cirugía, gracias a los avances en instrumental llevados a cabo en los años previos, fueron los primeros que describieron los cambios típicos en la mucosa intestinal de los pacientes con EC, la respuesta a la retirada del gluten de la dieta y a la posterior reintroducción del mismo (6).

Aunque ya en los años 60 se escribieron publicaciones que hablaban de la presencia de anticuerpos antigliadina (AGA) en los pacientes con EC (7), no fue hasta 1976 cuando Bürgin-Wolff propuso la determinación de AGA mediante inmunofluorescencia como screening en pacientes con sospecha de la enfermedad (8). En 1984, Chorzelski describió la presencia de anticuerpos antiendomiso (EMA) en pacientes con EC y dermatitis herpetiforme. En dicha publicación, se afirmaba que la presencia y el título de los AGA y EMA era acorde al grado de severidad de los cambios en la mucosa intestinal en los pacientes con EC (9). En 1998, Dieterich describió un método mediante ELISA para detección de anticuerpos antitransglutaminasa (anti-tTG) en suero, afirmando que existía una elevada correlación entre dichos anticuerpos y los EMA (10).

Fue en los años 70 cuando comenzó a hablarse de una posible predisposición genética para la EC ligada al HLA. En 1972 se publicó el descubrimiento de la asociación con el antígeno HLA-B8 (11, 12). Posteriormente se demostró que la asociación principal era con DW3 (13) y HLA-DR3 (14). En 1973 se comprobó que el antígeno DR7 también estaba asociado (15). En esta publicación, los autores descubrieron de forma inesperada un elevado número de heterocigotos DR3/DR7. Hoy sabemos con certeza que existe una fuerte predisposición genética a padecer EC y que la gran mayoría de pacientes con EC tienen HLA-DQ2 o DQ8 (16).

La Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, la actual ESPGHAN, estableció en 1969 los primeros criterios diagnósticos de enfermedad celiaca, los criterios de Interlaken, según los cuales, era necesaria la realización de tres biopsias para llegar al diagnóstico: la primera en el momento inicial, para objetivar la presencia de las lesiones características, la segunda tras haber retirado el gluten de la dieta, para comprobar la remisión, y la tercera tras haberlo reintroducido, para comprobar la reaparición de las lesiones (17, 18). En 1990 se publicó la primera actualización de dichos criterios, que evitaba la realización de tres biopsias en los niños sintomáticos con una primera biopsia compatible con EC y una respuesta clínica favorable a la dieta sin gluten. La serología positiva no formaba parte de estos criterios (19).

En 1990, además, Marsh y colaboradores crearon una clasificación para las lesiones intestinales propias de la enfermedad celiaca (20), modificada por Oberhuber en 1999 (21).

Esta clasificación es la más utilizada todavía en la actualidad para definir las lesiones histopatológicas presentes en las biopsias duodenales de los pacientes con EC.

La siguiente actualización de los criterios diagnósticos establecidos por la ESPGHAN se realizó en 2012 (22). En ellos se establecía que la realización de biopsia intestinal no era imprescindible para confirmar el diagnóstico en pacientes sintomáticos que presentaran valores de IgA anti-tTG por encima de 10 veces el límite superior de la normalidad, EMA positivos en una segunda muestra de sangre y HLA compatible. De esta forma, se consideraba por primera vez la serología y el estudio genético como parte del proceso diagnóstico y se aceptaba la excelente correlación de los IgA anti-tTG con la presencia de lesión intestinal.

En enero de 2020, la ESPGHAN ha publicado la actualización más reciente (1), que incluye varias novedades:

- En algunos pacientes asintomáticos que cumplan los criterios específicos (IgA anti-tTG por encima de 10 veces el límite superior de la normalidad, EMA positivos en una segunda muestra de sangre), podría establecerse el diagnóstico omitiendo la biopsia intestinal. En estos casos, al ser menor el valor predictivo positivo de los niveles elevados de IgA anti-tTG, la decisión de no realizar biopsia debe ser realizada de forma individualizada y consensuada con los padres y el paciente (2).
- No es necesario el estudio del HLA para el diagnóstico sin biopsia intestinal. Estaría sólo indicado para el cribado de población de riesgo y en casos dudosos.
- En los déficits de IgA, y en pacientes asintomáticos con diabetes mellitus de tipo 1 (DM-1) es obligatorio realizar la biopsia intestinal para establecer el diagnóstico.

1.3. Predisposición genética

El principal determinante de susceptibilidad genética para la enfermedad celiaca es el Antígeno Leucocitario Humano (HLA) de clase II (22), cuyos genes se localizan en el brazo corto del cromosoma 6. La asociación más fuerte se ha observado con los alelos HLA-DQ y HLA-DR. Los genes HLA son polimórficos y codifican moléculas que actúan como receptores de superficie celular, responsables de la presentación de péptidos antigénicos. Estructuralmente, son heterodímeros formados por dos cadenas, α y β , codificadas en el caso de HLA-DQ por los genes DQA1 y DQB1 y en el caso de HLA-DR por los genes DRA1 y DRB1, siendo DRA1 no polimórfico. El número, tipo y configuración de los alelos DQA1 y DQB1 determinan el riesgo de padecer EC (16).

El grupo de pacientes con más riesgo son aquéllos homocigotos para DQB1*02, asociado a DR3 o a DR7. En este sentido, dicha homocigosis puede provenir de DR3/DR3 o DR3/DR7, correspondiendo DR3 a DQB1*02:01 DQA1*05:01 y DR7 a DQB1*02:02 DQA1*02:01. En España, se ha detectado una variación en la prevalencia de cada tipo de homocigosis asociada a la localización geográfica (23). Se ha descrito que HLA-DQ2 en homocigosis podría estar asociado a una menor edad de presentación (24) y un curso clínico

más complicado (25), aunque estudios más actuales no encuentran correlación entre la dosis de HLA-DQ2 y la severidad clínica (26) y recientemente se han publicado otros estudios que establecen un efecto dosis-gen dependiente en los niveles de IgA anti-tTG al diagnóstico, pero no en cuanto a la expresión clínica de la enfermedad (27). Más del 95% de los pacientes con EC son positivos para HLA-DQ2 y la mayoría de los restantes lo son para HLA-DQ8, asociado a DR4. Aproximadamente el 30-40% de la población blanca de origen europeo tiene el haplotipo HLA-DQ2 y sólo el 1% desarrolla la enfermedad. En otras zonas del mundo, la frecuencia alélica de DQ2 y DQ8 es mucho más baja y, en consecuencia, la incidencia y prevalencia de EC es mucho menor en estas poblaciones (28).

DQ8 es un heterodímero compuesto por cadenas α codificadas por DQA1*03:01 y cadenas β codificadas por DQB1*03:02. La prevalencia de DQ8 en la población general varía mucho según el área geográfica. Un 5-10% de pacientes celíacos lo portan (28). El riesgo de EC es mayor en individuos DQ2 y DQ8 positivos. Por otra parte, aunque hay estudios que consideran que DQ8 en homocigosis y heterocigosis confiere un riesgo similar (26), otros establecen que DQ8 en homocigosis implica mayor riesgo que en heterocigosis (16).

El desarrollo de EC en individuos DQ2 y DQ8 negativos es extremadamente raro (16).

La expresión de DQ2 o DQ8 es una condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo de la EC (16).

Estudios genéticos recientes han identificado una serie de factores genéticos no-HLA (muchos de ellos en genes implicados en la respuesta inmune) asociados a la EC, que si bien por sí solos contribuyen mínimamente al riesgo de padecer la enfermedad, tienen un gran potencial para guiar en el descubrimiento de nuevos e importantes mecanismos implicados en la patogénesis de la misma (16). Algunos de estos factores se han detectado además en otras enfermedades, incluyendo enfermedades inmunomediadas graves como la DM-1, la artritis reumatoide y la enfermedad de Crohn, lo que sugiere una base genética común.

1.4. Epigenética

La enfermedad celíaca se produce a raíz de la interacción entre factores genéticos, ambientales e inmunológicos (16). El HLA explica en torno al 40% de la heredabilidad de la EC y junto con otras variantes de secuencias de ADN detectadas mediante estudios de asociación del genoma completo (*Genome-wide association studies, GWAS*) explica en torno al 50% de la misma. Sin embargo, la patogénesis de la EC podría estar dirigida por otro tipo de información genética independiente de la anterior (29).

En un trabajo realizado por nuestro grupo recientemente, se ha detectado en una cohorte de pacientes con genética de alto riesgo para EC un total de 188 sitios CpG con diferencias significativas en la metilación entre individuos celíacos y hermanos sanos con el mismo HLA de riesgo, lo que sugiere que dichas diferencias en la metilación de genes podrían estar implicadas en la fisiopatología de la EC y/o ayudar a detectar a las personas genéticamente predispuestas que la padecerán (30). Se están desarrollando más estudios

sobre la metilación del ADN (29) y muchos otros que, en esta dirección, tratan de ampliar el conocimiento acerca de la patogénesis de la EC e identificar posibles dianas terapéuticas.

1.5. Factores relacionados con la pérdida de tolerancia al gluten

Como ocurre en otras enfermedades complejas, además de los factores genéticos, determinados factores ambientales participan en la patogénesis de la enfermedad celiaca. Se sabe con certeza que el desencadenante de la enfermedad es el gluten, claramente asociado con respuestas inmunes innatas en el epitelio intestinal. Parece claro además que linfocitos intraepiteliales citotóxicos juegan un papel central. Hallazgos recientes implican a la microbiota en el desarrollo de la EC. Estudios epidemiológicos han sugerido que las infecciones virales en la infancia, la introducción temprana y posiblemente tardía del gluten en la dieta, el parto por cesárea y la ausencia de lactancia materna podrían ser factores de riesgo para el desarrollo de EC (16).

Aunque se desconoce el mecanismo de acción de muchos de estos factores externos, se piensa que la mayoría de ellos actúan rompiendo la barrera intestinal, facilitando el contacto entre los antígenos potenciales y las células del sistema inmune (31).

La investigación acerca del papel de la microbiota en diferentes enfermedades, incluida la enfermedad celiaca, es un tema en desarrollo. Cada vez con más frecuencia aparecen en la literatura estudios que analizan el posible papel del microbioma en la EC y que proponen la existencia de una asociación entre el desarrollo de la EC y cambios en la composición y la función del microbioma intestinal, sugiriendo que puede haber microorganismos que promuevan una respuesta adversa al gluten, mientras otros podrían jugar un papel protector (32-37). En algunos estudios, factores genéticos y ambientales asociados con un riesgo incrementado de padecer EC se han relacionado con cambios en la composición de la microbiota intestinal en lactantes, como es el caso del genotipo HLA-DQ2 o del tipo de lactancia (37, 38). Algunos mecanismos epigenéticos parecen jugar un papel importante en la modulación de la composición y la función de la microbiota intestinal y podrían tener influencia en el riesgo de padecer EC (36). Que todos estos hechos puedan o no estar relacionados con la causalidad de la EC es algo que debe ser aclarado con más estudios (36).

Estudios moleculares arrojan datos acerca del papel de la expresión alterada de receptores en la mucosa intestinal en el desarrollo de la EC, objetivando, por ejemplo, un incremento en la expresión de interleukina 10 (IL-10) e interferón γ (IFN- γ) en pacientes con EC, lo cual puede resultar en parte en el incremento de la expresión y señalización del *Toll-like receptor 9* (TLR9) (39). Estudios de factores similares evidencian una expresión génica alterada de TLR2, TLR9 y *Toll-interacting protein* (TOLLIP) en biopsias de intestino delgado de pacientes con EC (40). Ambos sugieren la importancia de factores asociados con la microbiota en el desarrollo de la enfermedad.

Tras una serie de estudios llevados a cabo en los años 80 que sugerían un papel para las infecciones por adenovirus tipo 12 producidas durante la infancia en el desarrollo de EC

(41), refutados en los años 90 (42, 43), hallazgos más recientes describen de nuevo una elevada frecuencia de enterovirus, aunque no de adenovirus, en la infancia temprana en pacientes que luego desarrollaron una EC (44).

El tipo de parto también ha sido estudiado como un posible factor de riesgo en el desarrollo de enfermedad celiaca, quizás por las diferencias en la colonización bacteriana neonatal entre los niños que nacen por medio de un parto vaginal y aquéllos que lo hacen por cesárea. Se ha descrito una incidencia más elevada de parto por cesárea en niños con EC que en niños sanos (45). Publicaciones recientes sugieren que sólo existen pruebas circunstanciales de que el ambiente perinatal influye en el desarrollo de EC y establecen la necesidad de realizar más estudios que nos ayuden a establecer el papel de estos factores (46). Recientemente, se ha afirmado que el tipo de parto en niños genéticamente predispuestos a padecer EC no influye en el riesgo de desarrollo de la misma (47). Otros estudios, sin embargo, sugieren que tanto el tipo de parto como la estación de nacimiento son factores que influyen para que un mismo paciente desarrolle DM-1 y enfermedad celiaca (48).

Otro factor de riesgo estudiado ha sido el momento de introducción del gluten en la dieta. Se ha descrito un incremento del riesgo de desarrollo de EC en niños que habían comenzado a tomar gluten en los primeros meses de vida y a partir del séptimo mes, siendo el “periodo protector de introducción” el comprendido entre los 4 y los 6 meses de vida (49). Estudios prospectivos realizados con posterioridad han demostrado que el momento de introducción del gluten no incrementa el riesgo de padecer EC (50, 51).

La lactancia materna y el mantenimiento de la misma durante varios meses también han sido propuestos como factores protectores para el desarrollo de EC (52), argumentando para ello el retraso en la inclusión del gluten en la dieta, la protección frente a infecciones, la disminución de la respuesta inmune por anticuerpos IgA en la leche materna y efectos supresores específicos de células T (16). De nuevo, estudios posteriores han mostrado que dicho factor no tiene influencia en el riesgo de padecer la enfermedad (50, 51, 53).

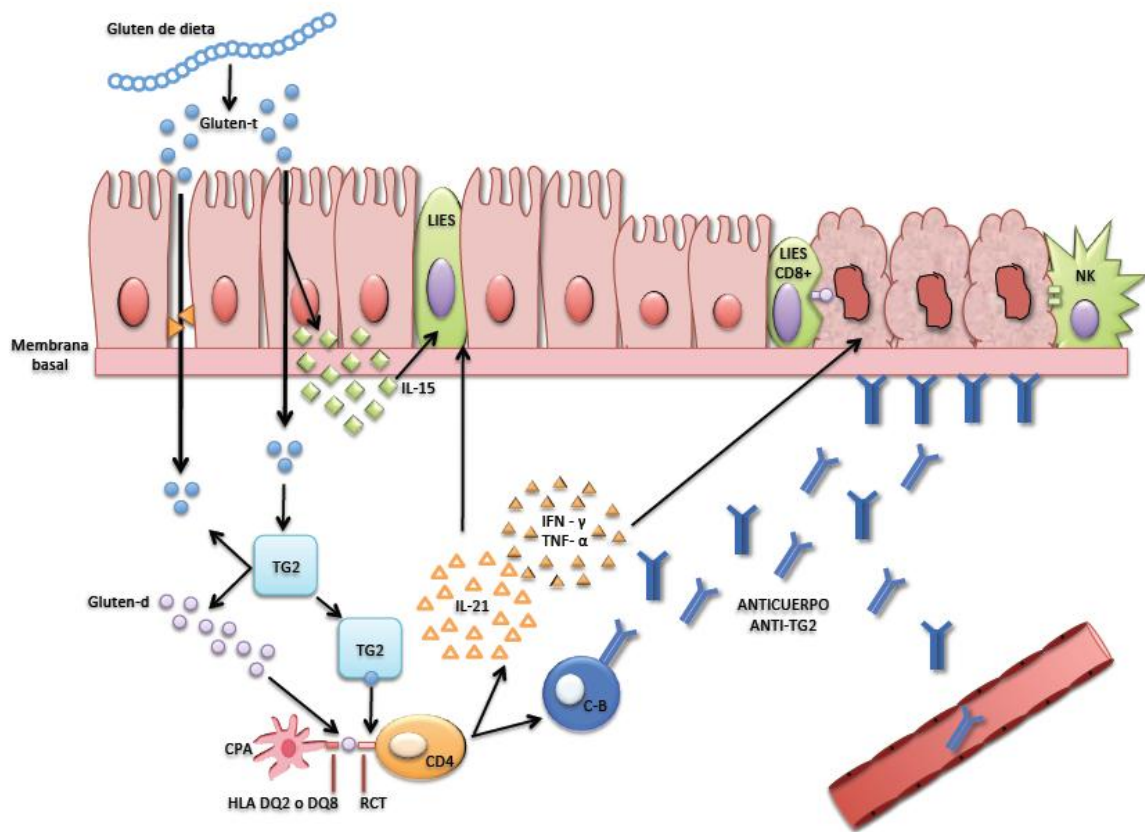
Además de la investigación sobre factores ambientales, la disregulación inmune es un tema de amplio interés en la actualidad y un punto central en la patogénesis de la EC. Se sabe que tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa están implicadas en el desarrollo de la enfermedad. Se ha hablado del papel de la transglutaminasa tisular en la desaminación de epítomos tóxicos específicos (54), de respuestas inmunes adaptativas gluten específicas de células T (16), de daño epitelial en el intestino delgado dependiente de linfocitos intraepiteliales CD8+CD4- (55), etc.

1.6. Serología

Dentro de la respuesta inmune observada en la enfermedad celiaca destaca la presencia de anticuerpos plasmáticos. Inicialmente se detectaron los anticuerpos antigliadina (AGA), posteriormente los anticuerpos antiendomiso (EMA) y más recientemente los anticuerpos antitransglutaminasa tisular (anti-tTG). La presencia de autoanticuerpos específicos dirigidos contra el autoantígeno transglutaminasa (tTG) y anticuerpos frente a

péptidos deaminados de la gliadina es muy específica de la EC y se considera hoy en día el principal marcador biológico de la enfermedad, con un altísimo grado de sensibilidad y especificidad. Los anticuerpos antiendomiso actúan frente a tTG extracelular. Generalmente, se estudia la clase IgA de todos ellos, aunque en pacientes con déficit de IgA, pueden determinarse anticuerpos IgG (22).

La aparición de los anticuerpos específicos en sangre precede al desarrollo de las alteraciones histopatológicas típicas (56). Sin embargo, dichos anticuerpos no son detectables en todos los pacientes con EC; en estos casos, puede determinarse mediante técnicas de inmunofluorescencia la presencia de depósitos extracelulares de IgA anti-tTG gluten dependientes en la mucosa del intestino delgado (57). Existe la hipótesis de que estos anticuerpos se depositan en la mucosa intestinal morfológicamente normal antes de poder ser detectados en sangre (58). La Figura 1 resume la etiopatogenia de la enfermedad celiaca desde el punto de vista inmunológico.



© Sánchez-Valverde F, Zarikán S.

Figura 1. Etiopatogenia de la EC desde el punto de vista inmunológico.

Anticuerpo anti-TG2: anticuerpo antitransglutaminasa. CB: célula/linfocito B. CD4: célula/linfocito T CD4. CPA: célula presentadora de antígeno. HLA: antígeno leucocitario humano. IFN-γ: interferón γ. IL-15: interleukina-15. IL-21: interleukina-21. LIES: linfocitos intraepiteliales. NK: célula natural killer. RCT: receptor de célula T. TG2: transglutaminasa tisular. TNF-α: factor de necrosis tumoral α.

La detección de anticuerpos frente a transglutaminasa puede realizarse por varias técnicas de inmunoensayo, utilizando antígenos tTG recombinantes o purificados o muestras de tejidos o fluidos que contengan tTG. Por su elevada sensibilidad (93%), su amplia disponibilidad, su bajo coste y las características de las técnicas para su detección, el estudio de los anti-tTG es la prueba preferida para el screening de enfermedad celiaca en pacientes asintomáticos y para descartar EC en pacientes sintomáticos con bajo riesgo de padecerla (59). Por los mismos motivos, también es el test propuesto por la ESPGHAN para la aproximación inicial ante la sospecha de EC (1, 22).

La detección de anticuerpos antiendomiso mediante inmunofluorescencia requiere evaluación con microscopio, por lo que puede haber cierta variación interobservador. A pesar de esta limitación, su especificidad es del 98 al 100%, por lo que la ESPGHAN lo considera el test estándar de referencia para la detección de los anticuerpos específicos de la EC y la confirmación serológica de la misma.

La positividad de anti-tTG y/o EMA se asocia a una elevada probabilidad de padecer una EC (60). Sin embargo, hay que tener en cuenta que niveles de anti-tTG por encima del valor normal se han descrito en numerosas patologías que no están relacionadas con la EC, como enfermedades autoinmunes, cuadros infecciosos, tumores... Sin embargo, en estas situaciones, los valores detectados no suelen sobrepasar el nivel de corte de 10 veces el valor de la normalidad establecido por la ESPGHAN. Por este motivo, el nivel de corte referido confiere una gran especificidad a este marcador para el diagnóstico de la EC.

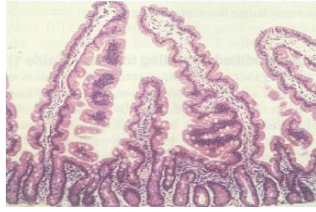
Los tests para detección de anticuerpos antigliadina tienen baja sensibilidad y especificidad, aunque la sensibilidad puede ser mayor en niños menores de 2 años si se compara con los anti-tTG y los EMA (61). Sin embargo, su baja especificidad también en este grupo de edad no los hace útiles en la práctica clínica.

Aunque existen tests para detección de anticuerpos frente a péptidos deaminados de la gliadina con mayor rentabilidad que la detección de AGA, su rendimiento es inferior si se les compara con la detección de anti-tTG y EMA (62).

1.7. Anatomía patológica

La agresión inmune característica de la enfermedad celiaca se acompaña de alteraciones en la mucosa intestinal. El patrón de lesiones histopatológicas que puede encontrarse en el intestino de pacientes con enfermedad celiaca es muy variable. Marsh fue el primero en clasificar estas lesiones y posteriormente Oberhuber modificó dicha clasificación, que es la que se usa actualmente y quedó establecida como sigue (21):

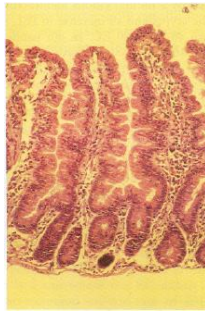
- Tipo 0. Mucosa normal, con ≤ 40 linfocitos intraepiteliales (LIEs)/100 células epiteliales (CE).



Tipo 0

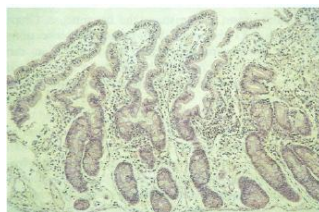
- Tipo 1: infiltrativa. La arquitectura vellositaria es normal, al igual que la altura de las criptas, pero hay un aumento en el número de LIEs, por encima de 40/100 CE. Este tipo de lesión puede encontrarse en pacientes con EC que siguen una dieta sin gluten, indicando que se están consumiendo pequeñas cantidades de gliadina o que el paciente no se encuentra todavía en remisión total. También puede encontrarse en familiares de primer grado de pacientes celíacos y en pacientes con dermatitis herpetiforme.

Se considera a este grado de lesión poco específico, pues sólo el 10% de los pacientes que lo presentan tienen una EC demostrada. En estos casos, un elevado conteo de células $\gamma\delta$ (o del ratio $\gamma\delta/CD3$) en la mucosa intestinal incrementa la posibilidad de padecer una EC, de la misma forma que la presencia de depósitos de IgA anti-tTG en la mucosa (22).



Tipo 1

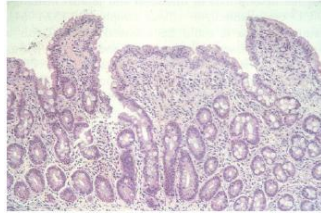
- Tipo 2: hiperplásica. La arquitectura vellositaria es normal, presentan más de 40 LIEs/100 CE e hiperplasia de las criptas. Se ve con muy poca frecuencia y se observa sobre todo en pacientes con dermatitis herpetiforme.



Tipo 2

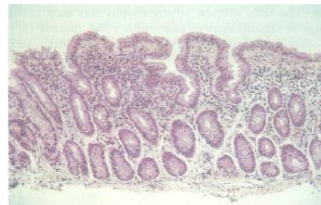
- Tipo 3: destructiva. Se divide en tres subgrupos en función del grado de atrofia vellositaria. Es el tipo de lesión típicamente diagnóstica de EC. Aunque un incremento en el número de LIEs es obligatorio para definirla, un número normal puede observarse después de iniciar la DSG.

* Tipo 3a: aplanamiento vellositario leve, aumento de la altura de las criptas y aumento del número de LIEs por encima de 40/100 CE.



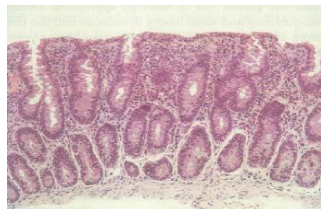
Tipo 3a

* Tipo 3b: aplanamiento vellositario severo, aumento de la altura de las criptas y aumento del número de LIEs por encima de 40/100 CE.



Tipo 3b

* Tipo 3c: mucosa plana (aplanamiento vellositario total), aumento de la altura de las criptas y aumento del número de LIEs por encima de 40/100 CE.



Tipo 3c

- Tipo 4: se trata de una lesión muy rara, con una mucosa plana, normalidad en la altura de las criptas y número normal de LIEs. Se trata de lesiones graves inducidas por el gluten que no responden a su retirada.

En la Tabla 1 se muestran las características principales que definen cada uno de los tipos de lesión histopatológica según la clasificación de Marsh-Oberhuber (21).

Tabla 1. Clasificación de Marsh-Oberhuber de las lesiones histopatológicas características de la EC (21).

	Tipo 0	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3a	Tipo 3b	Tipo 3c
LIEs/100 CE	≤40	>40	>40	>40	>40	>40
Criptas	Normal	Normal	Hipertróficas	Hipertróficas	Hipertróficas	Hipertróficas
Vellosidades	Normal	Normal	Normal	Atrofia moderada	Atrofia marcada	Ausentes

CE: células epiteliales. LIEs: linfocitos intraepiteliales.

Según la clasificación descrita, el número de LIEs necesarios para hablar de lesión infiltrativa es mayor de 40/100 CE. Dicha definición ha sido modificada recientemente, de forma que el número necesario en la actualidad se ha reducido a más de 25 LIEs/100 CE (63). Esta característica está presente en el 5.4% de la población general, por lo que debe ser interpretada en el contexto de la clínica y la serología (64).

Está descrito en las últimas guías ESPGHAN que títulos elevados de IgA anti-tTG se correlacionan con lesiones histológicas más severas (1, 22), lo que confirman también estudios recientes (65).

Los cambios descritos no son patognomónicos de la EC y pueden verse en otras entidades, como la hipersensibilidad a proteínas de leche de vaca o de soja, la infestación severa por *Giardia lamblia*, inmunodeficiencias, sprue tropical, sobrecrecimiento bacteriano, etc. Por tanto, los hallazgos anatomopatológicos deben interpretarse siempre en función de la clínica y los hallazgos serológicos, asegurando que el gluten esté formando parte de la dieta.

Las biopsias pueden obtenerse mediante endoscopia alta o con cápsula de succión, con la que habitualmente se obtienen muestras de mejor calidad. La endoscopia, sin embargo, tiene una serie de ventajas (procedimiento más breve, ausencia de radiación, obtención de múltiples muestras, contemplando la posibilidad de que las lesiones sean parcheadas), por lo que es el método recomendado por la ESPGHAN para la recogida de las muestras (22). Además, permite considerar otros diagnósticos y describir el patrón endoscópico sugestivo de la enfermedad celiaca.

Es importante analizar varias muestras, debido al carácter parcheado de las lesiones (64, 66) y también al hecho de que se han descrito diferentes grados de severidad, incluso en el mismo fragmento.

1.8. Diagnóstico

Desde 1969 a 1990, el diagnóstico de EC se realizaba según dictaban los criterios de Interlaken (18), que establecían la obligatoriedad de realizar tres biopsias: una inicial que demostrase la presencia de las lesiones anatomopatológicas características, una segunda tras haber eliminado el gluten de la dieta para comprobar su remisión y, por último, una tercera después de haber reintroducido el gluten para evidenciar la reaparición de las lesiones.

En 1990, la ESPGHAN actualizó sus criterios diagnósticos (19), vigentes hasta 2012, según los cuales, los pacientes sintomáticos con enfermedad celiaca debían cumplir dos requisitos para ser diagnosticados:

1. Tener una biopsia de mucosa del intestino delgado con lesiones propias de la enfermedad en el momento del diagnóstico.

2. Comprobar una remisión de la clínica provocada por la enfermedad razonablemente rápida (en semanas más que en muchos meses) tras la implantación de una dieta estricta libre de gluten.

Para los pacientes asintomáticos, se proponía una primera biopsia con hallazgos anatomopatológicos compatibles y una biopsia de control tras la implantación de la dieta sin gluten (DSG), con el fin de comprobar la remisión de las lesiones. Aclaraban que la realización de una biopsia de control es siempre una manera útil de verificar el efecto de la dieta cuando la respuesta clínica es equívoca. Recomendaban la recogida de las muestras para el estudio histopatológico mediante la cápsula de *Watson-Crosby*, más que por endoscopia, para asegurar la calidad de dichas muestras.

En cuanto a los anticuerpos (antigliadina, anti-reticulina y antiendomiso), quedaba establecido que su presencia en pacientes con una biopsia compatible con enfermedad celiaca y su desaparición en paralelo a la respuesta clínica a la dieta sin gluten daba peso al diagnóstico, pero que su presencia no podía ser el único elemento a considerar. Señalaban que su desaparición tras la implantación de la DSG era un marcador de respuesta y que su presencia o ausencia podía utilizarse como guía para valorar el cumplimiento terapéutico.

La provocación con gluten se reservaba para los pacientes con dudas diagnósticas y para los menores de 2 años en el momento del diagnóstico, por la posibilidad de haber interpretado como hallazgos propios de la enfermedad celiaca alteraciones anatomopatológicas producidas por otras entidades frecuentes en niños de esta edad.

En 2012, la ESPGHAN actualizó nuevamente los criterios diagnósticos de la enfermedad celiaca (22). Esta guía divide a los pacientes en dos grupos: niños con síntomas sugestivos de EC (grupo 1) y niños asintomáticos con riesgo incrementado de padecer EC (grupo 2).

El diagnóstico de los pacientes del grupo 1 está basado en una clínica, una serología y una histología compatibles con la enfermedad. Si la IgA anti-tTG presenta títulos altos (más de 10 veces el límite superior de la normalidad), puede diagnosticarse la EC sin necesidad de realizar biopsia duodenal, siempre y cuando en una segunda determinación en sangre los EMA sean positivos. En el grupo 2, se precisa una serología positiva y hallazgos histológicos compatibles.

La serología específica de la EC incluye los anticuerpos antitransglutaminasa tisular y los anticuerpos antiendomiso en sangre. La medición de anticuerpos frente a los péptidos deaminados de la gliadina (DGP) podría ser razonablemente específica, según estas guías. Los resultados deben ser reflejados de forma cuantitativa y siempre acompañados de los niveles de IgA total. En aquellos pacientes que presenten niveles bajos de IgA total (<0.2 g/L), se estudiará la IgG frente a dichos antígenos.

El estudio del HLA debería realizarse en pacientes con un diagnóstico incierto, por ejemplo, en aquéllos con serología negativa y cambios leves en las muestras de intestino delgado obtenidas mediante biopsia. Se recomienda además en niños en los que existe una fuerte sospecha clínica y niveles elevados de los anticuerpos específicos, por lo que no se plantea la realización del estudio histopatológico. La presencia de los haplotipos HLA-DQ2 y DQ8 refuerza el diagnóstico en estos casos. Por último, debe plantearse en niños con riesgo incrementado de padecer EC (grupo 2), con el fin de plantear ampliar el estudio mediante

serología. En esta situación, la presencia de HLA-DQ2 y DQ8 es muy significativa, pues la EC es improbable si ambos haplotipos son negativos.

Ante los datos de prevalencia del HLA-DQ2 y DQ8 en la población general y en los grupos de riesgo de enfermedad celiaca y la prevalencia de la enfermedad en sí misma, hay estudios recientes que recomiendan realizar el análisis genético sólo en los pacientes con títulos elevados de anticuerpos específicos, pues son aquéllos en los que se plantea la realización del diagnóstico de EC sin toma de muestras endoscópicas. Según dichos estudios, el análisis genético no debe usarse como screening o como parte del diagnóstico en otras situaciones clínicas (67, 68). Avanzando un paso más, en la última actualización de los criterios diagnósticos realizada por la ESPGHAN en enero de 2020, se recomienda realizar el análisis genético sólo para cribado de población de riesgo y en casos en los que existan dudas diagnósticas, no siendo necesario en los pacientes que presenten títulos de IgA anti-tTG por encima de 10 veces el límite superior de la normalidad, ni tampoco en los casos que precisen biopsia para llegar al diagnóstico (1).

En cuanto al estudio histopatológico a realizar según los criterios publicados en 2012, las biopsias deben recogerse preferiblemente del bulbo (al menos una) y de la segunda o tercera porción del duodeno (al menos cuatro). La descripción del patólogo debe incluir la orientación, la presencia o no de vellosidades normales o el grado de atrofia vellositaria o elongación de las criptas, el ratio vellosidad-cripta, el número de linfocitos intraepiteliales (LIEs) y el grado de lesión de acuerdo a la clasificación de Marsh-Oberhuber.

En niños o adolescentes con síntomas o signos sugestivos de enfermedad celiaca, la primera determinación a realizar debe ser la medición de la IgA anti-tTG. Si es negativa, el diagnóstico de EC es poco probable y sólo se recomienda la realización de otros estudios diagnósticos en situaciones especiales (niños menores de 2 años, ingesta escasa de gluten, síntomas severos, predisposición familiar, enfermedad predisponente o medicación inmunosupresora). La Figura 2 muestra el algoritmo diagnóstico en este grupo de pacientes.

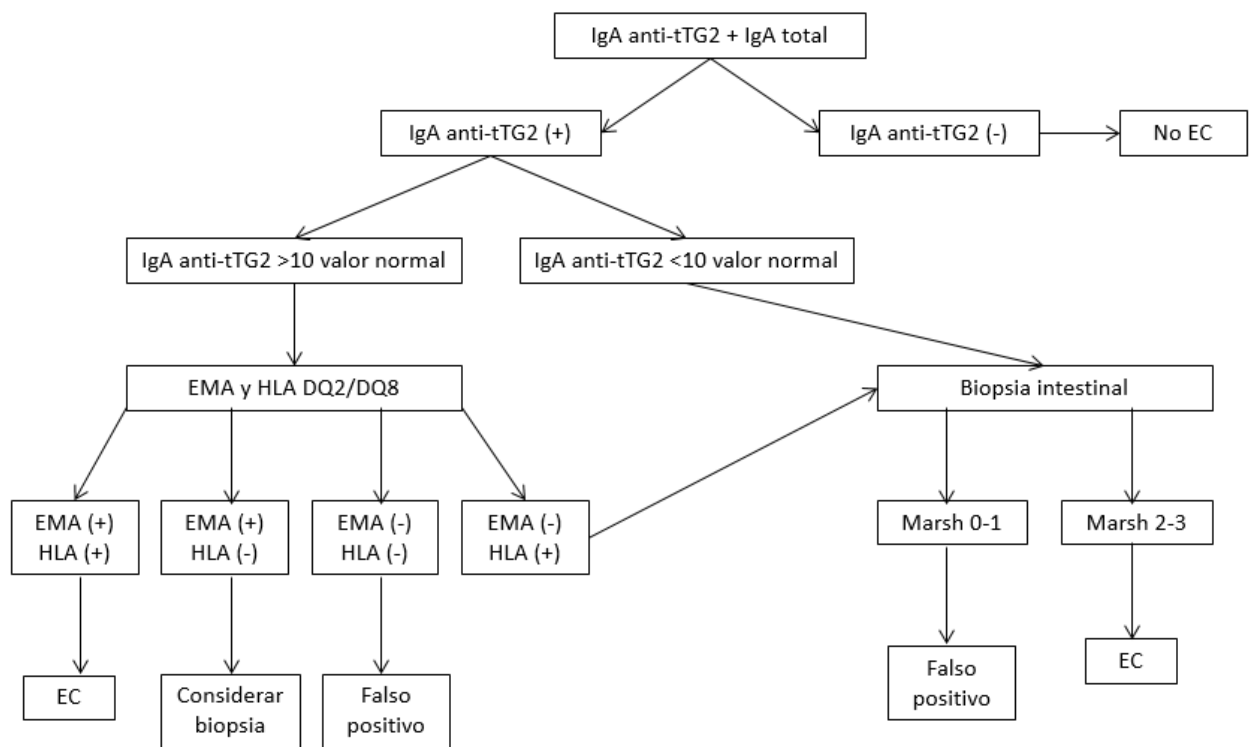


Figura 2. Algoritmo diagnóstico para niños con síntomas sugestivos de EC (ESPGHAN 2012) (22).

EC: enfermedad celiaca. EMA: anticuerpos antiendomiso. HLA: antígeno leucocitario humano. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular.

En aquellos casos en los que todos los anticuerpos son negativos (anti-tTG, EMA y anti-DGP), pero los síntomas son severos y la sospecha de enfermedad celiaca es fuerte, deben realizarse biopsias duodenales y estudio del HLA. Aunque las lesiones histopatológicas sean compatibles, si el estudio del HLA es negativo, la EC es muy poco probable. En estos casos, el diagnóstico sólo puede hacerse con una prueba de provocación positiva y biopsias repetidas.

En niños y adolescentes asintomáticos con riesgo elevado de padecer una enfermedad celiaca, el primer test a realizar es el estudio del HLA. La ausencia de DQ2 y DQ8 hace muy improbable el diagnóstico, por lo que en este caso no deben realizarse más pruebas. Si el paciente es DQ2 o DQ8 positivo o el estudio del HLA no puede realizarse, deben determinarse los niveles de IgA anti-tTG y de IgA total, preferiblemente no antes de los 2 años de edad. Si los anticuerpos son negativos, se recomienda repetir su determinación. En este grupo de pacientes (grupo 2), siempre debe realizarse una biopsia duodenal para llegar al diagnóstico. El algoritmo a seguir queda reflejado en la Figura 3.

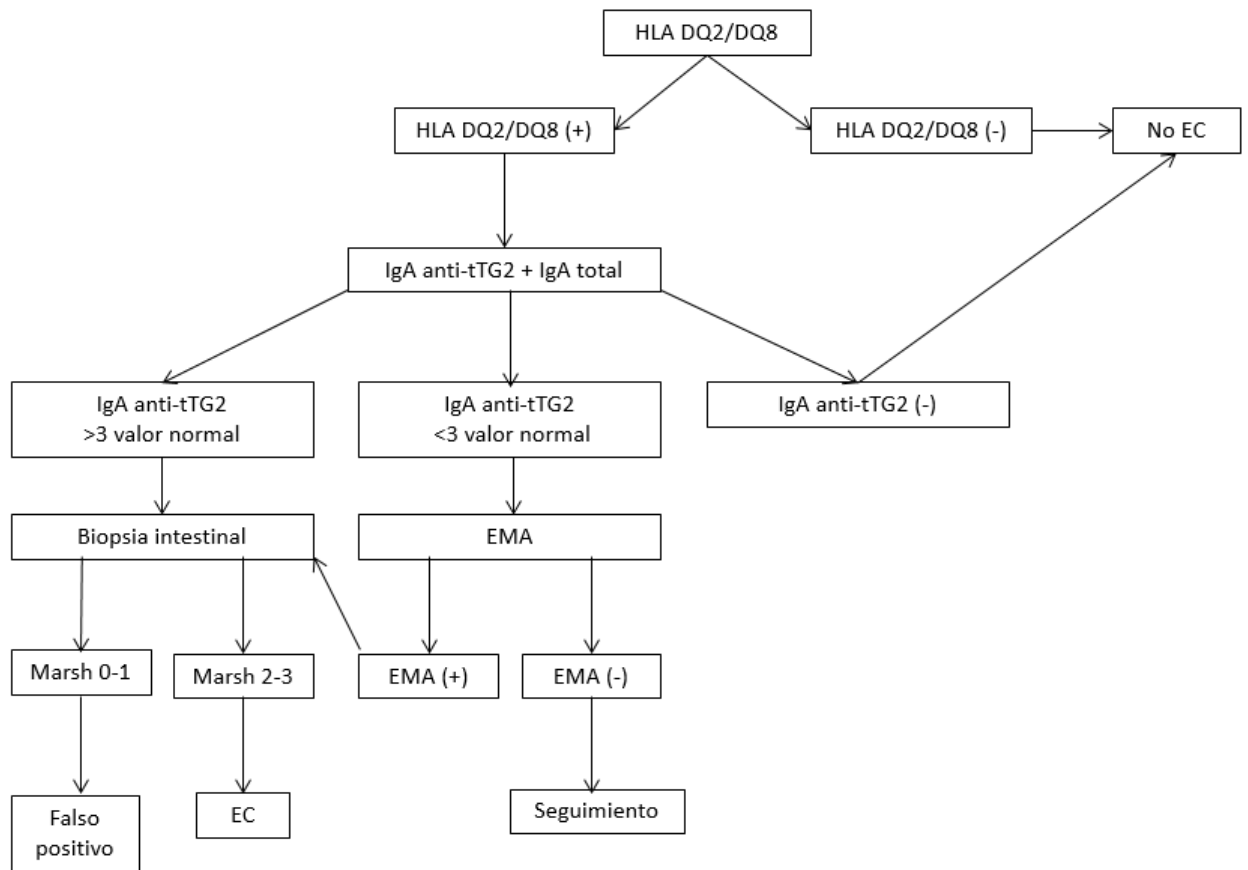


Figura 3. Algoritmo diagnóstico para niños asintomáticos con riesgo de padecer EC (ESPGHAN 2012) (22).

EC: enfermedad celiaca. EMA: anticuerpos antiendomisio. HLA: antígeno leucocitario humano. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular.

La última actualización de los criterios diagnósticos de la ESPGHAN data de enero de 2020 (1). Estas guías establecen que el primer paso para el diagnóstico de una EC es la determinación de la IgA anti-tTG junto con la cuantificación de IgA sérica, tanto en niños sintomáticos como en asintomáticos con riesgo de padecer EC. En los casos en los que se objetive un valor de IgA anti-tTG mayor de 10 veces el límite superior de la normalidad, puede realizarse el diagnóstico sin necesidad de realizar biopsia intestinal, siempre que en una segunda muestra presenten EMA positivos. Por tanto, para establecer el diagnóstico de EC sin biopsia intestinal no son criterios obligatorios ni la presencia de síntomas ni el estudio del HLA. En aquellos casos en los que el valor de IgA anti-tTG sea menor de 10 veces el límite superior de la normalidad deberá plantearse la biopsia intestinal como paso imprescindible para establecer el diagnóstico.

1.9. Variabilidad en la presentación clínica

La ESPGHAN, en su guía diagnóstica de 2012 (22), clasifica la enfermedad celiaca en:

1. Sintomática: puede cursar con síntomas gastrointestinales o extraintestinales.
2. Silente: cursa con anticuerpos específicos positivos, HLA DQ2 o DQ8 y hallazgos histopatológicos compatibles, pero ausencia de síntomas.
3. Latente: presenta HLA compatible sin enteropatía, en un paciente que ha tenido una enteropatía gluten dependiente en algún momento de su vida; puede o no cursar con síntomas y anticuerpos específicos.
4. Potencial: son positivos los anticuerpos específicos y el HLA es compatible, pero no hay alteraciones histológicas; puede o no cursar con síntomas y el paciente puede o no desarrollar una enteropatía dependiente del gluten posteriormente.

Existen otras clasificaciones de la enfermedad celiaca que consideran términos incluidos en la clasificación de la ESPGHAN, rechazan algunos de ellos y proponen otras categorías. Las definiciones de Oslo, publicadas en 2013, diferencian los siguientes términos (69):

1. Clásica: la que se presenta con signos y síntomas de malabsorción (diarrea, esteatorrea, pérdida de peso o fallo en el crecimiento). Desaconsejan el término “típica”, que ha podido considerarse equivalente a “clásica” en algunas ocasiones.
2. No clásica: la que se presenta sin signos o síntomas de malabsorción. Desaconsejan el uso de “atípica”.
3. Sintomática: está caracterizada por síntomas gastrointestinales o extraintestinales clínicamente evidentes y atribuibles a la ingesta de gluten. Esta categoría se corresponde con la “EC sintomática” establecida por la ESPGHAN. Desaconsejan el término “abierta”, que consideran equivalente a “sintomática”.
4. Asintomática: la que se presenta sin síntomas, incluso respondiendo a preguntas directas sobre ellos en el momento del diagnóstico. Al contrario que en la clasificación de la ESPGHAN, desaconsejan el uso del término “silente”, que consideran equivalente a “asintomática”.
5. Subclínica: la que está por debajo del límite de detección clínica, por no presentarse con signos o síntomas que hagan iniciar el estudio para detectar la presencia de una posible EC.
6. Potencial: se trata de individuos con una mucosa intestinal normal, pero un riesgo incrementado de desarrollar EC por tener una serología positiva típica de la enfermedad. Esta categoría es equivalente a la del mismo nombre establecida por la ESPGHAN. Consideran que el término “EC latente” se ha usado en muchas ocasiones como sinónimo de “EC potencial”, causando confusión, y desaconsejan el uso del primero.
7. Refractaria: cuando existen signos o síntomas malabsortivos persistentes o recurrentes con atrofia vellositaria a pesar de que el paciente haya realizado una dieta sin gluten estricta durante más de 12 meses.

La enfermedad celiaca puede presentarse con un amplio abanico de signos y síntomas o de forma asintomática. Entre los síntomas gastrointestinales típicos se encuentran la diarrea crónica, el estreñimiento crónico, el dolor abdominal, las náuseas, los vómitos y la distensión abdominal. Entre los extraintestinales, destacan el estancamiento ponderoestatural, la pubertad retrasada, la anemia crónica, la osteopenia y la osteoporosis, los defectos en el esmalte dental, la irritabilidad, la fatiga crónica, la neuropatía, artritis o artralgias, la amenorrea y la hipertransaminasemia (22).

Hoy en día, se considera que la EC en la edad pediátrica se manifiesta de forma más frecuente con síntomas extraintestinales (70). La causa por la que algunos pacientes presentan la enfermedad con síntomas severos y otros lo hacen con síntomas más leves es desconocida (71). Se estima, por otra parte, que sólo entre 1 de cada 3 y 1 de cada 7 adultos con EC presentan síntomas (72). Existe, por tanto, una gran variabilidad en la forma de presentación de la enfermedad.

Una mención especial merece la dermatitis herpetiforme (DH), que puede considerarse una manifestación extraintestinal típica de la enfermedad celiaca. Se caracteriza por pápulas y vesículas pruriginosas en codos, rodillas y nalgas. Las manifestaciones gastrointestinales floridas en los pacientes que la presentan son raras. El diagnóstico se confirma fácilmente demostrando por inmunofluorescencia los depósitos patognomónicos de IgA en la dermis papilar, dirigidos contra el antígeno transglutaminasa 3. El pronóstico con la dieta sin gluten es excelente.

En ocasiones, los valores antropométricos al diagnóstico se encuentran alterados: hay estudios que describen el fallo de crecimiento como el síntoma de debut más frecuente (73) y otros que, de forma similar, establecen que los niños y adolescentes con EC tienen menor peso y talla al diagnóstico que la población general (74). Es también conocido que pueden encontrarse alteraciones en parámetros bioquímicos nutricionales al diagnóstico, como niveles bajos de ferritina y ácido fólico (74) (75), descenso de los valores de colesterol total y HDL-colesterol (76) y valores bajos de prealbúmina (75).

La enfermedad celiaca se presenta con más frecuencia en parientes de primer grado de pacientes con EC, pacientes con enfermedades autoinmunes (DM-1, enfermedad tiroidea autoinmune, artritis idiopática juvenil, hepatitis autoinmune), pacientes con alteraciones cromosómicas (síndrome de Down, síndrome de Turner, síndrome de Williams) y pacientes con déficit selectivo de IgA (74).

1.10. Seguimiento

Tras la realización del diagnóstico de EC, la familia debe recibir consejo dietético profesional sobre cómo realizar una dieta sin gluten (22). El paciente debe ser seguido regularmente, para comprobar la mejoría clínica y la normalización de los anticuerpos específicos, que debería ocurrir en los siguientes 12 meses tras el inicio de la dieta. Se recomienda realizar controles serológicos a los 6 y 12 meses después del diagnóstico y posteriormente con una periodicidad anual (77).

Si no hay una mejoría clínica tras la implantación de la DSG en pacientes sintomáticos, una vez comprobado el adecuado cumplimiento, deben programarse más estudios, entre los que puede estar incluida la biopsia duodenal.

La provocación con gluten se recomienda sólo en situaciones especiales, como cuando existen dudas en el diagnóstico inicial. En estos casos, debe evitarse antes de los 5 años de edad y durante la época de desarrollo puberal. La ingesta de gluten debe ser la habitual en los niños, unos 15 gramos al día. Si durante la misma no aparecen síntomas ni positivización de los anticuerpos específicos, se considera finalizada a los 2 años.

1.11. Enfermedad celiaca y malignidad

La asociación entre EC y cáncer en la edad adulta está bien establecida, habiéndose descrito de forma clara un riesgo incrementado de linfoma no Hodgkin y neoplasias gastrointestinales, que actualmente se cree menor que el estimado previamente (78, 79). Trabajos recientes sugieren que los pacientes con mayor riesgo de padecer dichas neoplasias son aquéllos que presentan serologías persistentemente positivas y atrofia vellositaria mantenida, mientras que el riesgo es menor en los pacientes con EC latente y en los que se objetiva la curación de las lesiones mucosas intestinales (80). En paralelo con esta hipótesis, inicialmente se pensó que la dieta sin gluten estricta ejercía un fuerte efecto protector sobre estos procesos (81). Sin embargo, la información de la que disponemos actualmente acerca de ello resulta contradictoria (82): hay estudios que han encontrado un incremento en el riesgo de padecer linfoma independientemente de la adherencia a la DSG (83, 84), mientras que otros achacan la disminución de dicho riesgo, en pacientes con EC después del diagnóstico, a la ausencia de gluten en su dieta (85).

1.12. Tratamiento

La dieta sin gluten (DSG) es el único tratamiento existente para la enfermedad celiaca (22). La adherencia a la misma conlleva una remisión de las lesiones intestinales y mejora el crecimiento y la densidad mineral ósea (86). Se pensaba inicialmente que la instauración de la DSG no constituía ningún riesgo desde el punto de vista nutricional, pero se ha descrito un aumento de la frecuencia de obesidad en pacientes con EC, probablemente en relación con el incremento de la ingesta de alimentos procesados en detrimento de alimentos frescos, lo que implica la necesidad de seguimiento estrecho en este aspecto (87, 88). También se ha descrito una relación inversa entre la ingesta de gluten y el riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2, que podría explicarse con la hipótesis de que la restricción de gluten se asocia a una menor ingesta de fibra y posiblemente de otros nutrientes beneficiosos (89). Por otra parte, diversos estudios concluyen que la DSG no es capaz de restaurar la disbiosis de la microbiota que se produce en la EC, sobre todo en cuanto a *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y en ocasiones puede empeorarla (90).

Si no se produce una adecuada respuesta clínica tras la retirada del gluten de la dieta en pacientes sintomáticos, después de una cuidadosa evaluación para asegurar el adecuado cumplimiento, deben realizarse más estudios, entre los que puede incluirse la toma de biopsias intestinales (22).

Se encuentran en desarrollo varios tratamientos alternativos para la EC, basados en hallazgos moleculares implicados en la patogénesis de la enfermedad, pero todos ellos están todavía en fase de investigación. Así, se plantean como estrategias terapéuticas, entre otras, la modificación del gluten para evitar su inmunogenicidad, el enmascaramiento de la capacidad antigénica del gluten, la fijación del gluten con poliméricos, la hidrólisis de péptidos tóxicos de la gliadina, la prevención de la absorción de dichos péptidos, el bloqueo de la presentación de antígeno, el bloqueo de la activación de los linfocitos *natural killer*, la interferencia en la unión entre HLA-DQ y los linfocitos T, la interrupción de la activación de la cascada proinflamatoria, la inducción de tolerancia, la restauración de la mucosa intestinal, etc. (91).

1.13. Epidemiología

Dada la heterogeneidad en la forma de presentación de la EC, estimar su verdadera prevalencia no es fácil. La sensibilidad creciente que muchos profesionales sanitarios tienen hacia la misma y el conocimiento de los pacientes en riesgo de padecer la enfermedad a pesar de la ausencia de síntomas ha provocado un claro aumento en el número de diagnósticos en los últimos años.

La enfermedad celiaca está ampliamente distribuida, aspecto esperable, pues los factores causales (la predisposición genética ligada al HLA y el consumo de gluten) tienen una distribución mundial, aunque con variaciones geográficas.

Existen múltiples estudios epidemiológicos que describen la prevalencia de EC en diferentes países y regiones del mundo. En una revisión sistemática y meta-análisis publicado recientemente, se describe una prevalencia a nivel europeo del 0.8%; a nivel mundial es del 1.4% basada en resultados de estudios serológicos y del 0.7% basada en hallazgos anatomopatológicos. Es mayor en mujeres que en hombres (60% vs. 40%) (92).

Según un estudio reciente llevado a cabo en la comunidad autónoma de Valencia, la prevalencia de EC en la población mediterránea se sitúa en torno al 0.26% y es mayor en mujeres que en hombres (2.31:1). Entre los familiares de primer grado de pacientes con EC, la prevalencia asciende al 7.06% (93). En un estudio anterior llevado a cabo en Bizkaia, la prevalencia se fija en el 0.85% de los niños menores de 3 años (94).

Es cierto que se necesitan más estudios en poblaciones concretas, definidas clásicamente como “áreas libres de gluten”, por ejemplo el África Subsahariana, para determinar la prevalencia a nivel mundial, que se estima en torno al 1% (95).

2. JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad celiaca ha sido considerada de forma habitual como una de las enfermedades digestivas con mayor repercusión en el estado nutricional de los pacientes al diagnóstico, principalmente en su forma de presentación clásica, con todo el cortejo de síntomas digestivos que la caracteriza. De hecho, uno de los síntomas guía en la edad pediátrica es la falta de ganancia de peso o curva de peso plana. Sin embargo, en los últimos años, la aparición de nuevas maneras de presentación de la EC nos ha llevado a descubrir otras formas de apariencia nutricional de esta enfermedad, pues es una realidad que cada vez con más frecuencia se diagnostican pacientes en los que la enfermedad no ha tenido ninguna repercusión en su estado nutricional o ésta ha sido mínima.

Por otro lado, es esperable que con la implantación de la dieta sin gluten, de forma paralela a la evolución de la clínica y de la serología, el perfil nutricional de los pacientes y el perfil inflamatorio de la enfermedad, sea cual sea al inicio, presente una mejoría progresiva.

Cabe preguntarse si los perfiles inflamatorios y nutricionales encontrados en los distintos pacientes al diagnóstico y sus variaciones a lo largo del tiempo una vez el tratamiento está establecido, están condicionados o pueden estar influidos por la genética propia de la EC, el nivel de IgA anti-tTG y los hallazgos anatomopatológicos presentes al diagnóstico.

3. HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

1. Los pacientes con síntomas clásicos de enfermedad celiaca, los portadores de HLA DQ2 en homocigosis y los que presentan niveles de IgA anti-tTG 10 veces por encima del valor de corte al diagnóstico tendrán, en comparación con aquéllos con síntomas no clásicos, con los no portadores de HLA DQ2 en homocigosis y con los que presentan niveles menores de IgA anti-tTG, respectivamente:

- Menor edad al diagnóstico.
- Mayor afectación nutricional al diagnóstico (mayor afectación antropométrica, peor perfil bioquímico nutricional).
- Mayores niveles de CK proinflamatorias al diagnóstico.
- Mayor afectación anatomopatológica en la biopsia diagnóstica.
- Mayor porcentaje de linfocitos intraepiteliales al diagnóstico.
- Una recuperación más lenta de los valores antropométricos y del perfil bioquímico nutricional tras la implantación de la dieta sin gluten.
- Una negativización más tardía de la serología de la enfermedad tras la implantación de la DSG.
- Una disminución más lenta de los valores de las CK proinflamatorias tras la implantación de la DSG.

2. Los pacientes con síntomas clásicos de enfermedad celiaca tendrán, en comparación con aquéllos con síntomas no clásicos:

- Mayores niveles de IgA anti-tTG al diagnóstico.
- Un genotipo HLA característico.

3. Los pacientes portadores de HLA DQ2 en homocigosis tendrán, en comparación con los no portadores:

- Una presentación clásica de la EC con más frecuencia.
- Mayores niveles de IgA anti-tTG al diagnóstico.

4. Los pacientes con niveles de IgA anti-tTG 10 veces por encima del valor de corte al diagnóstico tendrán, en comparación con aquéllos que tengan niveles menores:

- Una presentación clásica de la EC con más frecuencia.
- Un genotipo HLA característico.

4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal

Analizar el perfil clínico, genético, inflamatorio y nutricional en los pacientes con enfermedad celiaca en el momento del diagnóstico y durante su evolución a lo largo del primer año tras la implantación de la dieta sin gluten.

4.2. Objetivos secundarios

- Correlacionar las formas de presentación clínica de la enfermedad celiaca con el perfil genético, inflamatorio y nutricional de la enfermedad.

- Analizar la relación entre el HLA de clase II determinado en el estudio genético realizado en el momento del diagnóstico con el perfil inflamatorio y nutricional de los pacientes con enfermedad celiaca.

- Estudiar la correlación entre los niveles de antitransglutaminasa tisular presentes al diagnóstico en los pacientes con enfermedad celiaca con el perfil clínico, genético, inflamatorio y nutricional de la enfermedad.

- Correlacionar la distribución porcentual de los distintos subtipos de linfocitos intraepiteliales y la severidad de las lesiones anatomopatológicas presentes en la biopsia diagnóstica con el perfil clínico, genético, inflamatorio y nutricional de la enfermedad celiaca.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Población estudiada

Realizamos un estudio observacional prospectivo de la población pediátrica (niños menores de 16 años) diagnosticados de enfermedad celiaca según los criterios vigentes de la ESPGHAN en la consulta de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del servicio de Pediatría del Complejo Hospitalario de Navarra, desde el 1 de enero de 2009 al 30 de junio de 2014.

5.2. Diagnóstico de enfermedad celiaca

El diagnóstico de enfermedad celiaca se estableció en función de los criterios de la ESPGHAN vigentes en el momento de la valoración.

Para los niños diagnosticados entre enero de 2009 y diciembre de 2011 se utilizaron los criterios publicados en 1990, según los cuales podía hacerse el diagnóstico de EC en niños sintomáticos si tenían una biopsia con hallazgos compatibles y se constataba una respuesta clínica favorable tras la implantación de la dieta sin gluten. En niños menores de 2 años y cuando existían dudas diagnósticas, se precisaba la realización de tres biopsias: al diagnóstico, dos años después del inicio del tratamiento y tras reintroducir el gluten en la dieta. En pacientes asintomáticos, se requería una segunda biopsia tras la implantación de la DSG para comprobar la recuperación histológica. Según este documento, los hallazgos serológicos no formaban parte de los criterios diagnósticos.

Los niños atendidos en consulta entre enero de 2012 y junio de 2014 fueron diagnosticados según los criterios publicados en 2012, que permitían realizar el diagnóstico de EC en niños con síntomas sugestivos si el valor de anti-tTG es más de 10 veces mayor que el valor establecido como normal, tienen EMA positivos y portan HLA-DQ2 o DQ8, sin necesidad de realizar una biopsia intestinal.

5.3. Variables

Se analizaron parámetros al diagnóstico y durante el primer año tras la instauración de la dieta sin gluten.

5.3.1. Variables al diagnóstico

- Variables de identificación.
- Sexo.
- Fecha de diagnóstico.
- Edad al diagnóstico en meses.

- Variables antropométricas: SDS de peso, talla e índice de masa corporal (IMC), según el Estudio Transversal Español de Crecimiento del año 2008 (96); índice nutricional (IN) según Shukla.

- Forma de presentación clínica: se registró si los pacientes presentaban una clínica clásica (pérdida de peso o estancamiento ponderal, diarrea crónica, estreñimiento crónico, dolor abdominal, náuseas, vómitos, distensión abdominal), presentaban síntomas atípicos (talla baja, pubertad retrasada, anemia, irritabilidad, fatiga crónica, amenorrea, hipertransaminasemia...) o estaban asintomáticos.

De acuerdo con las últimas publicaciones de la ESPGHAN (1), se clasificó a los pacientes en dos grupos: aquéllos que presentaban síntomas clásicos por un lado y aquéllos con clínica no clásica por otro, incluyendo en este último grupo los pacientes con síntomas atípicos y los asintomáticos.

- HLA clase II: se determinó si los pacientes presentaban fenotipo DQ2 homocigoto o DQ2 no homocigoto.

- Serología de EC: anticuerpos antigliadina (AGA) (unidades arbitrarias/mL) (unid arbit/mL) o IgA antipéptido deaminado de la gliadina (IgA anti-DGP) (unid arbit/mL), anticuerpos antiendomiso (EMA), anticuerpos antitransglutaminasa tisular (anti-tTG) (kiloUnidades/L) (kU/L) (unid arbit/mL).

- Parámetros bioquímicos: colesterol (mg/dL), triglicéridos (TG) (mg/dL), albúmina (Alb) (g/dL), hierro (Fe) (mcg/dL), transferrina (Tf) (mg/dL), zinc (Zn) (mcg/dL), IL-6 (pg/mL), prealbúmina (preAlb) (mg/dL), inmunoglobulina A (IgA) (mg/dL), factor de crecimiento insulinoide-1 (IGF-1) (mcg/L), cobalamina (ng/L), folato (mcg/L), leptina (mcg/L), calcidiol o vitamina D (ng/mL), alfa-tocoferol o vitamina E (mg/dL).

- En un subgrupo de pacientes, escogidos de forma aleatoria, se determinaron también al diagnóstico los valores de IL-4 (pg/mL), IL-8 (pg/mL), IL-1 β (pg/mL) y Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α) (pg/mL).

- Número y subpoblaciones de linfocitos intraepiteliales (si se realizó biopsia diagnóstica): porcentaje de linfocitos intraepiteliales y de linfocitos CD3+, CD3-, CD103, TCR $\gamma\delta$ y CD45.

- Lesión histopatológica según la clasificación de Marsh-Oberhuber.

5.3.2. Variables en el seguimiento

A los 3, 6 y 12 meses tras la implantación de la DSG se recogieron las siguientes variables:

- Variables antropométricas: SDS de peso, talla e índice de masa corporal (IMC), según el Estudio Transversal Español de Crecimiento del año 2008 (96); índice nutricional (IN) según Shukla.

- Serología de EC: anticuerpos antigliadina (AGA) (unid arbit/mL) o IgA antipéptido deaminado de la gliadina (IgA anti-DGP) (unid arbit/mL), anticuerpos antiendomiso (EMA), anticuerpos antitransglutaminasa tisular (anti-tTG) (kU/L) (unid arbit/mL).

- Parámetros bioquímicos: colesterol (mg/dL), triglicéridos (TG) (mg/dL), albúmina (Alb) (g/dL), hierro (Fe) (mcg/dL), transferrina (Tf) (mg/dL), zinc (Zn) (mcg/dL), IL-6 (pg/mL), prealbúmina (preAlb) (mg/dL), inmunoglobulina A (IgA) (mg/dL), factor de crecimiento insulinoide-1 (IGF-1) (mcg/L), cobalamina (ng/L), folato (mcg/L), leptina (mcg/L), calcidiol o vitamina D (ng/mL), alfa-tocoferol o vitamina E (mg/dL).

- Al igual que en el diagnóstico, en el mismo subgrupo de pacientes escogidos de forma aleatoria: IL-4 (pg/mL), IL-8 (pg/mL), IL-1 β (pg/mL) y TNF- α (pg/mL).

5.4. Métodos

5.4.1. Serología

En primer lugar, antes de analizar cada uno de los anticuerpos propios de la enfermedad celiaca, se determina la IgA total mediante turbidimetría en el equipo Architect 16000 de Abbott.

Entre los años 2009 y 2013, se determinaba la IgA antigliadina mediante ELISA, procesada en el equipo DSX de Palex. Por encima de 10 unid arbit/mL se consideraba positiva. A partir de 2014, comenzó a determinarse la IgA anti-DGP (antipéptidos deaminados de la gliadina), mediante una técnica ELISA procesada en el equipo Quantalyser 160 (Werfen). Se considera positiva a partir de 20 unid arbit/mL.

Los EMA se determinan mediante inmunofluorescencia indirecta y los portas se procesan en el equipo Quantalyser 160 (Werfen). El resultado se considera positivo cuando la dilución es 1/5 o mayor.

Hasta marzo de 2014, se determinaban los anti-tTG totales (IgA e IgG); posteriormente a esa fecha, sólo la IgA. La IgA anti-tTG se determina con un ELISA procesado en el equipo Quantalyser 160 (Werfen) y la IgG anti-tTG, mediante un ELISA monotest que se procesa en el equipo Alegria (Palex). La determinación de ambos tipos de inmunoglobulinas se midió en kU/L hasta 2012, considerándose positivas a partir de 10; desde el año 2013 y hasta marzo de 2014, se expresaban en unid arbit/mL, siendo positivo el valor por encima de 20. Desde marzo de 2014, la IgA aislada se considera positiva si es mayor de 4 U/mL.

En cada serie, se utiliza un control interno suministrado por el fabricante de reactivos y un control externo bimensual de la empresa UK NEQAS para Inmunología.

5.4.2. Biopsia

El método de recogida de las muestras en los pacientes que precisaban de la realización de biopsia para confirmar el diagnóstico de enfermedad celiaca fue la esofagogastroduodenoscopia con biopsia duodenal cerrada.

En las muestras obtenidas se llevaron a cabo dos estudios:

- Una citometría de flujo para valorar el número de linfocitos intraepiteliales, expresado en porcentaje de LIEs, y el inmunofenotipo de dichos LIEs, es decir, las subpoblaciones de los mismos (CD3+, CD3-, CD103, TCR $\gamma\delta$, CD45).
- Un estudio anatomopatológico que permitió clasificar los hallazgos según los criterios de Marsh-Oberhuber.

5.4.3. HLA

Por cambios en la metodología del estudio del HLA de clase II en el laboratorio de Genética de nuestro hospital, en todos los pacientes de la muestra diagnosticados en 2009 y en 2013-2014, se estudiaron ambos alelos, plasmándose las características de ambos, mientras que en los pacientes diagnosticados entre 2010 y 2012 sólo se aportó el fenotipo a través del análisis de uno o los dos alelos. Para los análisis estadísticos realizados con el tipaje del HLA, se ha considerado sólo a los pacientes que tienen datos de ambos alelos.

Para dicho análisis estadístico, los resultados del estudio del HLA se clasificaron en los siguientes genotipos:

- DQ2 en homocigosis (DR3/DR3, es decir, DQA1*05:01 DQB1*02:01/DQA1*05:01 DQB1*02:01 o DR3/DR7, es decir, DQA1*05:01 DQB1*02:01/DQA1*02:01 DQB1*02:02).
- DQ2 en heterocigosis (DR3/DRX, es decir, DQA1*05:01 DQB1*02:01/X, siendo X diferente a DR3, DR4, DR5 y DR7).
- DQ2 trans (DR5/DR7, es decir, DQA1*05:05 DQB1*03:01/DQA1*02:01 DQB1*02:02).
- Medio DQ2 (DR7/X, es decir, DQA1*02:01 DQB1*02:02/X).
- DQ8 (DR4/DR4, es decir, DQA1*03:01 DQB1*03:02/DQA1*03:01 DQB1*03:02 o DR4/X, es decir, DQA1*03:01 DQB1*03:02/X).
- DQ2/DQ8 (DR3/DR4, es decir, DQA1*05:01 DQB1*02:01/DQA1*03:01 DQB1*03:02 o DR4/DR7, es decir, DQA1*03:01 DQB1*03:02/ DQA1*02:01 DQB1*02:02).

La tecnología utilizada para el estudio del HLA es la PCR-SSO de la casa comercial Immucor, que emplea oligonucleótidos con especificidad de secuencia (SSO) para determinar qué alelos HLA están presentes en una muestra de ADN amplificada por PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

5.4.4. Análisis estadístico

Se realizaron los siguientes análisis estadísticos:

1. Análisis descriptivo de las variables estudiadas.

Se presentan los datos en forma de frecuencias y porcentaje para las variables cualitativas y en forma de media, desviación típica y valores mínimo y máximo para las variables cuantitativas, añadiendo los valores de la mediana y el rango intercuartil en el caso de los parámetros bioquímicos nutricionales al diagnóstico.

2. Análisis evolutivo.

Para estudiar la evolución de los indicadores en el tiempo se ajustaron modelos mixtos lineales para variables cuantitativas y modelos mixtos generalizados para las variables binarias. Se introdujo como efecto fijo la variable mes en forma categórica (3, 6 y 12 meses tras el diagnóstico de la enfermedad celiaca) e individuo como efecto aleatorio.

3. Análisis asociativo.

Para contrastar las diversas hipótesis planteadas se realizaron estudios asociativos entre las variables implicadas, realizando test de Chi-cuadrado para valorar la asociación entre variables cualitativas y t de Student en el caso de la asociación de variables cualitativas con variables cuantitativas. De este modo, se compararon la edad, variables antropométricas, parámetros bioquímicos nutricionales, parámetros serológicos, citokinas proinflamatorias y variables anatomopatológicas entre grupos de pacientes con clínica clásica y no clásica, pacientes DQ2 homocigotos y aquéllos que no portaban DQ2 en homocigosis y pacientes con IgA anti-tTG por encima y por debajo de 10 veces el valor de corte establecido.

Mediante un modelo general lineal univariante se estudiaron las diferencias en la variación en el tiempo de los diferentes parámetros estudiados en los distintos grupos de pacientes conformados según cada una de las hipótesis. Se consideraron los datos al diagnóstico y a los 12 meses para la antropometría y los parámetros bioquímicos y al diagnóstico y a los 6 meses para las interleukinas.

4. Estudio de conglomerados.

Con el objetivo de estudiar la presencia de subgrupos de pacientes con características similares en el momento del debut se hizo un análisis de conglomerados o clúster de k-medias. Se consideraron dos, tres y cuatro grupos y en el agrupamiento se incluyeron las variables edad, z score de peso, z score de IMC, IgA anti-tTG, Hierro, Zinc, Folato e IL-6.

Posteriormente, teniendo en cuenta las variables cualitativas más destacadas en el análisis asociativo realizado con anterioridad, se llevó a cabo un estudio de la distribución de las variables cualitativas más significativas en los dos grupos definidos en el análisis en dos clústers, realizando para ello test de Chi-cuadrado.

Los análisis estadísticos se realizaron con los programas IBM SPSS 20.0 y R software v.3.4.3. Se tuvo en cuenta un intervalo de confianza del 95% y un nivel de significación

estadística del 5%. Las diversas hipótesis contrastadas se consideraron significativas cuando el p-valor fue menor de 0.05.

6. RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. RESULTADOS DESCRIPTIVOS AL DIAGNÓSTICO

6.1.1. Muestra

Se incluyen en el estudio 258 niños (pacientes menores de 16 años) diagnosticados de enfermedad celiaca en la consulta de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del servicio de Pediatría del Complejo Hospitalario de Navarra desde el 1 de enero de 2009 al 30 de junio de 2014.

6.1.2. Sexo

Conforman la muestra 106 varones (41.1%) y 152 mujeres (58.9%).

6.1.3. Edad al diagnóstico

La edad media al diagnóstico fue 63 meses (5 años y 3 meses), siendo la edad mínima 9 meses y la edad máxima 184 meses (15 años y 4 meses).

Los pacientes de 24 meses o menos constituyen el 26.4% de la muestra, mientras que los mayores de 24 meses son el 73.6%. Entre estos últimos, el 26% tenía entre 25 y 48 meses de edad al diagnóstico, el 15.1% entre 49 y 72 meses, el 7% entre 73 y 96 meses, el 7% entre 97 y 120 meses, el 11.6% entre 121 y 144 meses, el 4.2% entre 145 y 168 meses y el 2.7% entre 169 y 184 meses.

La distribución de los pacientes de la muestra en función de la edad al diagnóstico se muestra en la Figura 4.

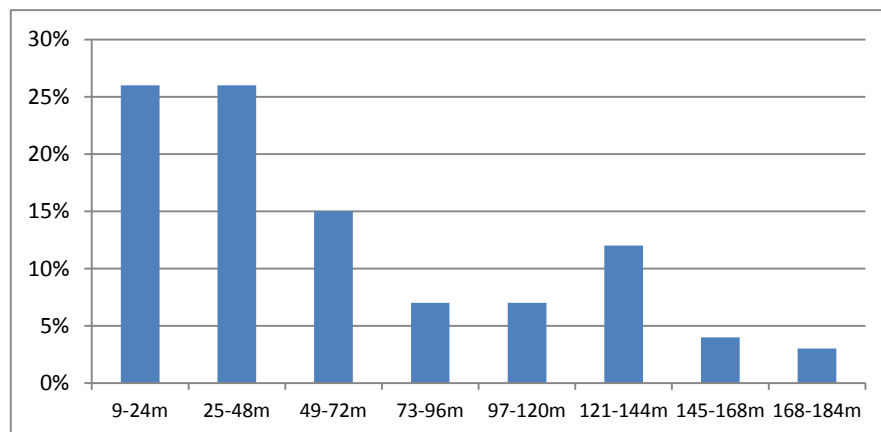


Figura 4. Distribución de los pacientes de la muestra en función de la edad al diagnóstico.

m: meses

6.1.4. Presentación clínica

Los pacientes con clínica clásica (síntomas digestivos incluyendo la distensión abdominal, estancamiento ponderal y ponderoestatural) son el 55.3% de la muestra. Los pacientes con clínica no clásica (síntomas diferentes a los digestivos y al estancamiento ponderal y ponderoestatural y pacientes asintomáticos) suponen el 44.7%.

6.1.5. Grupos de riesgo

El 24% de los pacientes pertenecía a algún grupo de riesgo asociado a la enfermedad. En concreto, el 11.2% eran familiares de primer grado de pacientes con enfermedad celiaca, el 7% presentaban talla baja, el 3.1%, déficit de IgA, el 1.9%, DM-1 y el 0.8% pertenecían a otros grupos de riesgo (enfermedad tiroidea autoinmune y hepatitis autoinmune). Estos datos quedan representados en la Figura 5.

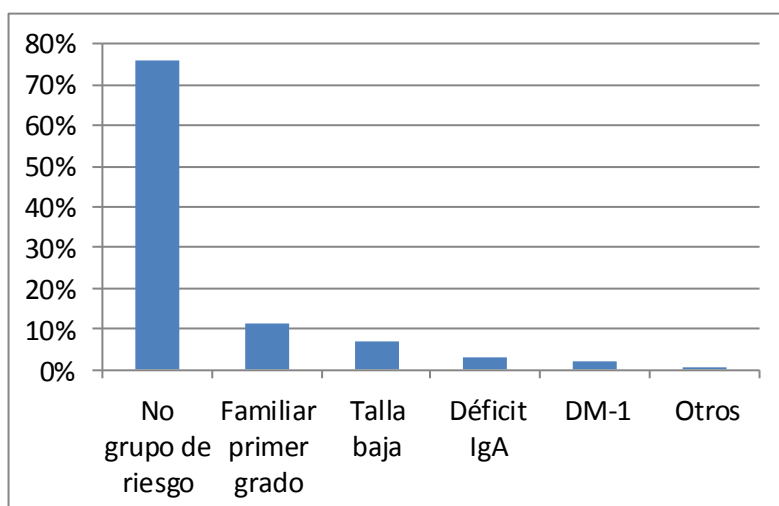


Figura 5. Porcentajes de pacientes según grupos de riesgo.

DM-1: Diabetes Mellitus tipo 1.

6.1.6. Antropometría al diagnóstico

Se recogió al diagnóstico el peso, la talla, el IMC (cuyos datos se registraron en Z score) y el índice nutricional (IN) según Shukla.

La media, la desviación típica, los valores mínimo y máximo de cada parámetro y el porcentaje de pacientes que presentaban valores por encima (Pac. > valor normal) y por debajo (Pac. < valor normal) de la normalidad se expresan en la Tabla 2. Se consideran valores dentro de rango para el peso, la talla y el IMC los situados entre -2 y +2 SDS y para el IN, entre el 75 y el 120%.

El parámetro más afectado en el momento del diagnóstico de forma global es el peso, con una media de z score de -0.83, presentando la talla una menor afectación, con una media

de z score de -0.52. El 7% de los pacientes presentaron al diagnóstico un z score de peso por debajo de la normalidad, el 7%, un z score de talla menor de -2 SDS, el 7%, un IMC por debajo de valores normales y el 5.8%, un IN <75%.

Tabla 2. Datos antropométricos al diagnóstico.

	Media	Desviación típica	Valor mínimo	Valor máximo	Pac. < valor normal	Pac. > valor normal
Z score peso	-0.83	0.86	-2.79	2.13	7%	0.4%
Z score talla	-0.52	1.04	-3.16	2.39	7%	2%
Z score IMC	-0.75	0.89	-2.89	3.02	7%	0.4%
IN (Shukla)	89.69	11.35	59.80	146.30	5.8%	2.3%

IMC: Índice de Masa Corporal. IN: Índice Nutricional. Pac. < valor normal: pacientes por debajo del valor normal (peso, talla e IMC <-2 SDS, IN <75%). Pac. > valor normal: pacientes por encima del valor normal (peso, talla e IMC >2 SDS, IN >120%).

6.1.7. Serología al diagnóstico

En la analítica inicial de cada paciente se determinaron la IgA anti gliadina (AGA), la IgA anti endomisio (EMA) y la IgA anti transglutaminasa tisular (IgA anti-tTG). En caso de déficit de IgA, se determinaron las IgG.

El porcentaje de pacientes positivos y negativos al diagnóstico para cada uno de los anticuerpos se refleja en la Tabla 3. La gran mayoría de pacientes presentaron IgA anti-tTG y EMA positivos al diagnóstico, siendo el porcentaje de positividad de estos anticuerpos del 98% en ambos casos. La positividad de los AGA fue menor, del 81%.

Tabla 3. Serología al diagnóstico.

	Positiva	Negativa
AGA (n=182)	81%	19%
EMA (n=244)	98%	2%
IgA anti-tTG (n=258)	98%	2%

AGA: IgA anti gliadina. EMA: IgA anti endomisio. IgA anti-tTG: IgA anti transglutaminasa tisular. n: tamaño muestral.

Queremos explicar en este punto que el protocolo de determinación de la serología de enfermedad celiaca en nuestro hospital no incluye la determinación de los AGA en pacientes mayores de 5 años de forma rutinaria, por lo que hay pacientes en nuestra base en

los que no disponemos de dicho dato, tal y como se refleja en la Tabla 3 (disponemos del dato de AGA al diagnóstico en 182 pacientes de los 258 que conforman la base de datos).

Analizando los pacientes con anticuerpos negativos en el momento del diagnóstico, observamos que 35 pacientes presentaban AGA negativos, de los cuales sólo uno de ellos presentó también tanto EMA como IgA anti-tTG negativos (se trataba de un lactante de 9 meses de edad con clínica clásica de intensidad severa, por lo que se llevó a cabo una biopsia duodenal, que mostró hallazgos anatomopatológicos compatibles con un grado 3c de Marsh; en el control analítico solicitado 3 meses después de la realización de la biopsia duodenal, se objetivaron IgA anti-tTG positivos); otro paciente presentó IgA anti-tTG negativos, pero EMA positivos; el resto de pacientes con AGA negativos fueron positivos para IgA anti-tTG y EMA. Estos datos se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Positividad y negatividad de EMA e IgA anti-tTG en pacientes AGA negativos al diagnóstico.

PACIENTES AGA NEGATIVOS (n=35)	EMA (+)	EMA (-)
IgA anti-tTG (+)	33	0
IgA anti-tTG (-)	1	1

AGA: IgA antigliadina. EMA: IgA antiendomiso. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. n: tamaño muestral.

Cinco pacientes presentaron al diagnóstico anticuerpos antiendomiso negativos. De ellos, un paciente, ya comentado en el párrafo anterior, tenía además AGA e IgA anti-tTG negativos; otro paciente presentaba IgA anti-tTG negativos y en la analítica solicitada no se habían determinado los AGA (en este paciente, mayor de 5 años de edad y con clínica clásica clara de larga evolución, se solicitó tras la valoración en consulta especializada el estudio histopatológico, que fue compatible con un grado 3c de Marsh); dos pacientes presentaron IgA anti-tTG negativos, pero AGA positivos; otro paciente en el que no se habían determinado los AGA fue positivo para IgA anti-tTG. Estos datos se reflejan en la Tabla 5.

Tabla 5. Positividad y negatividad de AGA e IgA anti-tTG en pacientes EMA negativos al diagnóstico.

PACIENTES EMA NEGATIVOS (n=5)	AGA (+)	AGA (-)	AGA no realizado
IgA anti-tTG (+)	0	0	1
IgA anti-tTG (-)	2	1	1

AGA: IgA antigliadina. EMA: IgA antiendomiso. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. n: tamaño muestral.

Por último, otros 5 pacientes presentaron al diagnóstico IgA anti-tTG negativos. Uno de ellos, ya explicado, fue también negativo para AGA y EMA; otro, también comentado anteriormente, presentaba EMA negativos y una analítica en la que no se habían determinado los AGA; otro paciente fue negativo para los AGA, pero positivo para los EMA; por último, dos pacientes presentaron EMA negativos, pero AGA positivos. La Tabla 6 resume estos datos.

Tabla 6. Positividad y negatividad de AGA y EMA en pacientes IgA anti-tTG negativos al diagnóstico.

PACIENTES IgA anti-tTG NEGATIVOS (n=5)	AGA (+)	AGA (-)	AGA no realizado
EMA (+)	0	1	0
EMA (-)	2	1	1

AGA: IgA antigliadina. EMA: IgA antiendomiso. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. n: tamaño muestral.

Dadas las características ya descritas de cada uno de los anticuerpos utilizados en el diagnóstico de la enfermedad, planteamos en este punto si el porcentaje de pacientes con anticuerpos antigliadina, antiendomiso y antitransglutaminasa tisular positivos variaba con la edad, con la limitación ya comentada de no disponer en el caso de los AGA de datos en muchos de los pacientes mayores de 5 años de edad al diagnóstico, en los que no se determinan de manera rutinaria por su baja sensibilidad y especificidad en comparación con los IgA anti-tTG y los EMA. Valoramos por un lado a los pacientes con edad igual o inferior a 5 años y por otro a los pacientes con edad superior. Objetivamos que, considerándolos de forma individual, la rentabilidad diagnóstica que presentan los EMA y los IgA anti-tTG es igual en todos los grupos de edad (positivos en el 98% de los pacientes) y superior a la que presentan los AGA (positivos en el 81% de los pacientes), siendo en este caso superior el porcentaje de pacientes con AGA positivos en el grupo de edad inferior (87% en niños con 5 años o menos, 61% en niños mayores de 5 años). La diferencia de positividad de los AGA en los dos grupos de edad es estadísticamente significativa (p -valor <0.001).

Si se combinan los anticuerpos dos a dos y consideramos a los pacientes que tienen al menos uno de los dos anticuerpos positivos, observamos que el mayor porcentaje de positividad se obtiene con las combinaciones que incluyen los AGA en los pacientes con 5 años de edad o menos (99.3% de positividad en las combinaciones AGA+EMA y AGA+IgA anti-tTG vs. 97.9% en la combinación EMA+IgA anti-tTG), mientras que en los mayores de 5 años se obtiene un 100% de positividad en la combinación AGA+EMA, un 99% si se solicita EMA+IgA anti-tTG y un 97.2% en el caso de AGA+IgA anti-tTG.

Por último, la combinación de los tres anticuerpos en el estudio diagnóstico no aporta beneficio en comparación con la determinación de AGA+EMA o AGA+IgA anti-tTG en los pacientes con 5 años de edad o menos, pero permite obtener una positividad del 100% en los pacientes mayores de 5 años. Los resultados descritos se resumen en la Tabla 7 y la Figura 6.

Tabla 7. Porcentajes de pacientes con anticuerpos positivos al diagnóstico.

Anticuerpos evaluados	Todos los pacientes (n=258)	Pacientes ≤5 años (n=147)	Pacientes >5 años (n=111)
AGA	80.8% (n=182)	87% (n=146)	61.1% (n=36)
EMA	98% (n=244)	97.9% (n=140)	98.1% (n=104)
IgA anti-tTG	98.1% (n=258)	98% (n=147)	98.2% (n=111)
AGA + EMA	99.4% (n=175)	99.3% (n=139)	100% (n=36)
AGA + IgA anti-tTG	98.9% (n=182)	99.3% (n=146)	97.2% (n=36)
EMA + IgA anti-tTG	98.4% (n=244)	97.9% (n=140)	99% (n=104)
AGA + EMA + IgA anti-tTG	99.4% (n=174)	99.3% (n=138)	100% (n=36)

AGA: IgA antigliadina. EMA: IgA antiendomiso. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. n: tamaño muestral.

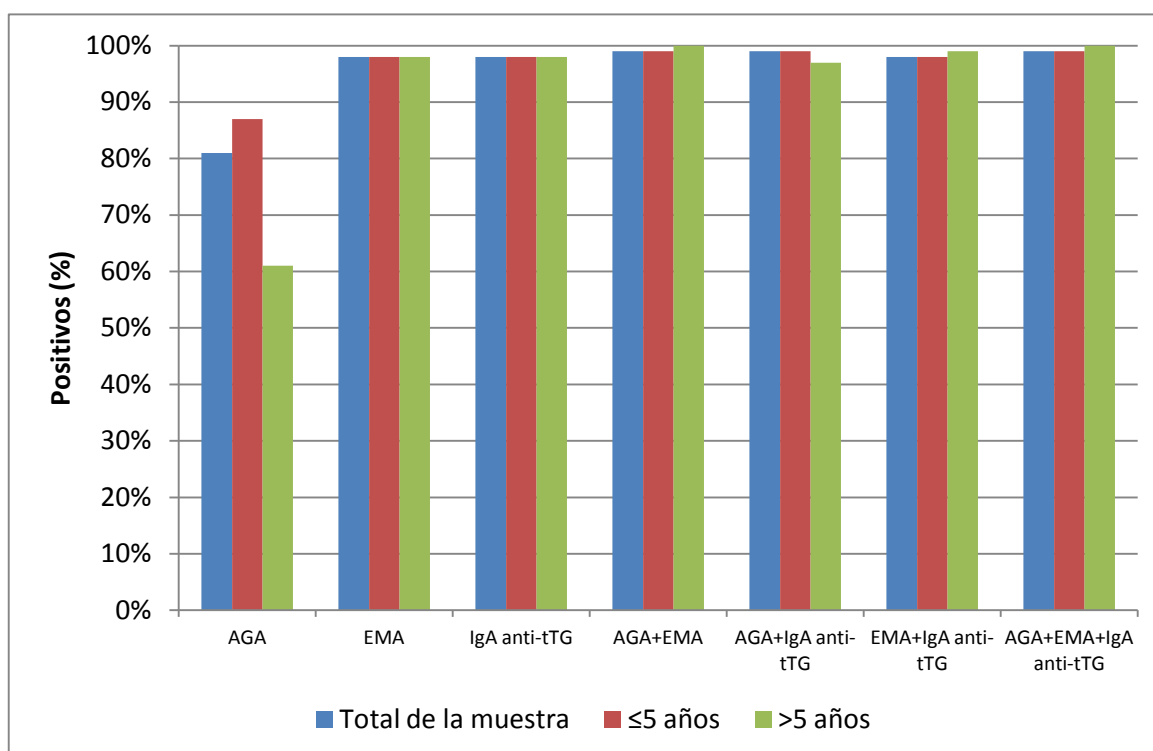


Figura 6. Porcentajes de pacientes con anticuerpos positivos al diagnóstico.

AGA: IgA antigliadina. EMA: IgA antiendomiso. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular.

6.1.8. Parámetros bioquímicos nutricionales al diagnóstico

En la analítica inicial de cada paciente, se determinaron los siguientes parámetros: colesterol, triglicéridos (TG), albúmina (Alb), hierro (Fe), transferrina (Tf), zinc (Zn), prealbúmina (preAlb), inmunoglobulina A total (IgA), factor de crecimiento insulinoide-1 (IGF-1), cobalamina, folato, leptina, calcidiol y vitamina E.

En la Tabla 8 se muestran, junto con los valores de normalidad (N) de cada parámetro según los valores de referencia de nuestro laboratorio, la media (X), la desviación típica (Desv. típica), la mediana, el rango intercuartil (RIC) y los valores mínimo (V. mín) y máximo (V. máx) de cada parámetro. Además, se indica el porcentaje de pacientes que presentaban valores por encima (Pac. > valor normal) y por debajo (Pac. < valor normal) de los de referencia.

Destacan en relación a este último punto que el 51% de los pacientes presentaba cifras de hierro por debajo de valores normales, en el 9.6% de ellos acompañados de valores elevados de transferrina, y que en el 53.4% de los pacientes se objetivó la presencia de cifras disminuidas de zinc. En el 85.1% de los pacientes observamos niveles de leptina por debajo de la normalidad. Sólo el 7.2% de los pacientes presentó hipocolesterolemia al diagnóstico de la enfermedad y en el 10.6% de los pacientes se detectaron niveles elevados de triglicéridos (hay que remarcar que el valor mínimo de referencia para los TG en nuestro laboratorio es 0, por lo que no identificamos a ningún paciente con cifras bajas de TG). El 4.8% de los pacientes presentó déficit de folato, el 10.5%, hipovitaminosis D y únicamente el 1.1%, niveles bajos de vitamina E. En ningún paciente se detectó hipoalbuminemia ni déficit de cobalamina. Dado que el valor mínimo de referencia en nuestro laboratorio para IGF-1 es 0, no aparece identificado ningún paciente de la muestra con cifras disminuidas de este parámetro.

Tabla 8. Parámetros bioquímicos nutricionales al diagnóstico.

	N	X	Desv. típica	Mediana	RIC	V. mín	V. máx	Pac. < valor normal	Pac. > valor normal
Colesterol (mg/dL)	110-200	153.69	30.04	153	134 - 173	90	242	7.2%	6.4%
TG (mg/dL)	0 - 150	88.23	53.14	73.5	51 - 112.5	20	305	0%	10.6%
Alb (g/dL)	2.8 - 5	4.76	3.07	4.6	4.3 - 4.8	3.2	48	0%	5.4%
Fe (mcg/dL)	50 - 170	63.20	37.22	58	34 - 86	8	325	51%	0.4%
Tf (mg/dL)	180-382	294.29	59.46	291	260 - 328	34.9	458	3.3%	9.6%

Zn (mcg/dL)	60 - 150	66.25	15.73	64	54.5 - 75	33	117	53.4%	0%
preAlb (mg/dL)	10 - 28	17.77	6.22	17.6	15.2 - 19.6	1.85	88	2.1%	0.5%
IgA (mg/dL)	21 - 282	135.3	73.73	123.5	81.45 - 180.25	2	517	2.8%	4.4%
IGF-1 (mcg/L)	0 - 272	102.7	99.84	70.5	39.95 - 123.5	12.6	540	0%	6.9%
Cobalamina (ng/L)	187 - 883	598.88	243.94	554.5	414.75 - 723.5	252	2000	0%	17.4%
Folato (mcg/L)	3.1 - 20.5	10.11	6.03	8.32	5.55 - 13.2	0.71	24	4.8%	7.5%
Leptina (mcg/L)	2.1 - 28	2.08	3.26	1.15	1 - 1.6	0.80	30.3	85.1%	0.5%
Calcidiol (ng/mL)	20 - 60	32.93	20.81	29	22 - 38.25	10	258	10.5%	5.2%
Vitamina E (mg/dL)	0.5 - 2	1.13	0.51	1	0.8 - 1.4	0.30	4.20	1.1%	4.2%

N: valor normal. X: media. Desv. típica: desviación típica. RIC: rango intercuartil. V. mín: valor mínimo. V. máx: valor máximo. Pac. < valor normal: porcentaje de pacientes por debajo del valor normal. Pac. > valor normal: porcentaje de pacientes por encima del valor normal. TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IgA: inmunoglobulina A total. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide-1.

6.1.9. Interleukinas al diagnóstico

En 192 pacientes se determinó el valor de la interleukina 6 (IL-6) al diagnóstico. En un subgrupo de 40 pacientes, escogidos de forma aleatoria, se determinaron también al diagnóstico los valores de IL-4, IL-8, IL-1 β y Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α).

Se muestran en la Tabla 9 los valores normales de cada uno de estos parámetros, la media, la desviación típica y los valores mínimo y máximo, así como el porcentaje de pacientes que presentaba cifras de interleukinas por encima del valor superior de la normalidad, destacando en este último punto que la gran mayoría de pacientes en los que se determinaron los valores de IL-4, IL-8 y TNF- α presentaron valores de dichas interleukinas por encima del valor normal (92.5% de los pacientes en los casos de IL-4 y TNF- α y 90% de los pacientes en cuanto a IL-8).

Tabla 9. Interleukinas al diagnóstico.

	Normal	Media	Desviación típica	Valor mínimo	Valor máximo	Pac. > valor normal
IL-6 (pg/mL) (n=192)	0-5.6	3.53	4.16	2	36.20	10.9%
IL-4 (pg/mL) (n=40)	0.1-0.5	3.92	5.09	0.27	29.71	92.5%
IL-8 (pg/mL) (n=40)	7.2-12.1	78.04	43.63	11.74	210.30	90%
IL-1β (pg/mL) (n=40)	0.8-17.7	37.79	82.05	0.25	390.08	25%
TNF-α (pg/mL) (n=40)	2.1-3.9	10.47	4.89	4.65	24.31	92.5%

Pac. > valor normal: porcentaje de pacientes por encima del valor normal. IL-6: interleukina 6. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1 β : interleukina 1 β . TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral α . n: tamaño muestral.

6.1.10. Anatomía patológica

Se realizó biopsia duodenal en 189 pacientes (el 73.3% de la muestra). Se incluyen en este grupo todos los pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca entre enero de 2009 y diciembre de 2011 (125 pacientes), siguiendo los criterios de la ESPGHAN publicados en 1990, y los diagnosticados entre enero de 2012 y junio de 2014 que, según los criterios diagnósticos publicados en 2012, precisaban de la realización de estudio anatomopatológico para llegar al diagnóstico definitivo (64 pacientes).

En el material obtenido de cada paciente, se realizó una citometría de flujo para valorar el número y subpoblaciones de linfocitos intraepiteliales y un estudio anatomopatológico que permitió clasificar los hallazgos según los criterios de Marsh-Oberhuber.

En la Tabla 10 se muestran los valores medios del porcentaje de LIEs y de sus subpoblaciones, la desviación típica, los valores mínimos y los máximos.

Tabla 10. Porcentajes de LIEs totales y sus subpoblaciones.

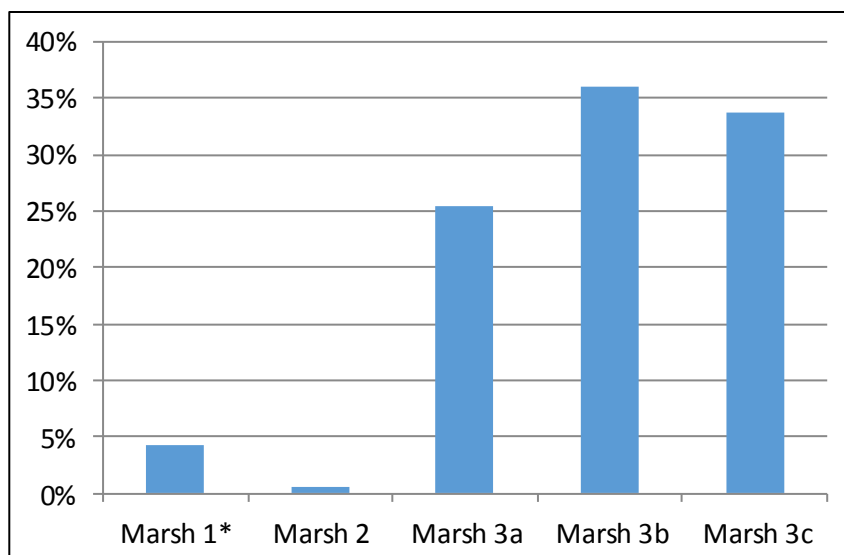
	Media	Desviación típica	Valor mínimo	Valor máximo
LIEs totales	9.35	5.95	0.20	42
CD3+	94.55	5.69	70.70	100
CD3-	5.46	5.69	0	29.30
CD103	84.15	13.64	10.40	98.80
TCR$\gamma\delta$	24.27	13.05	2.10	78.10
CD45	99.43	7.47	2.30	100

LIEs: Linfocitos Intraepiteliales.

En los datos de nuestros pacientes no destacan las biopsias en las que se objetiva un mayor porcentaje de linfocitos intraepiteliales totales, aspecto característico de la enfermedad celiaca. Hay pacientes que presentan valores dentro de la normalidad (9.7 +/- 4.3 LIEs totales), concretamente 129 pacientes de los 189 en los que se realizó biopsia intestinal, otros que se sitúan por debajo (38 pacientes) y otros por encima (22 pacientes). En cambio, es significativo que la gran mayoría de los estudios anatomopatológicos realizados muestran un porcentaje elevado de TCR $\gamma\delta$ (valores de normalidad 9 +/-1), y un porcentaje disminuido de LIEs CD3- o *Natural Killer like* (valores de normalidad 41.2 +/- 21). Así, 152 pacientes presentaron un porcentaje elevado de TCR $\gamma\delta$ y 159, un porcentaje disminuido de CD3-. Estos últimos datos son también característicos de los estudios histológicos en pacientes con enfermedad celiaca.

Ocho pacientes (4.3% de los pacientes con biopsia duodenal), presentaban un Marsh 1 y fueron diagnosticados de enfermedad celiaca por mostrar la citometría de flujo unos LIEs compatibles, además de una clínica y una serología acordes con la enfermedad; 1 paciente (0.5%), tenía un Marsh 2; el resto, 180 pacientes (95.2%), tenían un Marsh 3, distribuido de la siguiente manera: Marsh 3a en 48 pacientes (25.4%), Marsh 3b en 68 pacientes (36%) y Marsh 3c en 64 (33.8%).

En la Figura 7 se muestran estos resultados.



*Marsh 1: el diagnóstico de EC se realiza en base al estudio de los LIEs.

Figura 7. Porcentaje de cada grado de Marsh en las biopsias realizadas.

6.1.11. Genética

Se estudiaron ambos alelos del HLA-DQA1 y DQB1 en 133 pacientes (el 51.6% de la muestra). De ellos, 47 (35.3%) eran DQ2 homocigotos, 38 (28.6%) eran DQ2 heterocigotos, 17 (12.8%) portaban DQ2 en trans, 4 (3%) portaban medio DQ2, 7 (5.3%) eran positivos para DQ8, pero no para DQ2, y 19 (14.3%) eran positivos para DQ2 y DQ8. Un paciente (0.8%) no portaba ninguno de los alelos de riesgo. El diagnóstico de este paciente se realizó en base a la clínica clásica presentada, la positividad de los anticuerpos anti-tTG y EMA, la lesión histológica compatible y la buena respuesta clínica a la dieta sin gluten, así como la recaída clínica, serológica e histológica tras reintroducir el gluten en la dieta.

En la población general española, la distribución de la carga genética de riesgo en las categorías descritas es: 4.8% DQ2 homocigotos, 20.5% DQ2 heterocigotos, 4.6% portadores de DQ2 en trans, 19.6% portadores de medio DQ2, 10.5% positivos para DQ8, pero no para DQ2, 7.3% positivos para DQ2 y DQ8 y 33% no portadores de ningún alelo de riesgo.

Los resultados descritos en nuestros pacientes se muestran en la Figura 8.

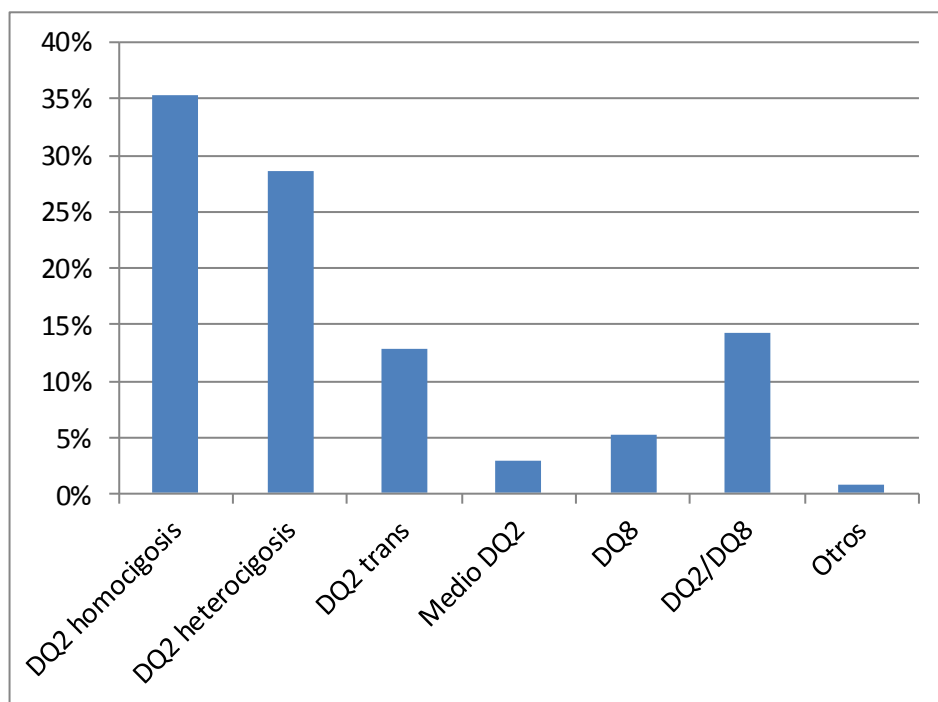


Figura 8. Genotipo HLA.

A efectos de análisis estadísticos, en la comparación del haplotipo con otros parámetros, dividimos a los pacientes en DQ2 homocigotos y no DQ2 homocigotos.

6.2. RESULTADOS EVOLUTIVOS A LO LARGO DEL PRIMER AÑO DE DIETA SIN GLUTEN

6.2.1. Evolución de la antropometría durante el primer año de dieta sin gluten

A los 3, 6 y 12 meses tras la implantación de la dieta sin gluten, se recogieron en cada paciente los datos de peso, talla, índice de masa corporal (expresados en z score) y el índice nutricional según Shukla. La evolución de la media de dichos parámetros y el p-valor obtenido de la aplicación de un modelo mixto que indica si la variable en cuestión tiene un cambio significativo en el tiempo se exponen en la Tabla 11. Objetivamos una mejoría progresiva y evidente desde los 3 meses de dieta sin gluten en el z score de peso, IMC e IN, mientras que la mejoría en la talla se hace evidente de forma más tardía, a partir de los 6 meses de DSG. Esta evolución se analizará de forma individual para cada parámetro a continuación.

Tabla 11. Evolución de la antropometría el primer año de DSG.

	Diagnóstico	3 meses	6 meses	12 meses	p-valor¹
Media z score peso	-0.83	-0.60	-0.46	-0.33	<0.001
Media z score talla	-0.52	-0.61	-0.45	-0.31	<0.001
Media z score IMC	-0.75	-0.35	-0.30	-0.24	<0.001
Media IN (Shukla)	89.69	92.80	94.16	94.90	<0.001

¹modelo mixto

IMC: Índice de Masa Corporal. IN: Índice Nutricional

En las gráficas siguientes se expone la evolución de cada parámetro antropométrico de forma individualizada y se explica mediante tablas el resultado de la aplicación de un modelo mixto que tiene como efecto fijo el tiempo transcurrido desde el inicio de la dieta sin gluten y como efecto aleatorio cada uno de los individuos. Se obtiene un valor beta con su intervalo de confianza al 95% y un p-valor que indica si la variable en cuestión tiene un cambio significativo en el tiempo valorado de forma global. Este p-valor responde a la siguiente pregunta: ¿existe diferencia en el z score de cada una de las variables analizadas en el tiempo?

En la Figura 9 se refleja la evolución del z score de peso desde el diagnóstico de la enfermedad celiaca (0 meses) hasta los 12 meses del inicio de la DSG. La media del z score de peso en el momento del diagnóstico se sitúa en -0.83, se eleva a -0.60 a los 3 meses de DSG, a -0.46 a los 6 meses y a -0.33 a los 12 meses. Por lo tanto, la mejoría del z score de peso es evidente ya a los 3 meses de DSG y continúa a los 6 y a los 12 meses.

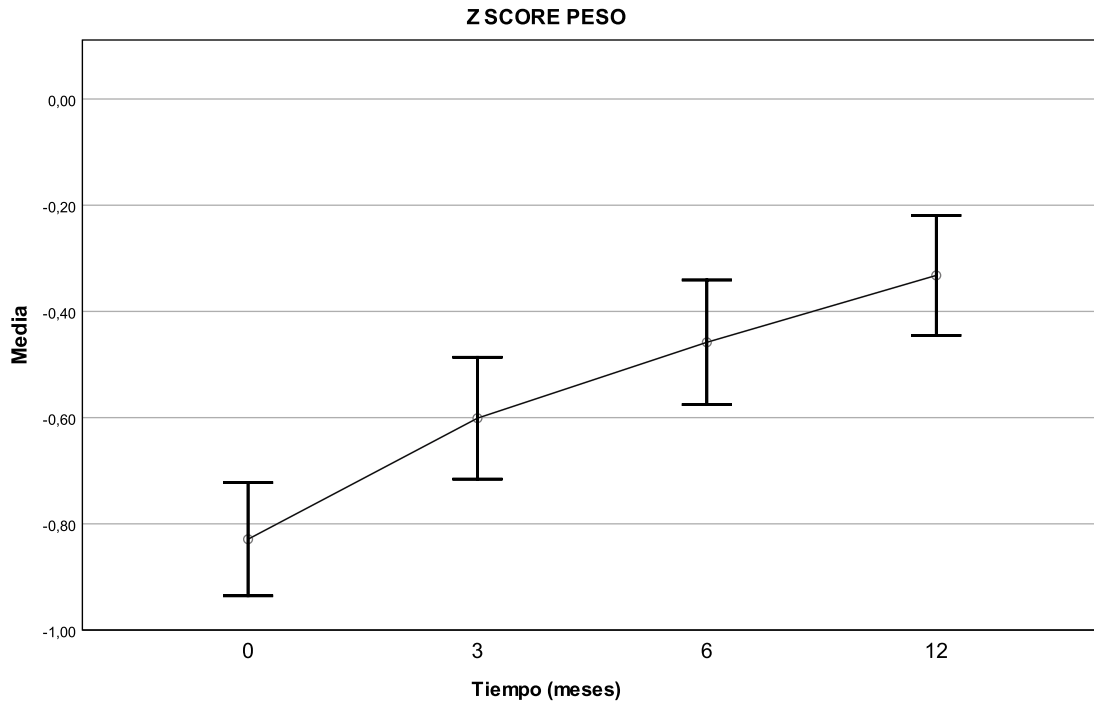


Figura 9. Evolución de la media del z score de peso el primer año de DSG.

La Tabla 12 muestra la aplicación del modelo mixto explicado para la variable z score de peso, que obtiene un p-valor <0.001, lo que nos indica que los cambios objetivados son significativos en el tiempo.

Tabla 12. Modelo mixto para la variable z score peso.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Zscorepeso	0	referencia	<0.001
	3	0.27 (0.21, 0.33)	
	6	0.40 (0.34, 0.46)	
	12	0.49 (0.43, 0.55)	

La Figura 10 muestra la evolución del z score de talla a lo largo del primer año tras el inicio de la DSG, desde el diagnóstico de la enfermedad celiaca (0 meses). La media del z score de talla al diagnóstico es -0.52, disminuye a -0.61 a los 3 meses, se eleva a -0.45 a los 6 meses y posteriormente a -0.31 a los 12 meses. Comprobamos así que la mejoría de la talla se produce de forma más tardía que en el caso del peso, siendo evidente a partir de los 6 meses de dieta sin gluten.

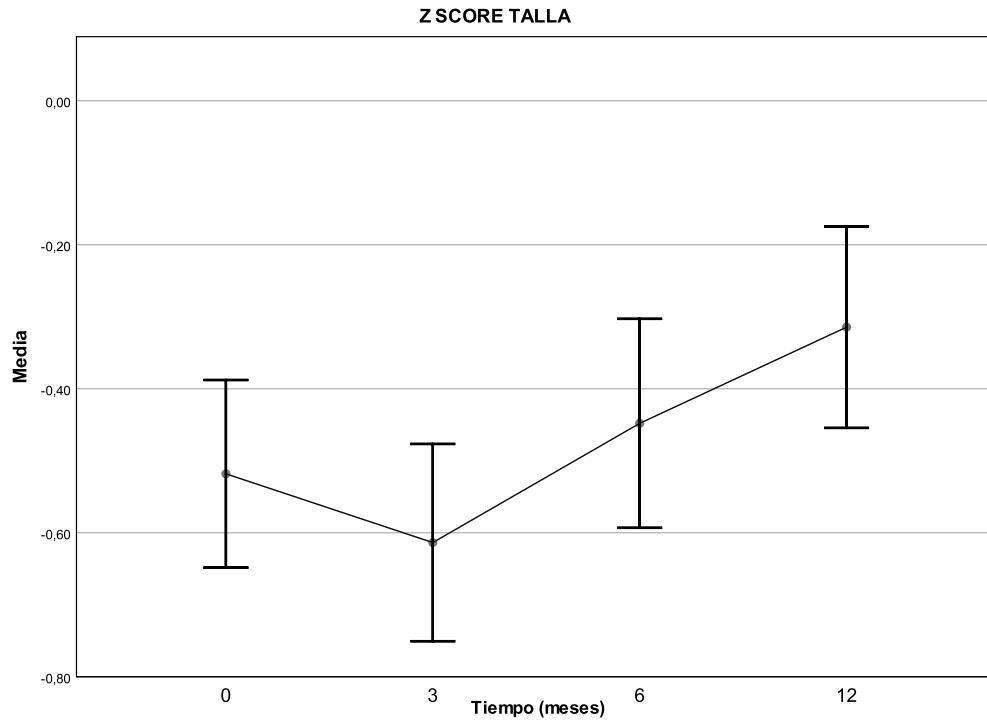


Figura 10. Evolución de la media del z score de talla el primer año de DSG.

El modelo mixto aplicado en la variable z score de talla obtiene también un p-valor <0.001 , por lo que concluimos que los cambios descritos son significativos en el tiempo. (Tabla 13).

Tabla 13. Modelo mixto para la variable z score talla.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Zscoretalla	0	referencia	<0.001
	3	-0.04 (-0.10, 0.01)	
	6	0.06 (0.001, 0.12)	
	12	0.18 (0.13, 0.24)	

La media del z score de IMC es -0.75 al diagnóstico de la enfermedad, mejora de forma llamativa a los 3 meses tras el inicio de la DSG, situándose en este momento en -0.35, y posteriormente lo hace de forma menos marcada pero mantenida, siendo -0.30 a los 6 meses y -0.24 a los 12 meses. Esto ocurre como consecuencia de la evolución de los parámetros peso y talla descrita con anterioridad y sitúa al IMC como un parámetro de mejoría precoz tras el inicio del tratamiento. La evolución de la media del z score de IMC a lo largo del primer año de DSG queda reflejada en la Figura 11.

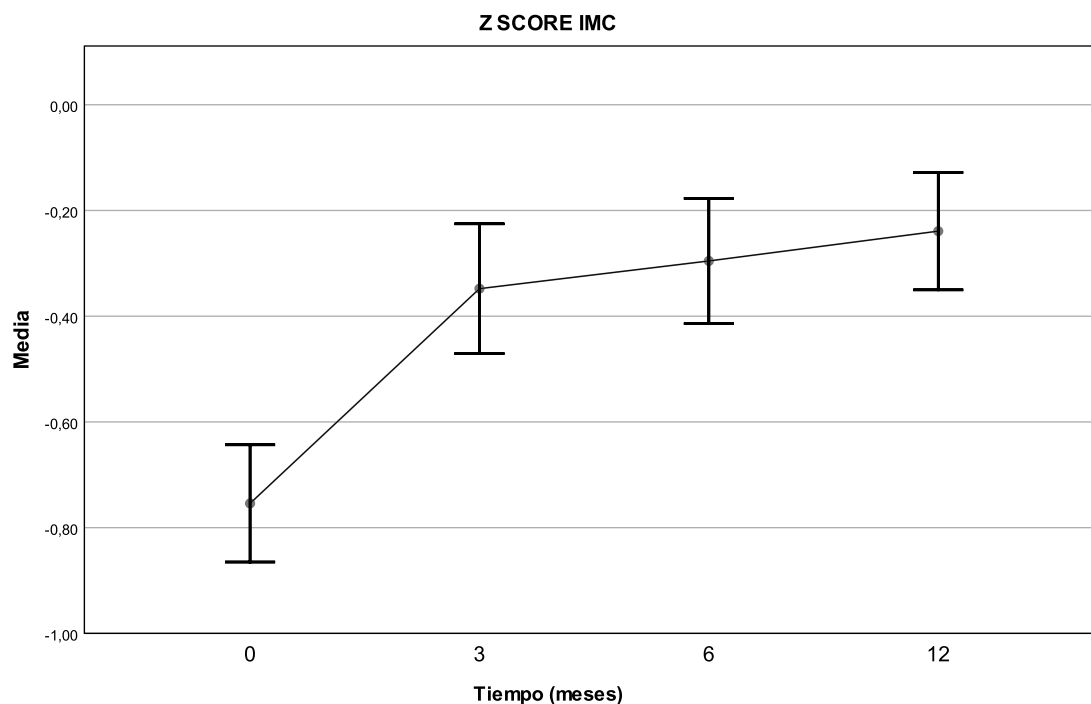


Figura 11. Evolución de la media del z score del IMC el primer año de DSG.

IMC: Índice de Masa Corporal.

La Tabla 14 muestra los resultados del modelo mixto para la variable z score de IMC, que objetiva un p-valor <0.001 y nos permite concluir que los cambios descritos son significativos en el tiempo.

Tabla 14. Modelo mixto para la variable z score IMC.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
ZscoreIMC	0	referencia	<0.001
	3	0.41 (0.33, 0.49)	
	6	0.48 (0.40, 0.56)	
	12	0.51 (0.43, 0.59)	

IMC: Índice de Masa Corporal.

El último parámetro antropométrico valorado fue el índice nutricional según Shukla. Al diagnóstico presenta un valor medio de 89.69 y mejora a lo largo del primer año de dieta sin gluten de forma progresiva, siendo esta mejoría ya evidente a los 3 meses, cuando la media corresponde a 92.80. A los 6 meses la media es 94.16 y a los 12 meses, 94.90. Dicha evolución aparece en la Figura 12.

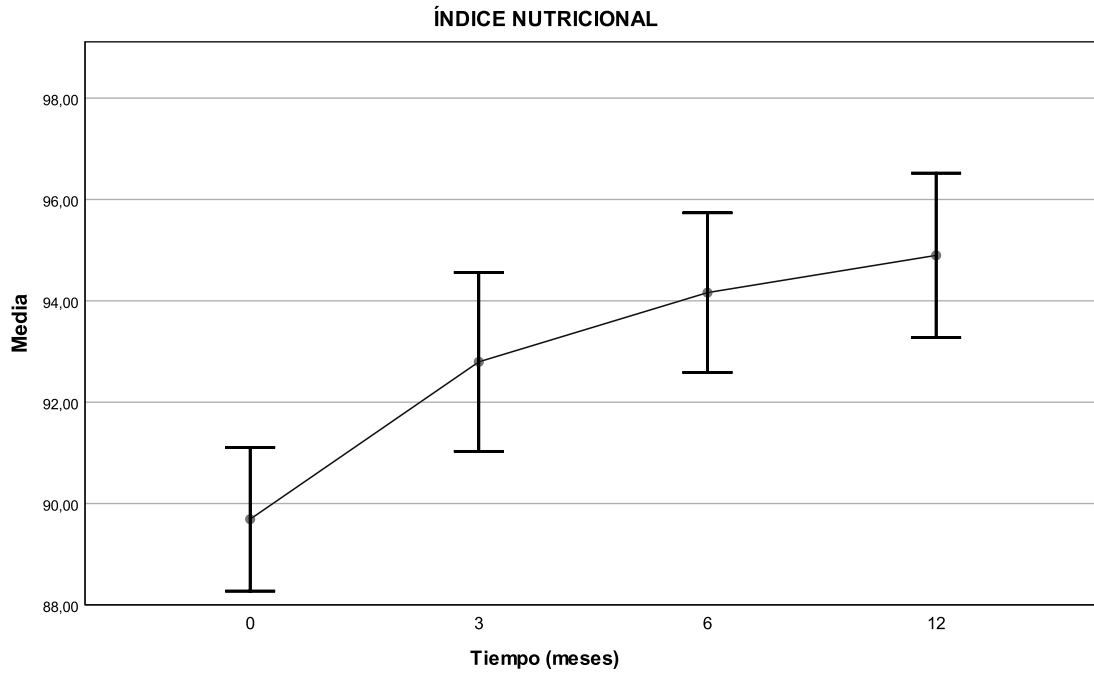


Figura 12. Evolución de la media del IN el primer año de DSG.

Aplicamos de nuevo un modelo mixto para valorar si existe significación en los cambios objetivados a lo largo del tiempo y obtuvimos también un p-valor <0.001, lo que confirma que existe significación estadística. (Tabla 15).

Tabla 15. Modelo mixto para la variable IN.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Índice nutricional	0	referencia	<0.001
	3	3.2 (2.3, 4.1)	
	6	4.6 (3.7, 5.4)	
	12	5.2 (4.3, 6.0)	

Ante estos resultados, podemos concluir que los cambios en los parámetros antropométricos estudiados que los pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca experimentan a lo largo del primer año tras el inicio de la dieta sin gluten son significativos en el tiempo.

6.2.2. Evolución de la serología de enfermedad celiaca durante el primer año de dieta sin gluten

A los 3, 6 y 12 meses tras la implantación de la DSG, se determinaron de nuevo la IgA anti gliadina (AGA), la IgA anti endomisio (EMA) y la IgA anti transglutaminasa tisular (IgA anti-tTG). En caso de déficit de IgA, se determinaron las IgG.

La evolución del porcentaje de pacientes con serologías positivas para cada uno de los anticuerpos se refleja en la Tabla 16. Como se observa en los tres casos, ya a los 3 meses después de haber iniciado la dieta sin gluten se produce un descenso significativo del porcentaje de pacientes con serología positiva, que continúa disminuyendo a los 6 y a los 12 meses tras el diagnóstico. Es interesante destacar que entre el 11 y el 22% de los pacientes presentan anticuerpos positivos (AGA, EMA e IgA anti-tTG) al final del primer año de DSG.

Tabla 16. Evolución del porcentaje de serologías positivas el primer año de DSG.

	Diagnóstico	3 meses	6 meses	12 meses
AGA	81%	34%	20.6%	11%
EMA	98%	70.2%	41%	20.5%
IgA anti-tTG	98%	68%	42.4%	22%

AGA: IgA anti gliadina. EMA: IgA anti endomisio. IgA anti-tTG: IgA anti transglutaminasa tisular.

En la Figura 13 se detalla la evolución de la positividad de los AGA, positivos en el 81% de los pacientes de la muestra en el momento del diagnóstico. A los 3 meses de haber iniciado la dieta sin gluten, el porcentaje de positividad disminuye al 34%, a los 6 meses, al 20.6% y a los 12 meses, al 11%.

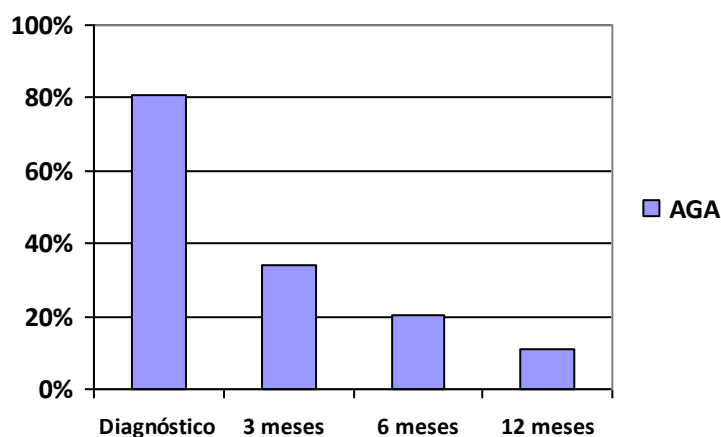


Figura 13. Evolución de la positividad de los AGA el primer año de DSG.

AGA: IgA anti gliadina.

La evolución de la positividad de los EMA muestra que el 98% de los pacientes presenta anticuerpos positivos al diagnóstico, el 70.2% a los 3 meses de DSG, el 41% a los 6 meses y el 20.5% a los 12 meses. (Figura 14).

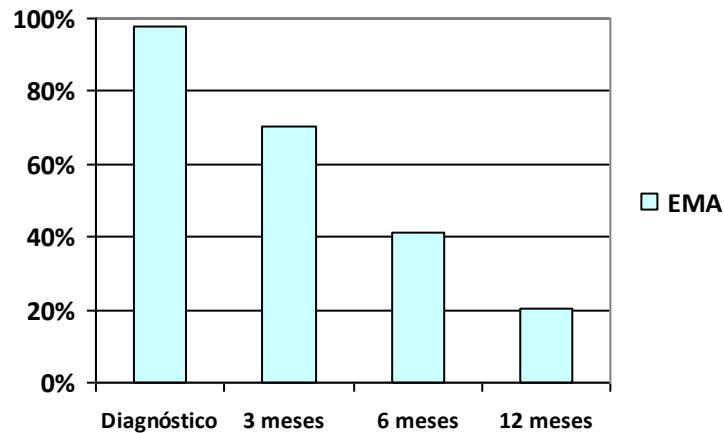


Figura 14. Evolución de la positividad de los EMA el primer año de DSG.

EMA: IgA antiendomiso.

En cuanto a la IgA anti-tTG, el 98% de los pacientes presenta anticuerpos positivos al diagnóstico. Dicho porcentaje se reduce al 68% a los 3 meses de haber iniciado la DSG, al 42.4% a los 6 meses y al 22% a los 12 meses. Estos datos se reflejan en la Figura 15.

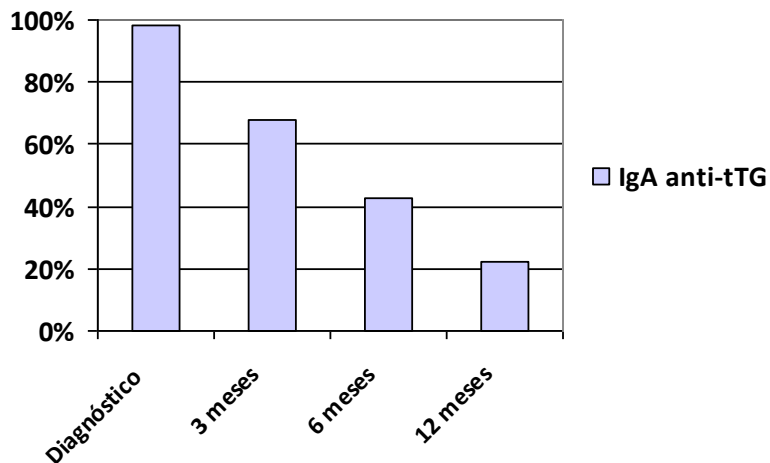


Figura 15. Evolución de la positividad de la IgA anti-tTG el primer año de DSG.

IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular.

En las siguientes figuras se expresa la evolución de la media de cada uno de los anticuerpos a lo largo del primer año de dieta sin gluten. Las tablas muestran el resultado de

la aplicación de un modelo mixto para saber si existe significación en los cambios objetivados en el tiempo.

En la Figura 16 observamos la evolución de la media de AGA desde el diagnóstico de la enfermedad celiaca hasta los 12 meses después de haber iniciado la DSG. Se objetiva un importante descenso de los niveles de AGA entre el diagnóstico, cuando la media corresponde a 83.16 unid arbit/mL, y los 3 meses de DSG, siendo entonces 16.25 unid arbit/mL. Posteriormente, la media se mantiene similar, correspondiendo a 16.84 unid arbit/mL a los 6 meses y a 12.39 unid arbit/mL a los 12 meses.

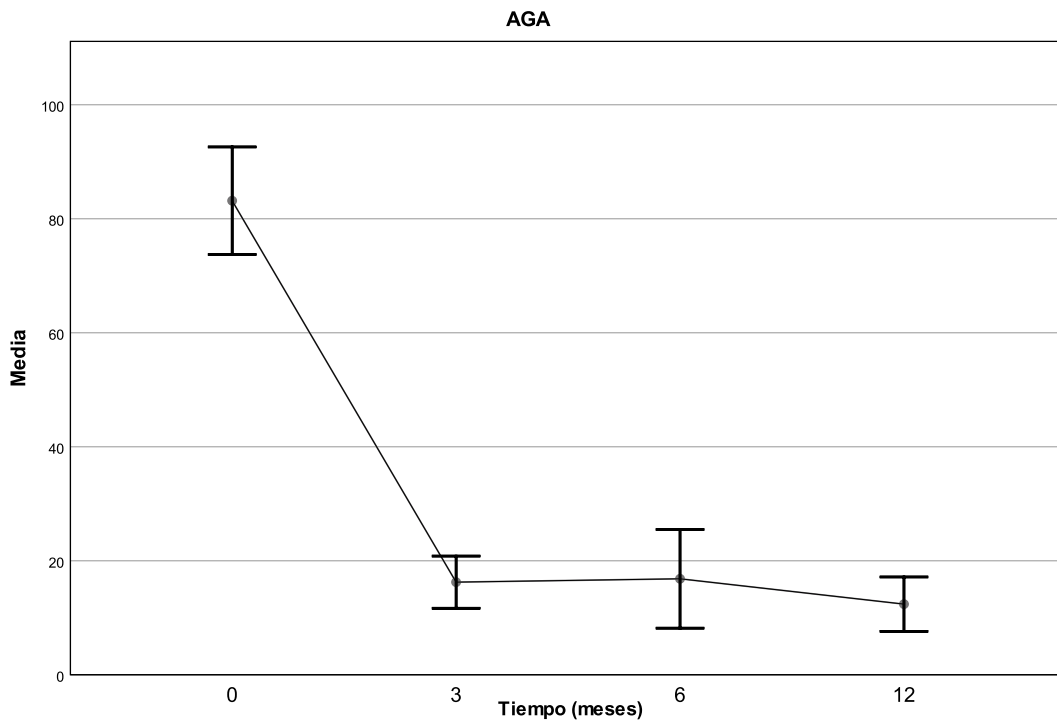


Figura 16. Evolución de la media de AGA el primer año de DSG.

AGA: IgA antigliadina.

La Tabla 17 muestra el resultado de la aplicación de un modelo mixto para la variable AGA, que obtiene un p-valor <0.001 , por lo que los cambios objetivados son significativos en el tiempo.

Tabla 17. Modelo mixto para la variable AGA.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
AGA cuantitativa	0	referencia	<0.001
	3	-67.4 (-76.5, -58.4)	
	6	-68.8 (-78.4, -59,1)	
	12	-73.6 (-83.2, -63.9)	

AGA: IgA anti gliadina.

Tras transformar los valores de EMA obtenidos en el laboratorio en números absolutos, tomando como números absolutos el grado de dilución aplicado (5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 y 640), objetivamos que la media de este parámetro experimenta un descenso pronunciado entre el diagnóstico y los 3 meses tras el inicio de la DSG (de 23.25 a 6.65) que continúa de forma menos pronunciada a los 6 meses (3.85) y a los 12 meses de DSG (1.61). (Figura 17).

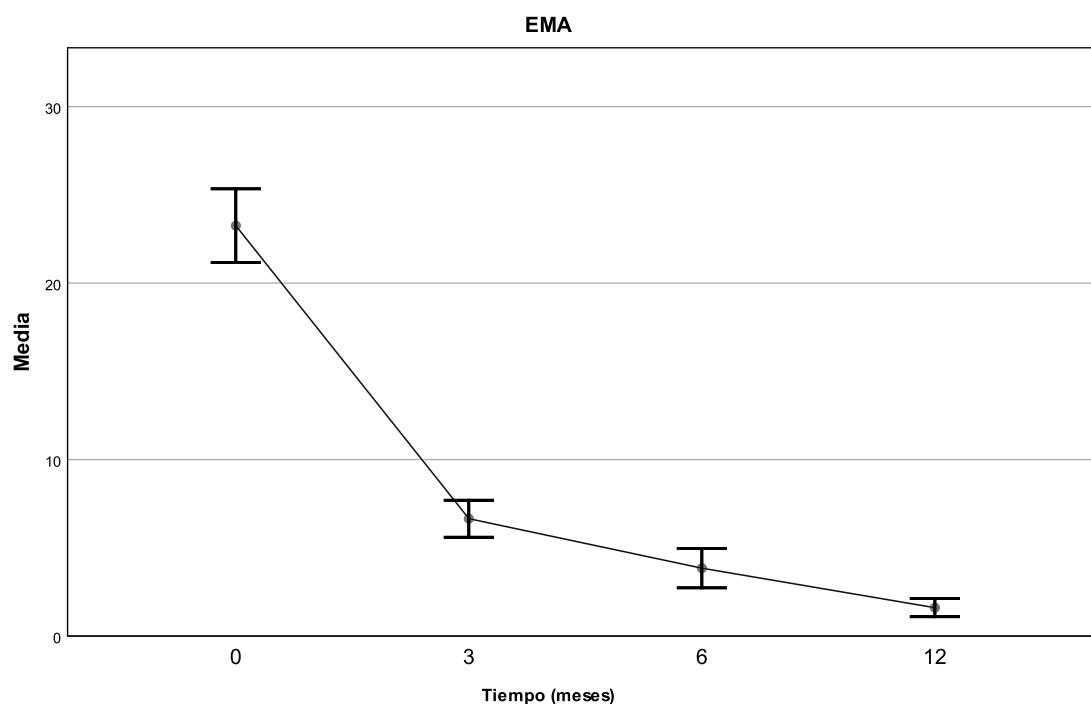


Figura 17. Evolución de la media de EMA el primer año de DSG.

EMA: IgA antiendomiso.

Con la aplicación del modelo mixto, reflejado en la Tabla 18, se obtiene un p-valor <0.001, por lo que concluimos que los cambios descritos son significativos en el tiempo.

Tabla 18. Modelo mixto para la variable EMA.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
EMA cuantitativa	0	referencia	<0.001
	3	-16.8 (-18.5, -15.0)	
	6	-19.6 (-21.4, -17.8)	
	12	-21.7 (-23.4, -20.0)	

EMA: IgA antiendomiso.

Igual que ocurre en el caso de los EMA, la media de los anticuerpos IgA anti-tTG experimenta una marcada disminución entre el diagnóstico y los 3 meses después de la instauración de la DSG, que continúa a los 6 y a los 12 meses de forma menos pronunciada. La Figura 18 muestra dicha evolución, correspondiendo la media de IgA anti-tTG al diagnóstico a 216.16 unid arbit/mL, a los 3 meses de DSG a 45.54 unid arbit/mL, a los 6 meses a 26.69 unid arbit/mL y a los 12 meses a 12.99 unid arbit/mL.

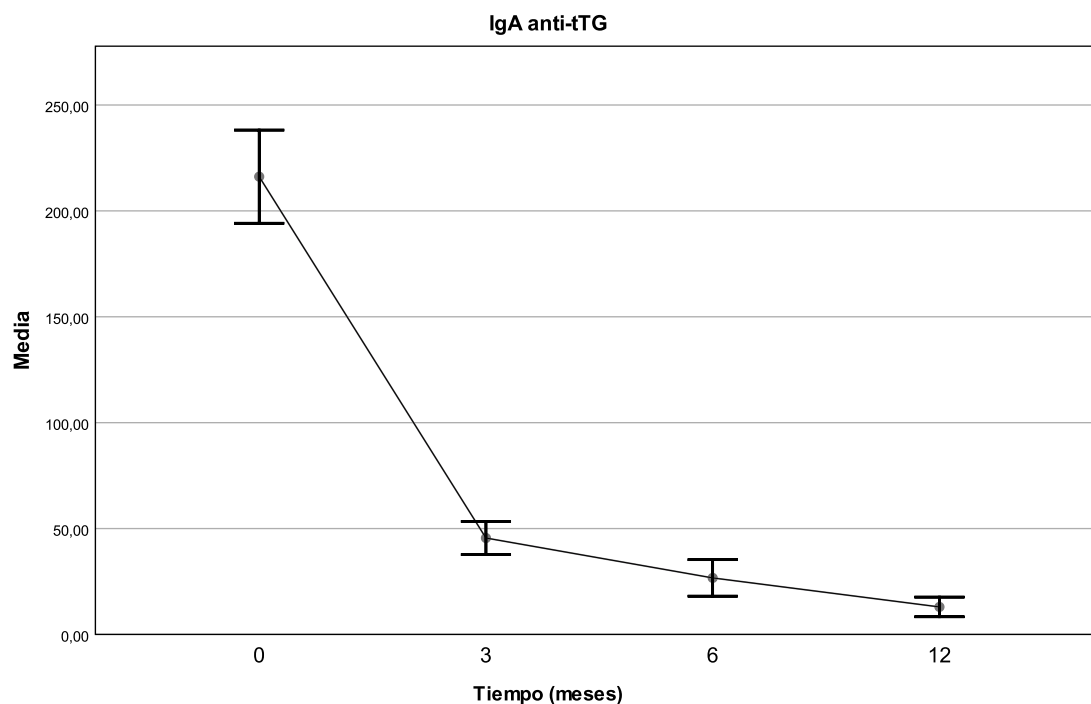


Figura 18. Evolución de la media de IgA anti-tTG el primer año de DSG.

IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular.

Con la aplicación del modelo mixto se obtiene de nuevo un p-valor <0.001, lo que nos indica que los cambios descritos son significativos en el tiempo. (Tabla 19).

Tabla 19. Modelo mixto para la variable IgA anti-tTG.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Anti-tTG cuantitativa	0	referencia	<0.001
	3	-15.1 (-16.5, -13.7)	
	6	-16.6 (-18.0, -15.1)	
	12	-17.7 (-19.0, -16.3)	

Anti-tTG cuantitativa: IgA antitransglutaminasa tisular.

6.2.3. Evolución de los parámetros bioquímicos nutricionales durante el primer año de dieta sin gluten

A los 3, 6 y 12 meses tras la implantación de la DSG, se determinaron los parámetros bioquímicos nutricionales estudiados al diagnóstico, siendo la evolución de la media de dichos parámetros la expuesta en la Tabla 20. También se refleja en esta tabla el p-valor obtenido de la aplicación de un modelo mixto que indica si la variable en cuestión tiene un cambio significativo en el tiempo.

Tabla 20. Evolución de los parámetros bioquímicos nutricionales el primer año de DSG.

	Diagnóstico	3 meses	6 meses	12 meses	p-valor ¹
Colesterol (mg/dL)	153.69	156.52	161.63	162.60	<0.001
TG (mg/dL)	88.23	72.72	74.44	68.84	<0.001
Alb (g/dL)	4.76	4.87	4.69	4.91	0.833
Fe (mcg/dL)	63.20	70.65	75.12	82.41	<0.001
Tf (mg/dL)	294.29	305.15	302.69	295.30	<0.001
Zn (mcg/dL)	66.25	75.06	75.51	75.25	<0.001
preAlb (mg/dL)	17.77	17.66	17.93	18.53	0.128
IgA (mg/dL)	135.30	91.56	95.04	101.72	<0.001
IGF-1 (mcg/L)	102.70	136.07	134.97	160.82	<0.001
Cobalamina (ng/L)	598.88	651.54	662.77	640.72	<0.001
Folato (mcg/L)	10.11	13.75	14.13	12.84	<0.001
Leptina (mcg/L)	2.08	2.89	2.29	3.13	0.003
Calcidiol (ng/mL)	32.93	33.74	32.60	31.28	0.434
Vitamina E (mg/dL)	1.13	1.23	1.21	1.09	0.003

¹modelo mixto

TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1.

Queremos destacar en este punto que, del 51% de los pacientes que presentaban niveles de hierro por debajo de la normalidad en el momento del diagnóstico, sólo el 17.2% continuaba presentando niveles bajos a los 12 meses de dieta sin gluten; los pacientes con niveles bajos de zinc disminuyen del 53.4% al 11.1% en ese periodo de tiempo; los que presentaban niveles bajos de leptina, del 85.1% al 72%; los que tenían niveles de calcidiol por debajo de la normalidad, del 10.5% al 6.9%. Los pacientes con niveles elevados de cobalamina en el momento del diagnóstico eran el 17.4%; dicho porcentaje disminuye al 13.4% a los 12 meses de DSG.

De manera individualizada, las siguientes gráficas muestran la evolución de cada uno de los parámetros bioquímicos estudiados durante el primer año tras la implantación de la dieta sin gluten. Se expresan en todo momento las medias obtenidas. Las tablas que siguen a cada gráfica expresan el resultado de la aplicación del modelo mixto que establece si los cambios objetivados son significativos en el tiempo.

El colesterol experimenta un aumento progresivo desde el diagnóstico de la enfermedad celiaca hasta los 12 meses tras el comienzo de la DSG, correspondiendo la media inicial a 153.69 mg/dL, a los 3 meses a 156.52 mg/dL, a los 6 meses a 161.63 mg/dL y al año a 162.60 mg/dL. Esta evolución queda representada en la Figura 19.

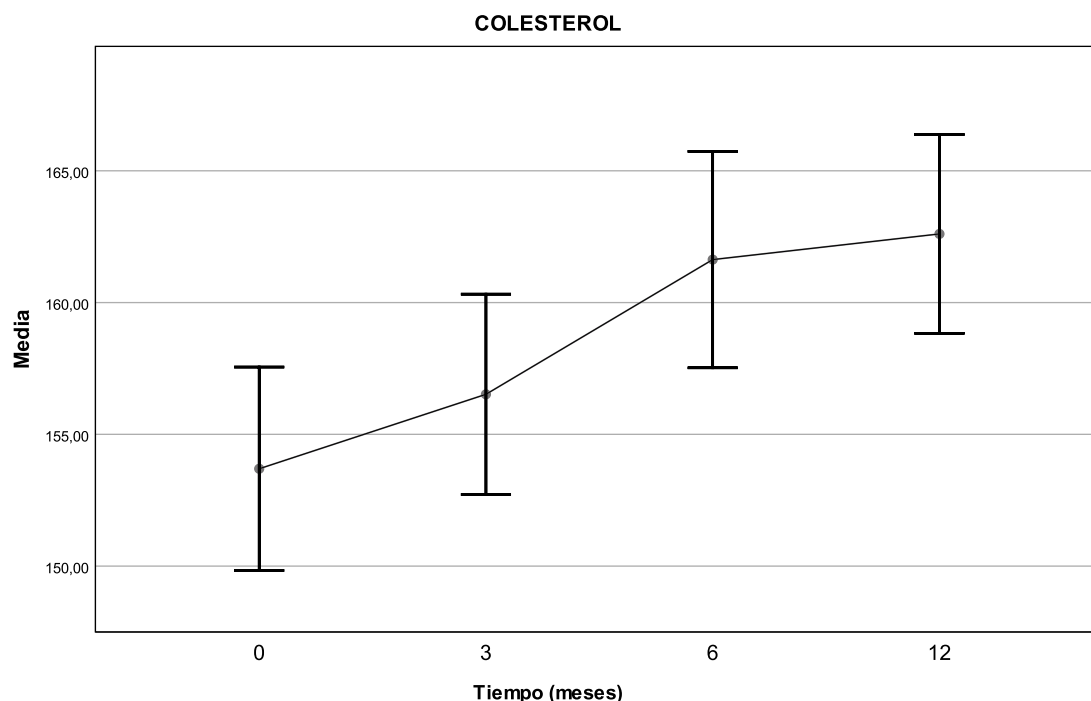


Figura 19. Evolución del colesterol el primer año de DSG.

La aplicación del modelo mixto para la variable colesterol obtiene un p-valor <0.001, por lo que podemos concluir que los cambios observados son significativos en el tiempo. (Tabla 21).

Tabla 21. Modelo mixto para la variable colesterol.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Colesterol	0	referencia	<0.001
	3	4.4 (1.2, 7.6)	
	6	8.6 (5.3, 11.9)	
	12	10.3 (7.1, 13.5)	

La Figura 20 muestra cómo el valor medio de los triglicéridos desciende entre el diagnóstico y los 3 meses después del inicio de la dieta sin gluten, de 88.23 mg/dL a 72.72 mg/dL, manteniéndose en cifras similares desde entonces hasta los 12 meses de DSG (74.44 mg/dL a los 6 meses y 68.84 mg/dL a los 12 meses).

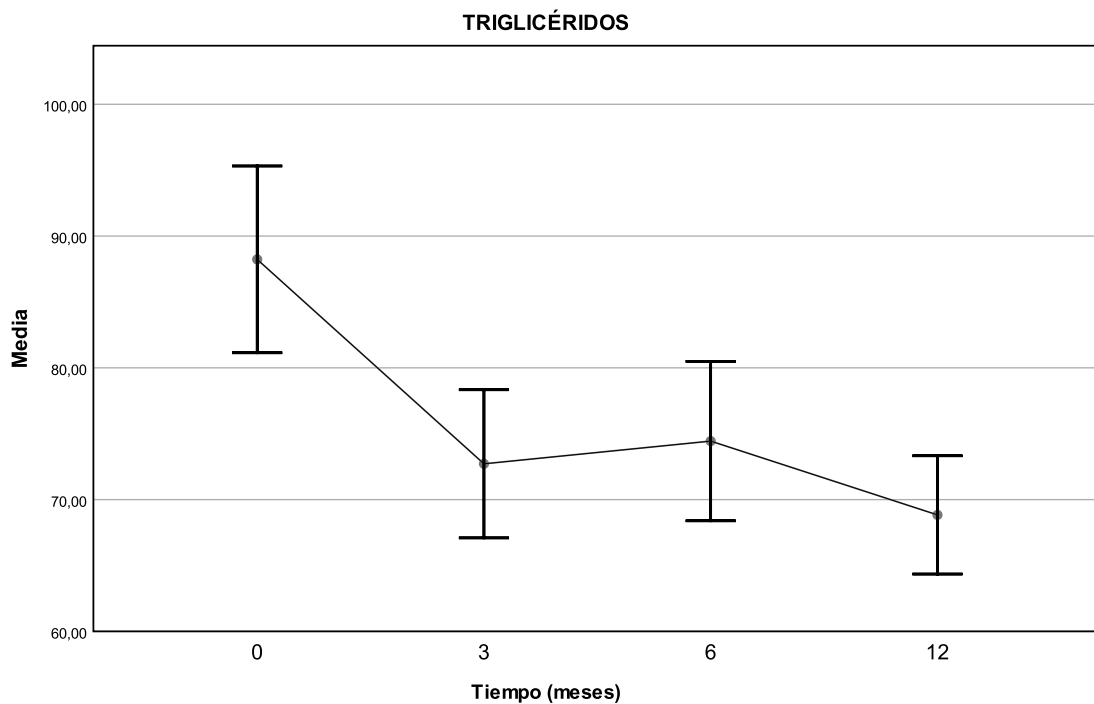


Figura 20. Evolución de los triglicéridos el primer año de DSG.

El modelo mixto aplicado obtiene un p-valor <0.001, que indica que los cambios descritos son significativos en el tiempo. (Tabla 22).

Tabla 22. Modelo mixto para la variable triglicéridos.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Triglicéridos	0	referencia	<0.001
	3	-16.1 (-22.7, -9.6)	
	6	-14.3 (-21.1, -7.6)	
	12	-20.1 (-26.8, -13.4)	

La albúmina, tal y como se muestra en la Figura 21, experimenta un aumento inicial entre el diagnóstico de la enfermedad celiaca, siendo entonces la media 4.76 g/dL, y los 3 meses de DSG, 4.87 g/dL, seguido de un descenso posterior, correspondiendo la media a los 6 meses del diagnóstico a 4.69 g/dL, y una nueva elevación entre los 6 y los 12 meses de DSG, a 4.91 g/dL.

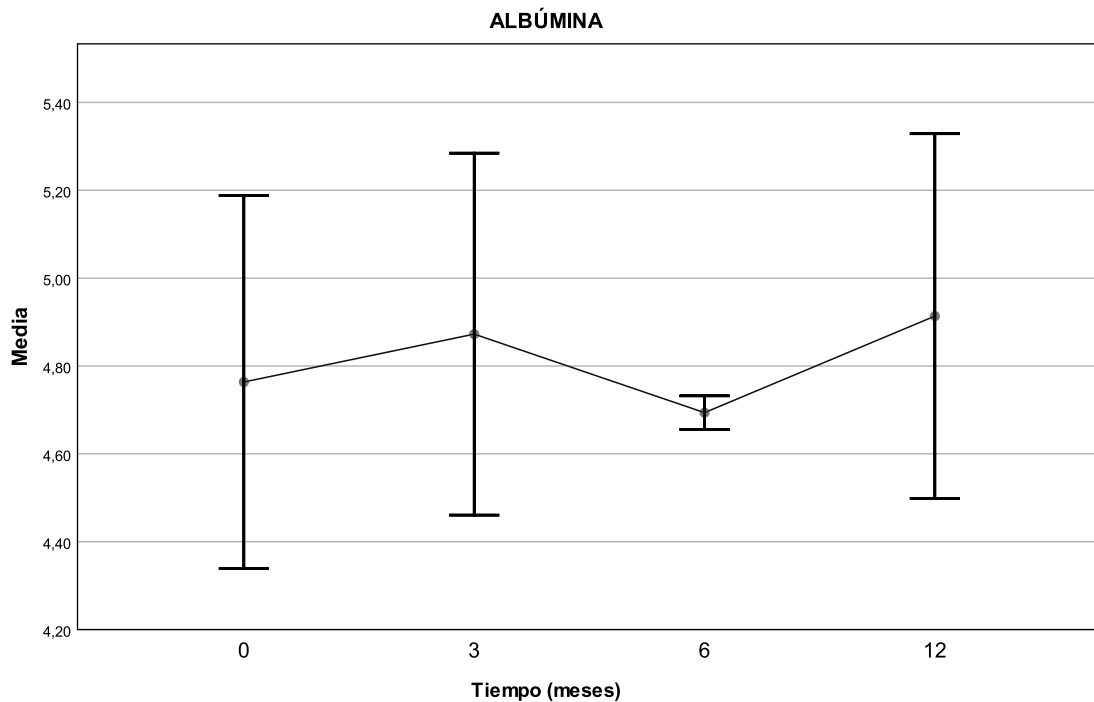


Figura 21. Evolución de la albúmina el primer año de DSG.

La Tabla 23 expresa el resultado de la aplicación de un modelo mixto para la variable albúmina, que obtiene en este caso un p-valor de 0.833. Los cambios observados, por tanto, no son significativos en el periodo de tiempo estudiado.

Tabla 23. Modelo mixto para la variable albúmina.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Albúmina	0	referencia	0.833
	3	0.11 (-0.39, 0.61)	
	6	-0.07 (-0.58, 0.44)	
	12	0.15 (-0.36, 0.66)	

En el caso del hierro, se objetiva un aumento progresivo desde el diagnóstico de la enfermedad a los 12 meses de DSG. El valor medio de este parámetro cambia de 63.20 mcg/dL en el momento del diagnóstico a 70.65 mcg/dL a los 3 meses, 75.12 mcg/dL a los 6 meses y 82.41 mcg/dL a los 12 meses tras el inicio del tratamiento. (Figura 22).

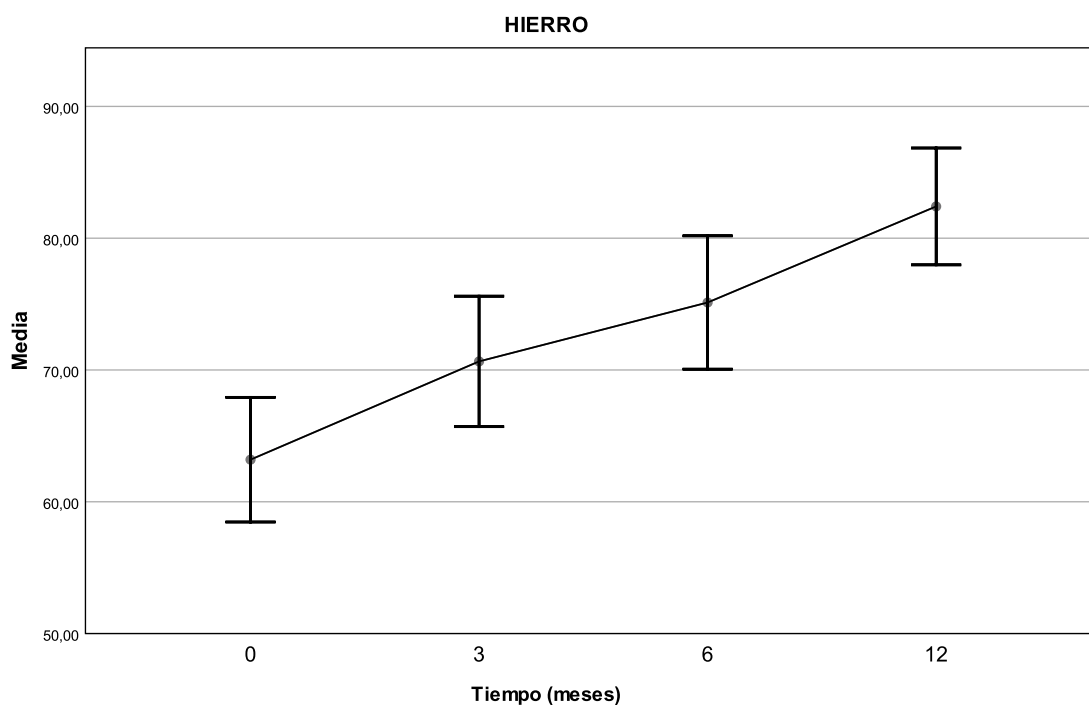


Figura 22. Evolución del hierro el primer año de DSG.

La Tabla 24 muestra el resultado del modelo mixto aplicado para la variable hierro, con el que se obtiene un p-valor <0.001, por lo que se concluye que los cambios descritos son significativos en el tiempo.

Tabla 24. Modelo mixto para la variable hierro.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Hierro	0	referencia	<0.001
	3	7.8 (2.3, 13.3)	
	6	12.3 (6.6, 17.9)	
	12	18.6 (13.1, 24.2)	

En cuanto a la transferrina (Figura 23), tras una elevación inicial después de la instauración de la DSG, siendo el valor medio al diagnóstico 294.29 mg/dL y a los 3 meses 305.15 mg/dL, posteriormente desciende a los 6 y a los 12 meses, correspondiendo la media en esos momentos a 302.69 mg/dL y 295.30 mg/dL, respectivamente.

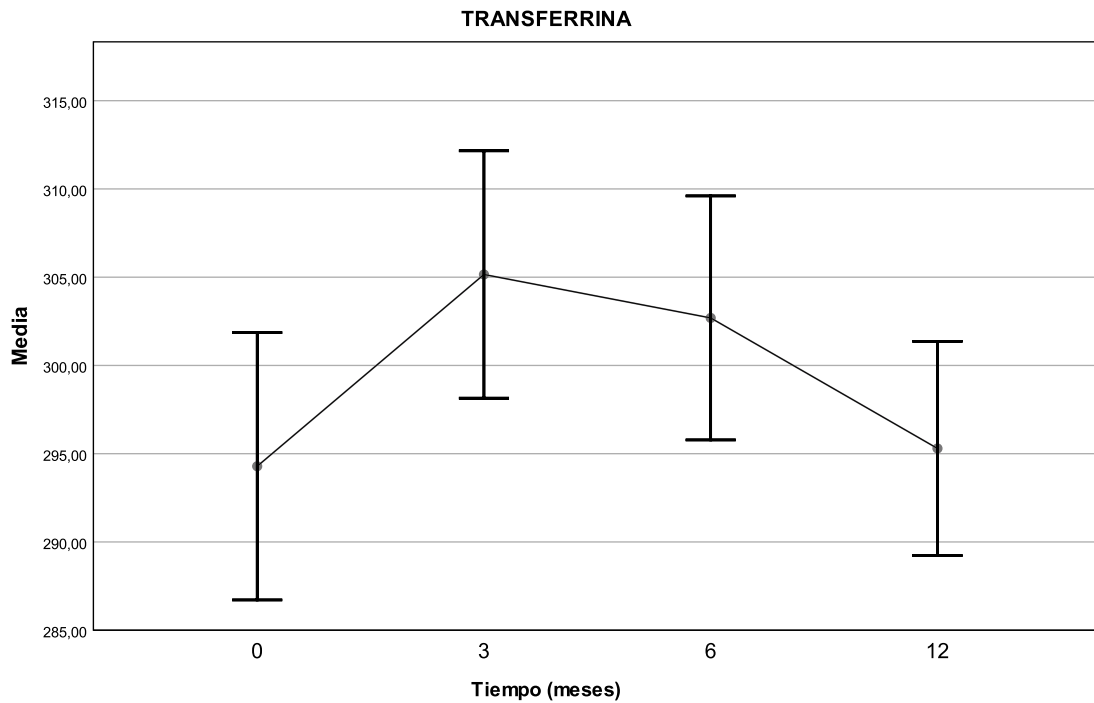


Figura 23. Evolución de la transferrina el primer año de DSG.

Con la aplicación del modelo mixto (Tabla 25), se obtiene un p-valor <0.001. Por tanto, los cambios observados en el periodo de tiempo analizado son significativos.

Tabla 25. Modelo mixto para la variable transferrina.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Transferrina	0	referencia	<0.001
	3	11.8 (6.0, 17.6)	
	6	8.5 (2.5, 14.5)	
	12	1.0 (-4.8, 6.8)	

La Figura 24 muestra la evolución del zinc durante el primer año de dieta sin gluten. Se observa cómo esta variable experimenta un aumento pronunciado entre el diagnóstico de enfermedad celiaca y los 3 meses de DSG, elevándose la media de 66.25 mcg/dL a 75.06 mcg/dL en ese intervalo de tiempo, manteniéndose más o menos estable posteriormente, correspondiendo los valores medios a 75.51 mcg/dL a los 6 meses y a 75.25 mcg/dL a los 12 meses.

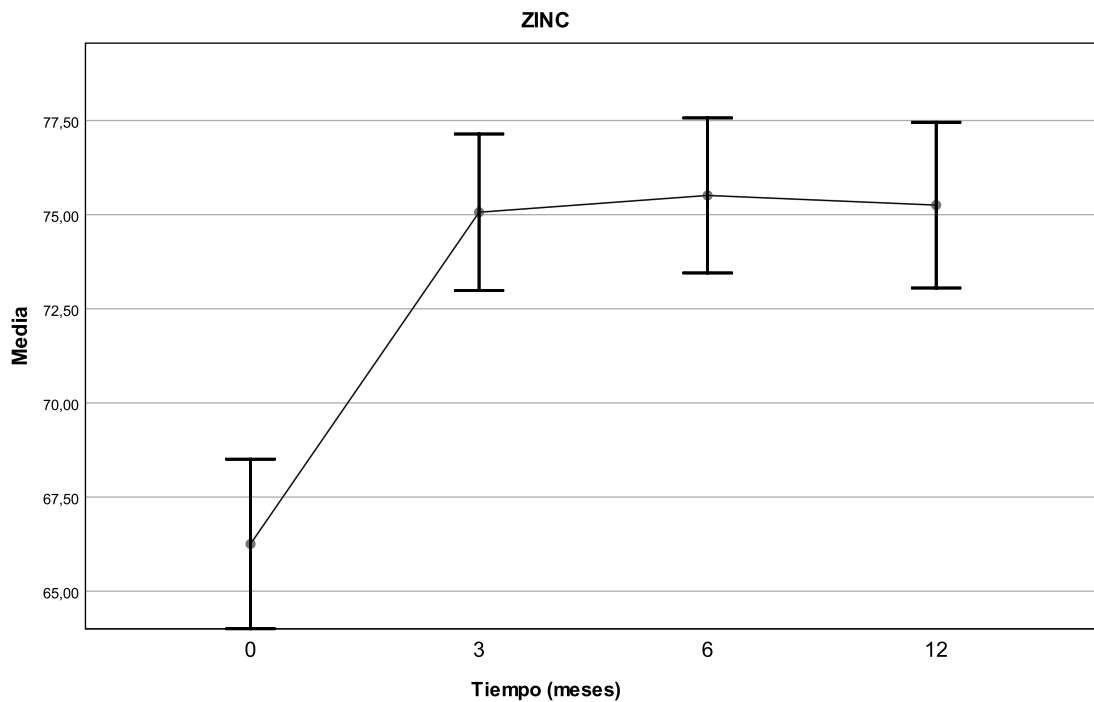


Figura 24. Evolución del zinc el primer año de DSG.

La aplicación del modelo mixto, cuyo resultado aparece en la Tabla 26, obtiene un p-valor <0.001, lo que nos permite afirmar que los cambios observados son significativos en el periodo de tiempo estudiado.

Tabla 26. Modelo mixto para la variable zinc.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Zinc	0	referencia	<0.001
	3	9.0 (6.4, 11.5)	
	6	9.2 (6.6, 11.9)	
	12	9.0 (6.4, 11.7)	

La variable prealbúmina experimenta, tras un leve descenso inicial de su valor medio, una elevación progresiva entre los 3 y los 12 meses de dieta sin gluten. Así, la media al diagnóstico corresponde a 17.77 mg/dL, a los 3 meses a 17.66 mg/dL, a los 6 meses a 17.93 mg/dL y a los 12 meses a 18.53 mg/dL. (Figura 25).

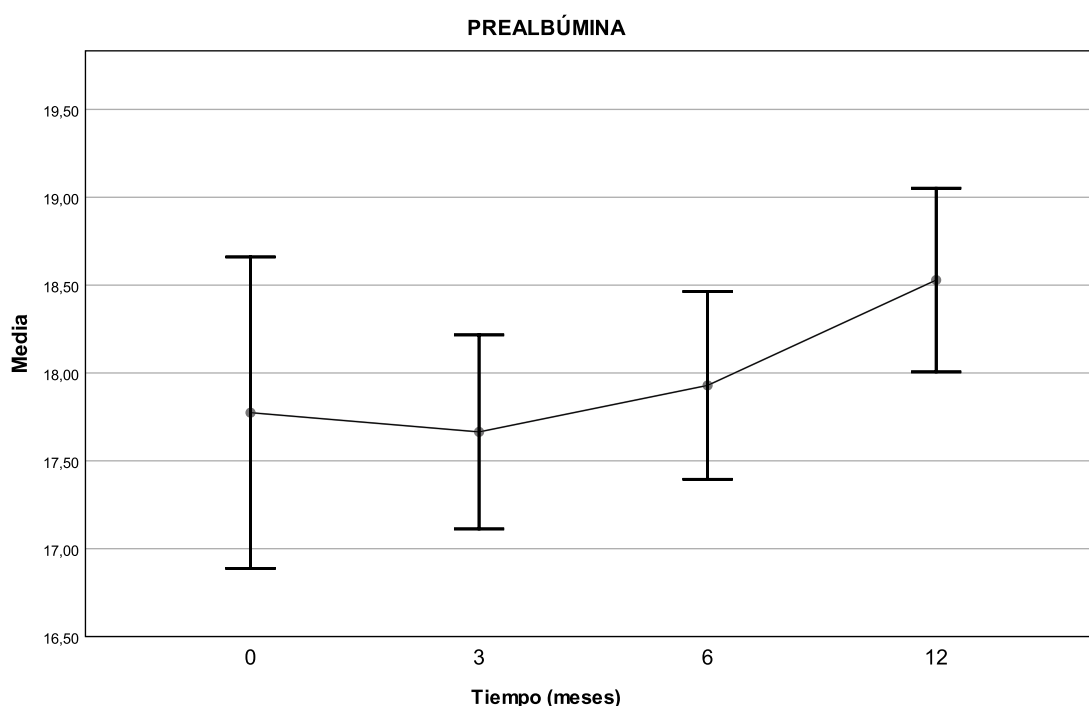


Figura 25. Evolución de la prealbúmina el primer año de DSG.

La Tabla 27 expresa el resultado del modelo mixto aplicado, con el que se obtiene un p-valor 0.128. En este caso, los cambios observados no son significativos en el tiempo.

Tabla 27. Modelo mixto para la variable prealbúmina.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Prealbúmina	0	referencia	0.128
	3	-0.15 (-0.92, 0.62)	
	6	0.22 (-0.57, 1.01)	
	12	0.75 (-0.05, 1.54)	

La IgA total desciende pronunciadamente entre el diagnóstico y los 3 meses de DSG, disminuyendo su valor medio de 135.30 mg/dL a 91.56 mg/dL en ese periodo. Aumenta en los controles posteriores de forma menos marcada, siendo la media a los 6 meses 95.04 mg/dL y a los 12 meses 101.72 mg/dL. Dicha evolución puede observarse en la Figura 26.

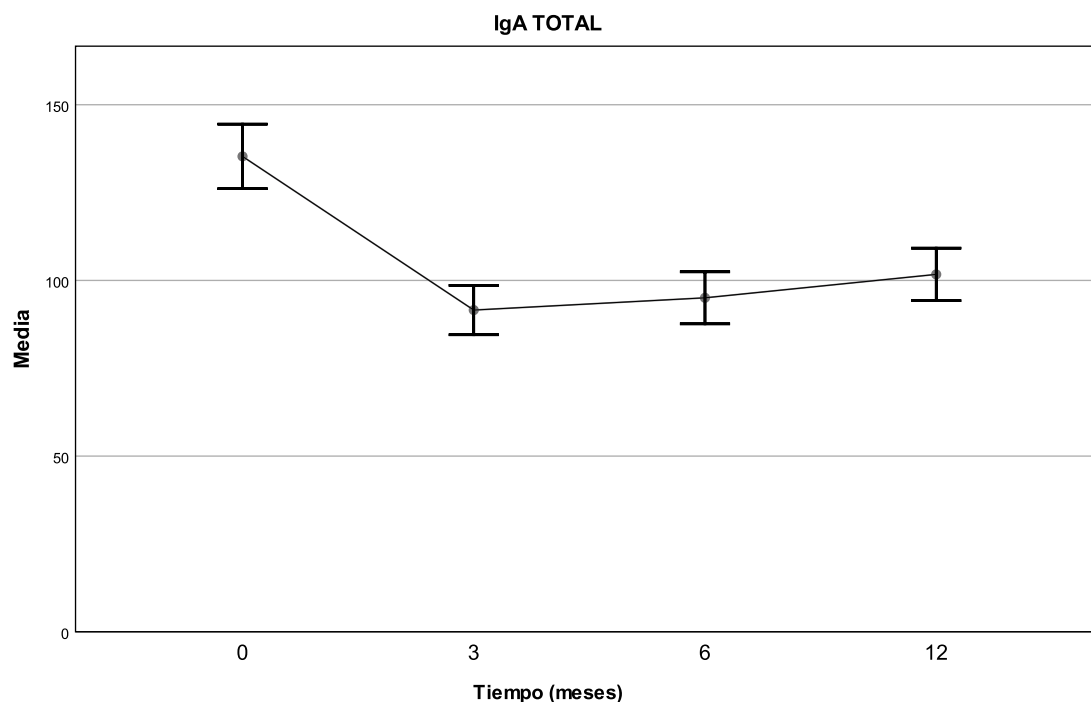


Figura 26. Evolución de la IgA total el primer año de DSG.

En la Tabla 28 se refleja el resultado del modelo mixto aplicado para la variable IgA total, que obtiene un p-valor <0.001. Así, se concluye que los cambios objetivados en el periodo de tiempo analizado son significativos.

Tabla 28. Modelo mixto para la variable IgA total.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
IgAtotal	0	referencia	<0.001
	3	-42.7 (-49.4, -36.0)	
	6	-39.6 (-46.6, -32.7)	
	12	-34.2 (-40.9, -27.6)	

La media del factor de crecimiento insulinoide 1 aumenta entre el diagnóstico y los 3 meses tras la instauración de la DSG, de 102.70 mcg/L a 136.07 mcg/L, manteniéndose más o menos estable entre los 3 y los 6 meses, siendo el valor medio a los 6 meses 134.97 mcg/L, y

elevándose de nuevo posteriormente, de forma que a los 12 meses la media corresponde a 160.82 mcg/L. (Figura 27).

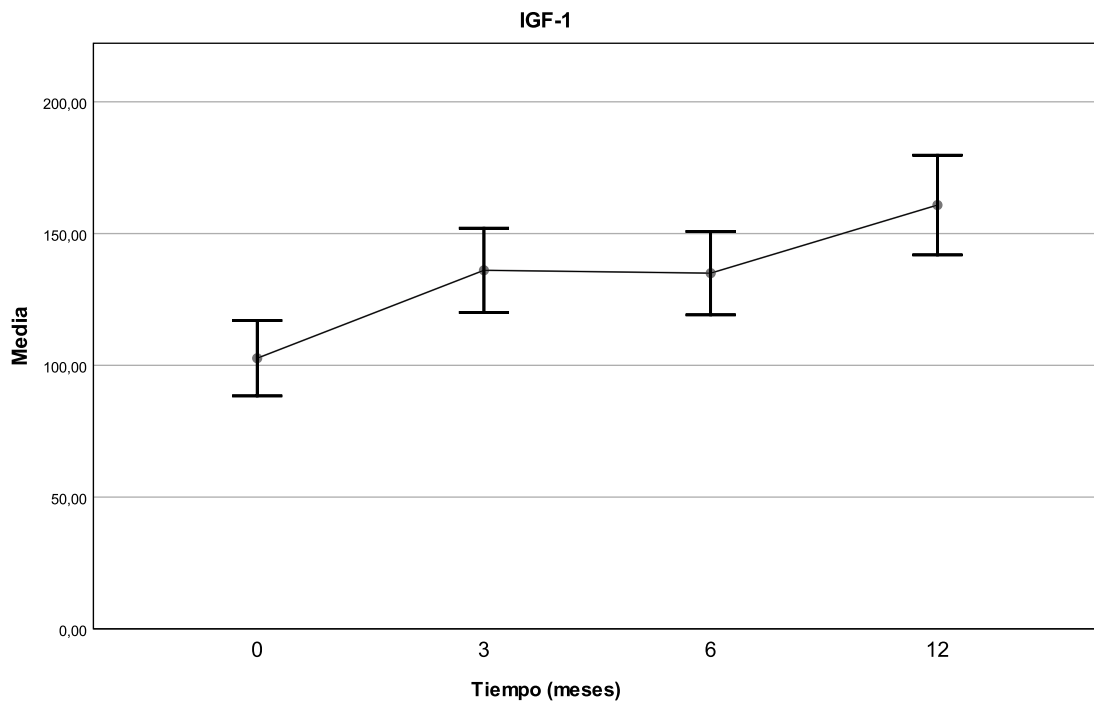


Figura 27. Evolución del IGF-1 el primer año de DSG.

IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1.

La Tabla 29 muestra el resultado de la aplicación del modelo mixto para la variable IGF-1, con el que se obtiene un p-valor <0.001. Concluimos de esta forma que los cambios observados son significativos en el tiempo.

Tabla 29. Modelo mixto para la variable IGF-1.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
IGF-1	0	referencia	<0.001
	3	28.9 (20.3, 37.5)	
	6	37.0 (28.0, 45.9)	
	12	53.2 (44.3, 62.0)	

IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1.

En la Figura 28 se muestra la evolución de la cobalamina durante el primer año de dieta sin gluten. Dicho parámetro se eleva entre el diagnóstico y los 6 meses de DSG, siendo más marcado el aumento que se produce a los 3 meses, y desciende levemente después. Así, los valores medios corresponden a 598.88 ng/L en el momento del diagnóstico, 651.54 ng/L a los 3 meses, 662.77 ng/L a los 6 meses y 640.72 ng/L a los 12 meses.

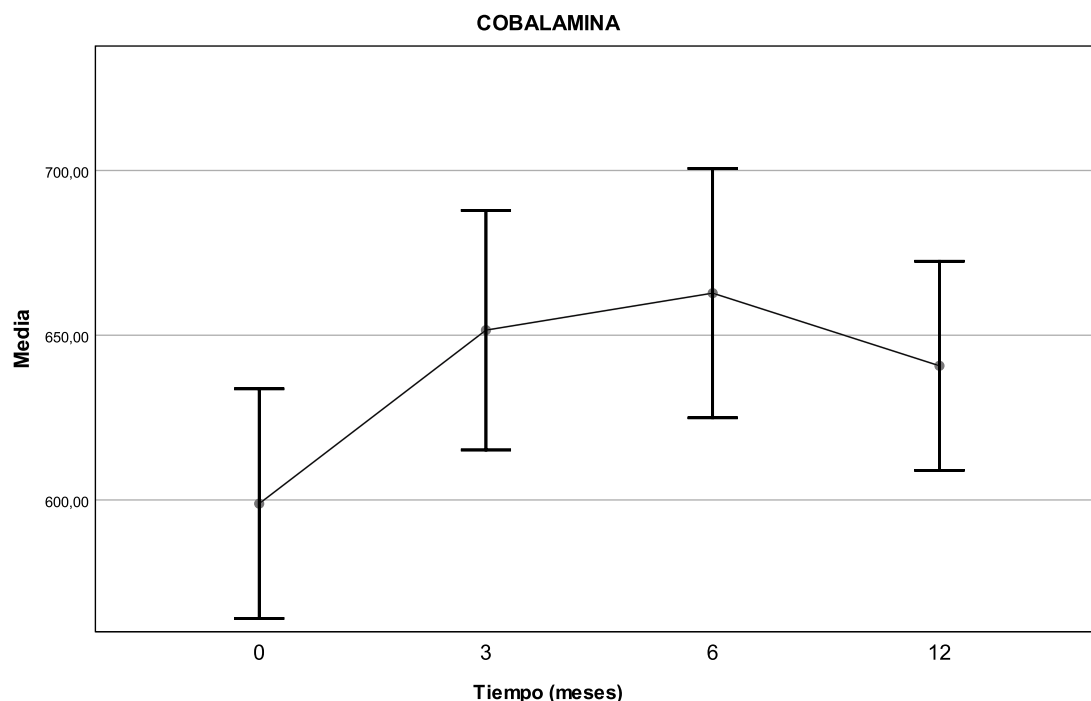


Figura 28. Evolución de la cobalamina el primer año de DSG.

El modelo mixto aplicado en este caso obtiene un p-valor <0.001 , por lo que concluimos que los cambios producidos son significativos en el tiempo. (Tabla 30).

Tabla 30. Modelo mixto para la variable cobalamina.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Cobalamina	0	referencia	<0.001
	3	59.4 (24.0, 94.7)	
	6	69.4 (33.0, 105.8)	
	12	54.4 (17.8, 90.8)	

El folato experimenta un aumento entre el diagnóstico y los 3 meses de dieta sin gluten, siendo su valor medio en estos momentos 10.11 mcg/L y 13.75 mcg/L, respectivamente, manteniéndose más o menos estable en los siguientes controles, en los que la media corresponde a 14.13 mcg/L a los 6 meses y 12.84 mcg/L a los 12 meses de DSG. (Figura 29).

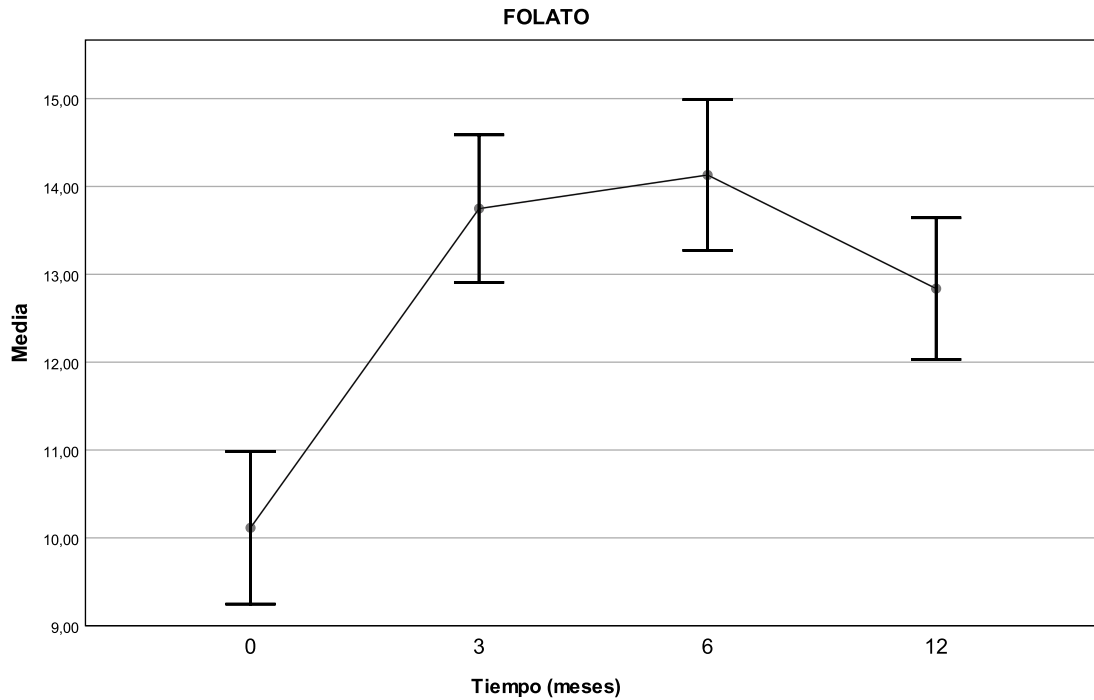


Figura 29. Evolución del folato el primer año de DSG.

La Tabla 31 resume el modelo mixto aplicado para la variable folato, con el que se obtiene un p-valor <0.001. Por tanto, concluimos que los cambios objetivados en el periodo de tiempo analizado son significativos.

Tabla 31. Modelo mixto para la variable folato.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Folato	0	referencia	<0.001
	3	3.9 (2.9, 4.8)	
	6	4.0 (3.0, 5.0)	
	12	2.8 (1.8, 3.8)	

En la Figura 30 se observa cómo la leptina se eleva entre el diagnóstico y los 3 meses de DSG, desciende entre los 3 y los 6 meses y aumenta de nuevo entre los 6 y los 12 meses tras la instauración del tratamiento. Los valores medios en estos momentos corresponden a 2.08 mcg/L, 2.89 mcg/L, 2.29 mcg/L y 3.13 mcg/L, respectivamente.

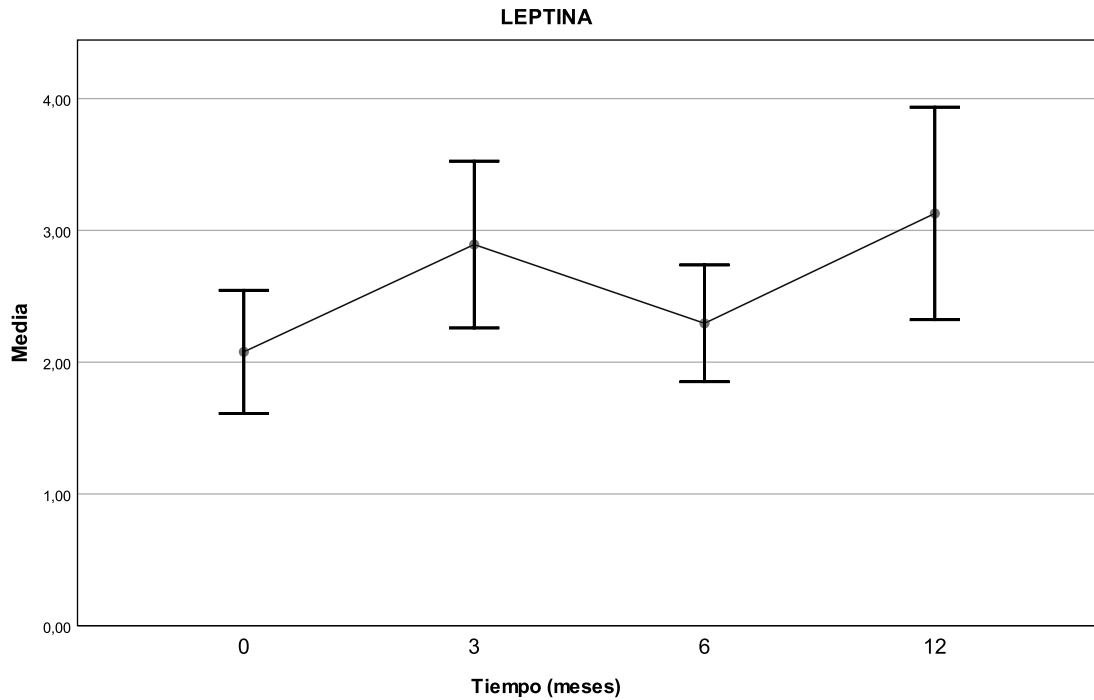


Figura 30. Evolución de la leptina el primer año de DSG.

La aplicación de un modelo mixto para la variable leptina nos permite obtener un p-valor 0.003, por lo que podemos afirmar que los cambios descritos son significativos en el tiempo (Tabla 32).

Tabla 32. Modelo mixto para la variable leptina.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Leptina	0	referencia	0.003
	3	0.56 (0.07, 1.04)	
	6	0.42 (-0.08, 0.92)	
	12	0.94 (0.44, 1.44)	

El calcidiol (Figura 31), tras un aumento inicial de su media entre el diagnóstico de la enfermedad celiaca y los 3 meses de dieta sin gluten, de 32.93 ng/mL a 33.74 ng/mL, desciende posteriormente de forma progresiva, siendo el valor medio a los 6 meses 32.60 ng/mL y a los 12 meses 31.28 ng/mL.

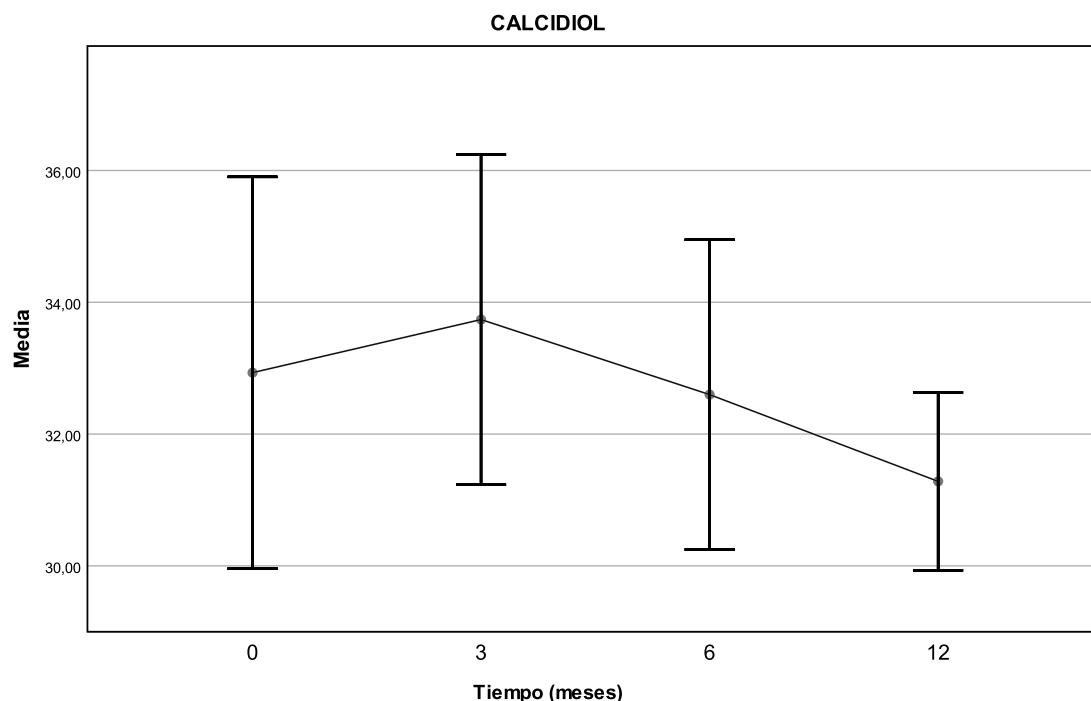


Figura 31. Evolución del calcidiol (25-OH-colecalciferol) el primer año de DSG.

La aplicación del modelo mixto para la variable calcidiol obtiene un p-valor 0.434 (Tabla 33). Es decir, los cambios descritos no son significativos en el periodo de tiempo estudiado.

Tabla 33. Modelo mixto para la variable calcidiol.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Calcidiol	0	referencia	0.434
	3	0.99 (-2.04, 4.03)	
	6	-0.12 (-3.23, 2.98)	
	12	-1.57 (-4.69, 1.54)	

El valor medio de la vitamina E aumenta inicialmente, entre el diagnóstico y los 3 meses de DSG, de 1.13 mg/dL a 1.23 mg/dL, se mantiene en un rango similar a los 3 y 6 meses, siendo la media a los 6 meses 1.21 mg/dL, y desciende a los 12 meses de DSG a 1.09 mg/dL. (Figura 32).

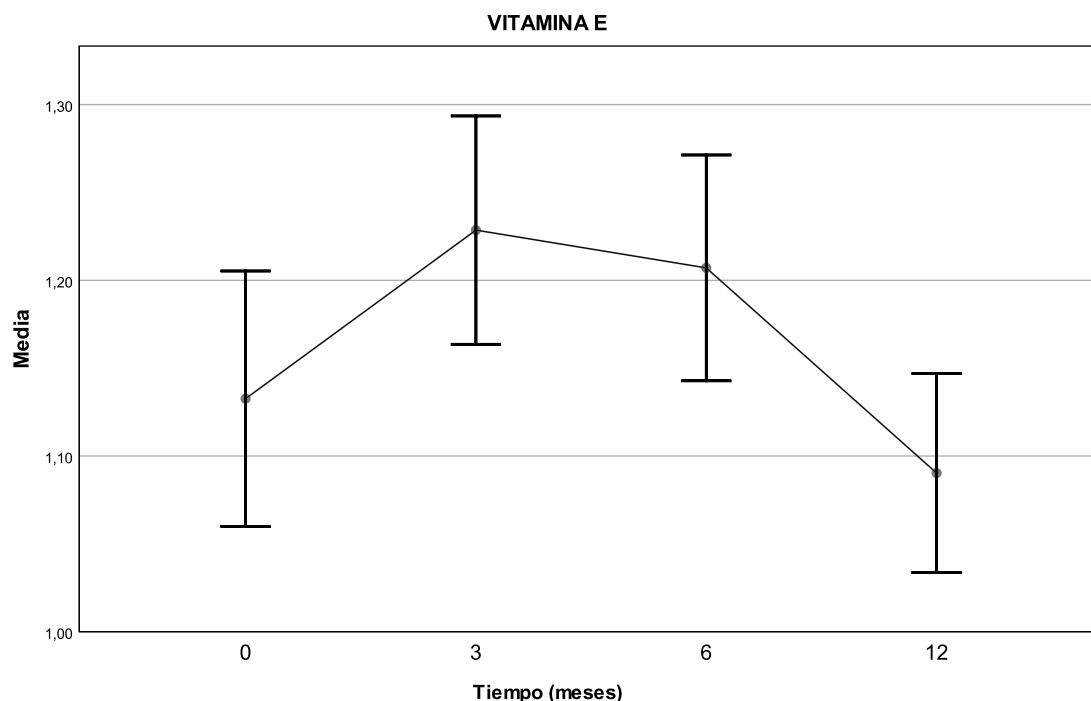


Figura 32. Evolución de la vitamina E (alfa-tocoferol) el primer año de DSG.

La Tabla 34 muestra el resultado del modelo mixto aplicado para la variable vitamina E, que obtiene un p-valor 0.003, lo que nos permite afirmar que los cambios observados son significativos en el tiempo.

Tabla 34. Modelo mixto para la variable vitamina E.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
Vitamina E	0	referencia	0.003
	3	0.10 (0.02, 0.18)	
	6	0.08 (0.02, 0.17)	
	12	-0.04 (-0.13, 0.05)	

6.2.4. Evolución de los valores de las interleukinas durante el primer año de dieta sin gluten

En la mayoría de los pacientes de la muestra, se determinó el valor de la interleukina 6 (IL-6) a los 3, 6 y 12 meses tras el inicio de la dieta sin gluten. En un subgrupo de 40 pacientes escogidos de forma aleatoria se determinaron los valores de IL-4, IL-8, IL-1 β y TNF- α a los 3 y 6 meses tras la instauración de la DSG. La evolución de la media de dichos parámetros y el p-valor obtenido de la aplicación de un modelo mixto que indica si la variable en cuestión tiene un cambio significativo en el tiempo se expresan en la Tabla 35.

Tabla 35. Evolución de las IL durante el primer año (IL-6) y durante los 6 primeros meses (IL-4, IL-8, IL-1 β , TNF- α) tras la instauración de la DSG.

	Diagnóstico	3 meses	6 meses	12 meses	p-valor ¹
IL-6 (pg/mL)	3.53	3.43	3.22	2.89	0.222
IL-4 (pg/mL)	3.92	3.24	3.62	ND	0.771
IL-8 (pg/mL)	78.04	95.70	69.69	ND	0.712
IL-1β (pg/mL)	37.79	36.11	22.53	ND	0.342
TNF-α (pg/mL)	10.47	11.32	9.60	ND	0.546

¹modelo mixto

IL-6: interleukina 6. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1 β : interleukina 1 β , TNF- α : factor de necrosis tumoral α . ND: dato no disponible.

Destacamos en este punto que el 10.9% de los pacientes presentaba niveles elevados de IL-6 al diagnóstico, disminuyendo dicho porcentaje al 6.8% a los 12 meses de dieta sin gluten. Con la excepción de IL-1 β , elevada en el 25% de los pacientes al diagnóstico y en el 23.8% a los 6 meses de DSG, el resto de las interleukinas estudiadas se mantiene por encima de valores normales en el mismo número de pacientes al diagnóstico y durante los 6 primeros meses de tratamiento (IL-4 en el 92.5% de los pacientes, IL-8 en el 90% y TNF- α en el 92.5%).

A continuación, se expresa de forma gráfica la evolución del valor medio de cada una de las interleukinas desde el diagnóstico hasta los 12 meses tras el inicio del tratamiento en el caso de la IL-6 y hasta los 6 meses para las demás citocinas proinflamatorias estudiadas. En las tablas que siguen a cada una de las figuras se resume la aplicación del modelo mixto que pretende establecer si los cambios que se objetivan a lo largo del periodo estudiado son significativos en el tiempo.

La Figura 33 muestra que la IL-6 desciende de forma progresiva desde el diagnóstico a los 12 meses de dieta sin gluten, correspondiendo los valores medios a 3.53 pg/mL en el momento del diagnóstico, 3.43 pg/mL a los 3 meses de DSG, 3.22 pg/mL a los 6 meses y 2.89 pg/mL a los 12 meses.

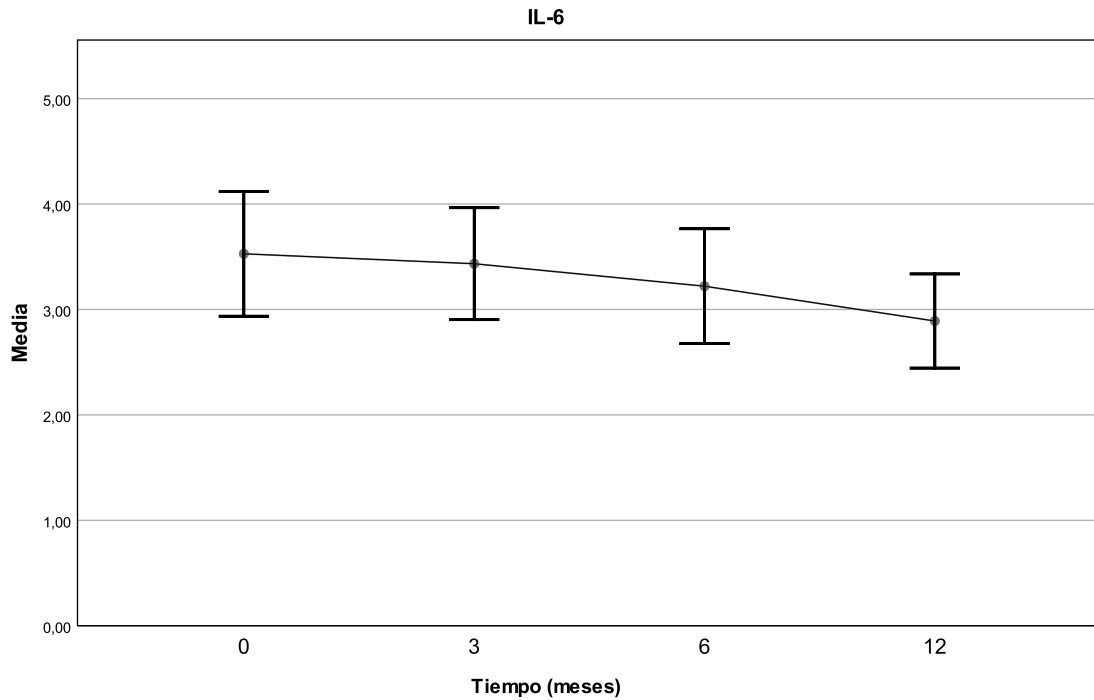


Figura 33. Evolución de la IL-6 el primer año de DSG.

IL-6: interleukina 6.

La aplicación del modelo mixto para la variable IL-6 obtiene un p-valor 0.222, por lo que concluimos que los cambios observados no son significativos en el tiempo. (Tabla 36).

Tabla 36. Modelo mixto para la variable IL-6.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
IL-6	0	referencia	0.222
	3	-0.07 (-0.74, 0.59)	
	6	-0.32 (-1.00, 0.36)	
	12	-0.66 (-1.34, 0.02)	

IL-6: interleukina 6.

La media de la interleukina 4 experimenta un descenso inicial entre el diagnóstico y los 3 meses tras la instauración de la dieta sin gluten, disminuyendo de 3.92 pg/mL a 3.24 pg/mL, y un aumento posterior a los 6 meses, hasta 3.62 pg/mL, tal y como muestra la Figura 34.

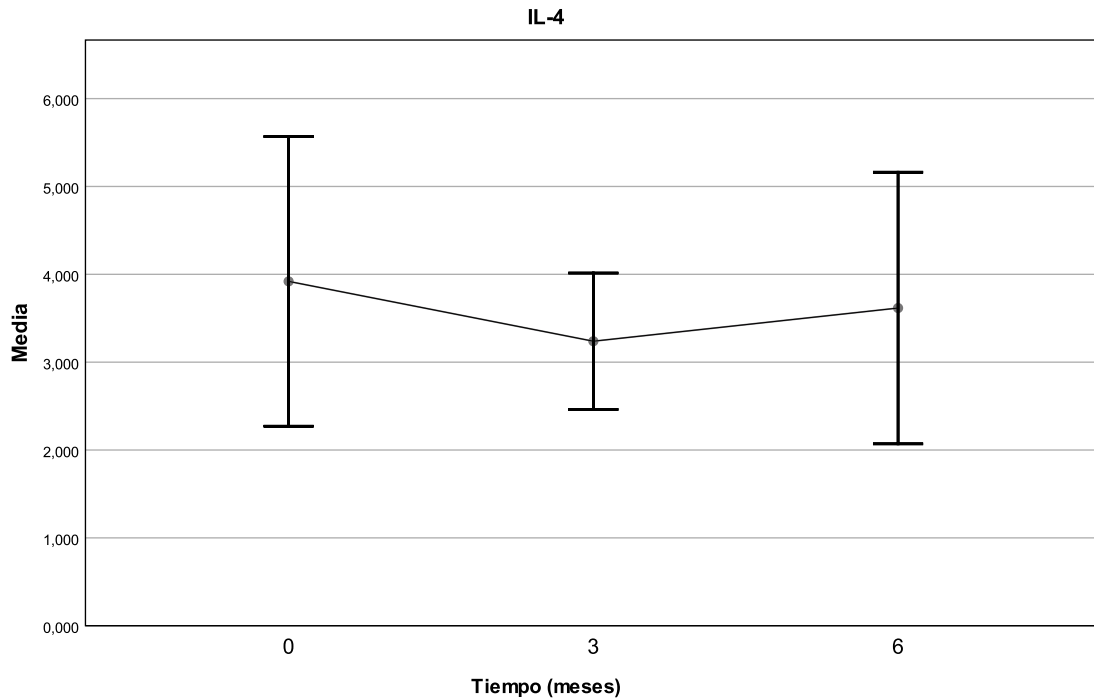


Figura 34. Evolución de la IL-4 los 6 primeros meses de DSG.

IL-4: interleukina 4.

El modelo mixto aplicado para la variable IL-4 obtiene un p-valor 0.771. Por tanto, los cambios descritos no son significativos en el periodo de tiempo analizado. (Tabla 37).

Tabla 37. Modelo mixto para la variable IL-4.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
IL-4	0	referencia	0.771
	3	-0.66 (-2.50, 1.15)	
	6	-0.22 (-2.33, 1.81)	

IL-4: interleukina 4.

El valor medio de la interleukina 8 se eleva entre el diagnóstico y los 3 meses tras el inicio de la dieta sin gluten, de 78.04 pg/mL a 95.70 pg/mL, disminuyendo a los 6 meses a 69.69 pg/mL, tal y como se observa en la Figura 35.

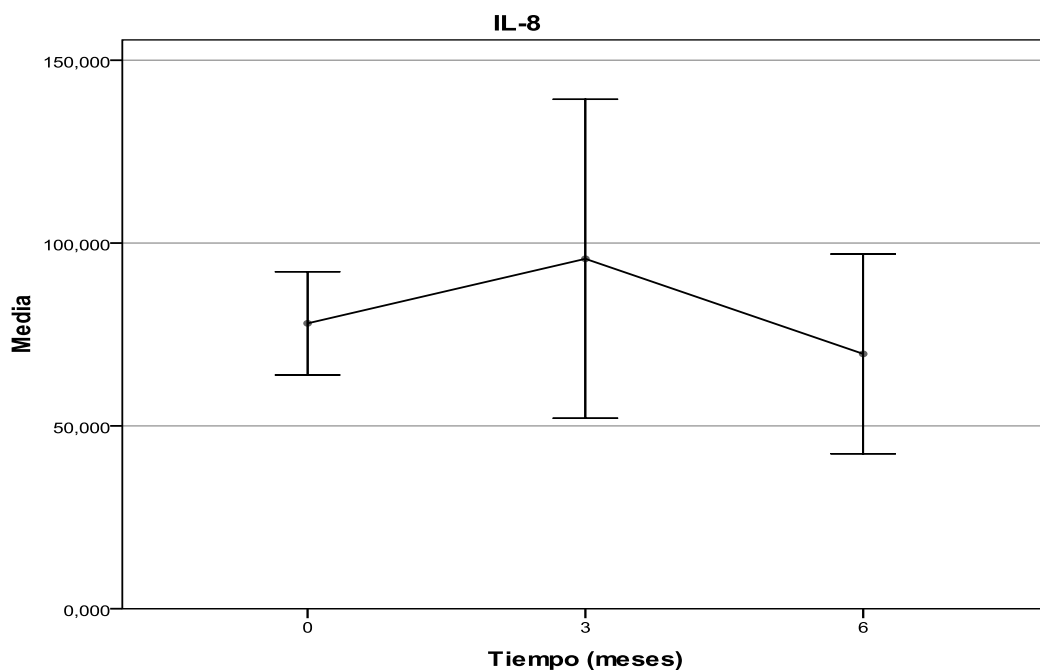


Figura 35. Evolución de la IL-8 los 6 primeros meses de DSG.

IL-8: interleukina 8.

La Tabla 38 muestra el resultado de la aplicación del modelo mixto para la variable IL-8, con el que obtenemos un p-valor 0.712, que nos permite afirmar que los cambios descritos no son significativos en el tiempo.

Tabla 38. Modelo mixto para la variable IL-8.

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
IL-8	0	referencia	0.712
	3	17.8 (-20.6, 55.9)	
	6	-8.2 (-51.4, 34.8)	

IL-8: interleukina 8.

La Figura 36 representa el descenso progresivo que experimenta la media de la interleukina 1β , discreto entre el diagnóstico y los 3 meses tras el inicio de la dieta sin gluten, de 37.79 pg/mL a 36.11 pg/mL, y más marcado entre los 3 y los 6 meses, hasta 22.53 pg/mL.

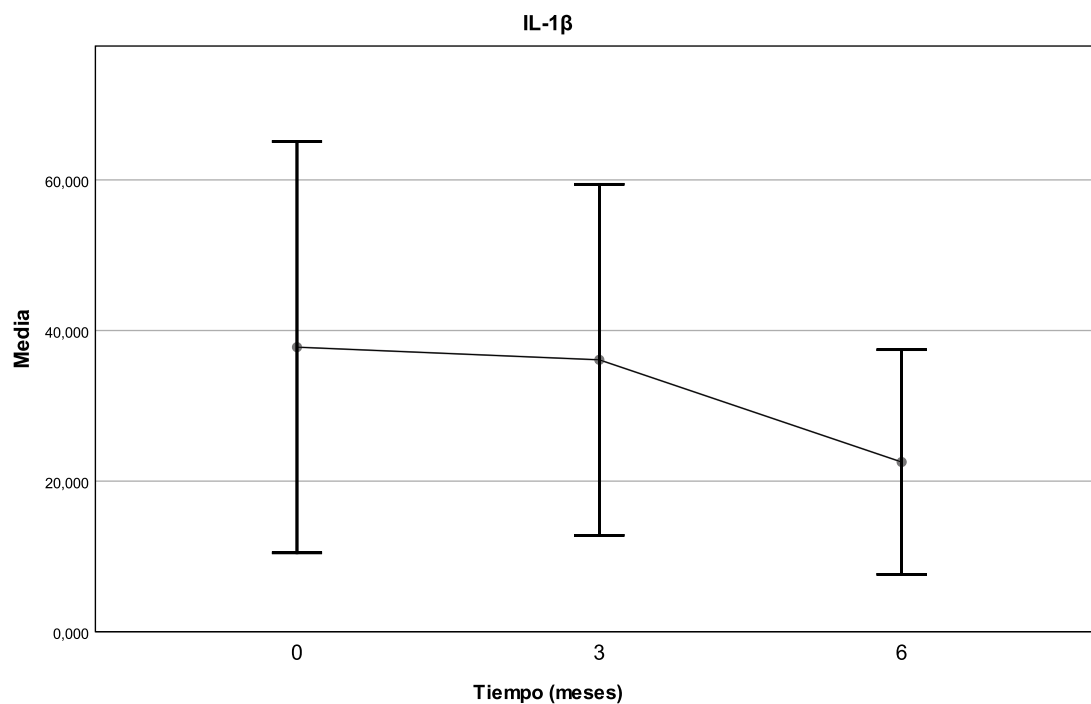


Figura 36. Evolución de la IL-1 β los 6 primeros meses de DSG.

IL-1 β : interleukina 1 β .

La aplicación del modelo mixto para la variable IL-1 β obtiene un p-valor 0.342, que nos indica que los cambios observados no son significativos en el tiempo, tal y como muestra la Tabla 39.

Tabla 39. Modelo mixto para la variable IL-1 β .

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
IL-1 β	0	referencia	0.342
	3	-6.2 (-30.3, 18.1)	
	6	-20.1 (-46.6, 6.7)	

IL-1 β : interleukina 1 β .

La Figura 37 representa la evolución del factor de necrosis tumoral α durante los primeros 6 meses de dieta sin gluten: su valor medio se eleva a los 3 meses, de 10.47 pg/mL a 11.32 pg/mL, descendiendo en el control realizado a los 6 meses a 9.60 pg/mL.

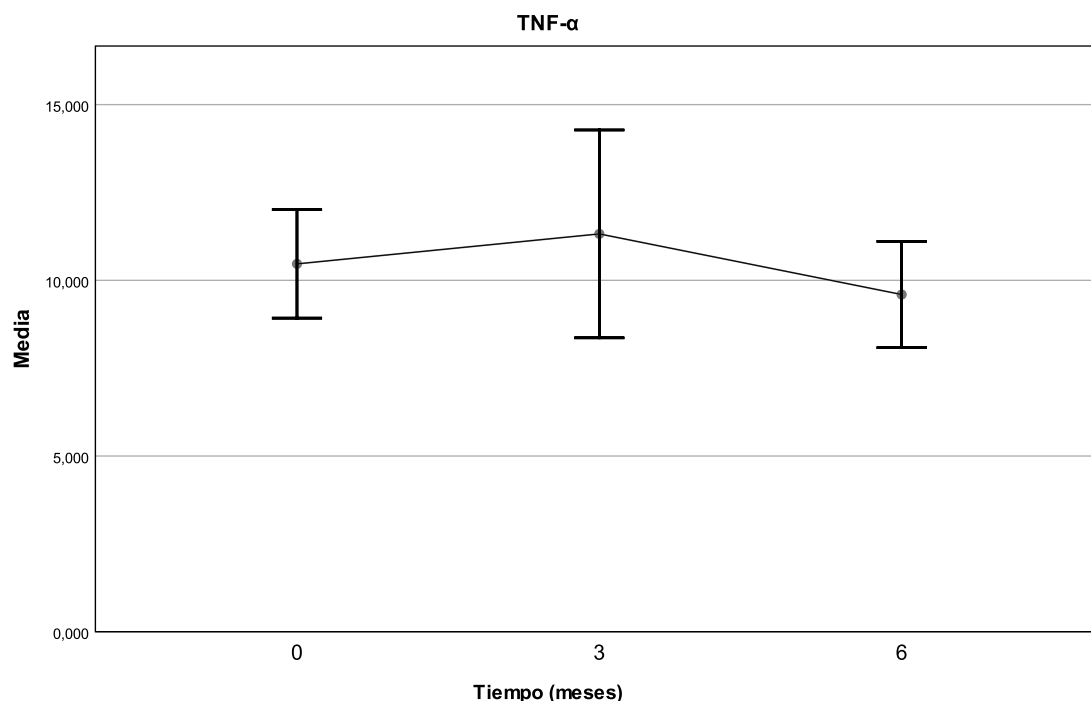


Figura 37. Evolución del TNF- α los 6 primeros meses de DSG.

TNF- α : factor de necrosis tumoral α .

El modelo mixto aplicado para la variable TNF- α da como resultado un p-valor 0.546, por lo que afirmamos que los cambios objetivados no son significativos en el tiempo. (Tabla 40).

Tabla 40. Modelo mixto para la variable TNF- α .

Variable	Mes	Beta (IC95%)	p-valor
TNF- α	0	referencia	0.546
	3	0.87 (-1.77, 3.52)	
	6	-0.88 (-3.93, 2.17)	

TNF- α : factor de necrosis tumoral α .

Por lo tanto, son las interleukinas 6 y 1 β las que, de forma mantenida, experimentan un descenso, desde el diagnóstico a los 12 meses de dieta sin gluten en el caso de IL-6 y entre el diagnóstico y los 6 meses de DSG en el caso de IL-1 β . Los cambios descritos no son, en ningún caso, significativos en el tiempo.

6.3. RESULTADOS ASOCIATIVOS

6.3.1. Presentación clínica

Los pacientes se clasificaron en dos grupos en función de la clínica que presentaban al diagnóstico: por un lado se analizaron los pacientes con clínica clásica y, por otro, los pacientes con clínica no clásica.

En la Tabla 41 se expresan las características de edad, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología, citocinas proinflamatorias, anatomía patológica, linfocitos intraepiteliales y genética de ambos grupos.

En relación a la genética, para todos los estudios asociativos realizados, dividimos a los pacientes en dos grupos, el primero de ellos conformado por los pacientes que portaban DQ2 en homocigosis (DQ2 homocigotos) y el segundo, por los pacientes que portaban otra genética (No DQ2 homocigotos), es decir, pacientes portadores de DQ2 en heterocigosis, DQ2 en trans, medio DQ2, DQ8 pero no DQ2, DQ2 y DQ8 y un paciente que no portaba ningún alelo de riesgo (cuyo diagnóstico se realizó en función de la clínica, la serología, la anatomía patológica, la respuesta clínica a la retirada del gluten de la dieta y la recaída clínica, serológica e histológica tras la provocación con gluten).

Los pacientes con clínica clásica son significativamente más jóvenes (edad media: 39.49 meses) que los que presentan formas no clásicas (edad media: 91.68 meses). En cuanto a la antropometría al diagnóstico, el peso y el IMC son significativamente menores en los niños con clínica clásica (media del z score de peso: -1.02 SDS vs. -0.58 SDS en clínica no clásica, media del z score de IMC: -0.95 SDS vs. -0.51 SDS en clínica no clásica), mientras que no se encuentran diferencias en la talla y el índice nutricional.

El hierro (valor medio: 54.13 mcg/dL en clínica clásica vs. 75.83 mcg/dL en clínica no clásica), el zinc (valor medio: 62.95 mcg/dL en clínica clásica vs. 71.15 mcg/dL en no clásica), el IGF-1 (valor medio: 64.20 mcg/L en clínica clásica vs. 156.85 mcg/L en clínica no clásica) y la leptina (valor medio: 1.34 mcg/L en clínica clásica vs. 3.17 mcg/L en no clásica) son significativamente menores en pacientes con clínica clásica, y los triglicéridos (valor medio: 104.52 mg/dL en clínica clásica vs. 67.08 mg/dL en clínica no clásica) y la transferrina (valor medio: 301.54 mg/dL en clínica clásica vs. 284.41 mg/dl en no clásica) son significativamente mayores en estos pacientes; no se objetivan diferencias significativas entre ambos grupos en el resto de los parámetros bioquímicos estudiados.

En cuanto a la serología al diagnóstico, los pacientes con formas clásicas presentan IgA antigliadina positiva al diagnóstico con más frecuencia que los pacientes con clínica no clásica, dato estadísticamente significativo (entre los pacientes con clínica clásica, el 89.3% presentó AGA positiva al diagnóstico; entre los pacientes con clínica no clásica, dicho porcentaje corresponde al 63.9%), mientras que no hay diferencias en la positividad de los anticuerpos antiendomiso ni en los antitransglutaminasa entre ambos grupos.

Tabla 41. Edad, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología, CK proinflamatorias, anatomía patológica, LIEs y genética de pacientes con clínica clásica y pacientes con clínica no clásica.

Variable	Categoría	Clínica clásica (n=142)	Clínica no clásica (n=115)	p-valor
Edad (meses)	Media (sd)	39.49 (29.94)	91.68 (47.63)	<0.001 ¹
Z score peso	Media (sd)	-1.02 (0.81)	-0.58 (0.87)	<0.001 ¹
Z score talla	Media (sd)	-0.59 (1.03)	-0.42 (1.05)	0.204 ¹
Z score IMC	Media (sd)	-0.95 (0.86)	-0.51 (0.87)	<0.001 ¹
IN	Media (sd)	88.75 (8.67)	90.98 (13.86)	0.125 ¹
Colesterol (mg/dL)	Media (sd)	151.36 (30.25)	156.75 (29.79)	0.175 ¹
TG (mg/dL)	Media (sd)	104.52 (57.71)	67.08 (36.99)	<0.001 ¹
Alb (g/dL)	Media (sd)	4.86 (4.00)	4.63 (0.35)	0.608 ¹
Fe (mcg/dL)	Media (sd)	54.13 (36.83)	75.83 (34.01)	<0.001 ¹
Tf (mg/dL)	Media (sd)	301.54 (57.82)	284.41 (60.75)	0.028 ¹
Zn (mcg/dL)	Media (sd)	62.95 (16.06)	71.15 (13.92)	<0.001 ¹
preAlb (mg/dL)	Media (sd)	17.74 (7.66)	17.88 (3.05)	0.884 ¹
IgA (mg/dL)	Media (sd)	141.99 (81.52)	126.76 (62.23)	0.106 ¹
IGF-1 (mcg/L)	Media (sd)	64.20 (56.34)	156.85 (121.47)	<0.001 ¹
Cobalamina (ng/L)	Media (sd)	572.95 (200.21)	632.95 (293.91)	0.097 ¹
Folato (mcg/L)	Media (sd)	9.54 (5.97)	10.94 (6.10)	0.122 ¹
Leptina (mcg/L)	Media (sd)	1.34 (1.04)	3.17 (4.78)	<0.001 ¹
Calcidiol (ng/mL)	Media (sd)	32.46 (12.80)	33.20 (28.97)	0.810 ¹
Vitamina E (mg/dL)	Media (sd)	1.12 (0.56)	1.15 (0.42)	0.704 ¹
AGA	Positiva	109 (89.3%)	39 (63.9%)	<0.001 ²
	Negativa	13 (10.7%)	22 (36.1%)	

EMA	Positiva	132 (97.1%)	108 (99.1%)	0.385 ²
	Negativa	4 (2.9%)	1 (0.9%)	
IgA anti-tTG	Positiva	138 (97.2%)	114 (99.1%)	0.384 ²
	Negativa	4 (2.8%)	1 (0.9%)	
IL-6 (pg/mL)	Media (sd)	3.60 (3.52)	3.44 (4.98)	0.797 ¹
IL-4 (pg/mL)	Media (sd)	4.36 (6.03)	3.11 (2.79)	0.504 ¹
IL-8 (pg/mL)	Media (sd)	83.62 (47.68)	165.25 (349.48)	0.253 ¹
IL-1β (pg/mL)	Media (sd)	27.97 (46.40)	39.31 (116.43)	0.685 ¹
TNF-α (pg/mL)	Media (sd)	11.57 (5.13)	8.20 (3.77)	0.049¹
Anatomía Patológica	Marsh I, II, IIIa, IIIb	59 (57.3%)	64 (76.2%)	0.007²
	Marsh IIIc	44 (42.7%)	20 (23.8%)	
LIEs	Media (sd)	10.03 (6.12)	8.43 (5.65)	0.081 ¹
CD3+	Media (sd)	94.65 (4.97)	94.35 (6.52)	0.732 ¹
CD3-	Media (sd)	5.36 (4.96)	5.65 (6.52)	0.741 ¹
CD103	Media (sd)	83.00 (14.54)	85.52 (12.39)	0.231 ¹
TCRγδ	Media (sd)	23.27 (11.48)	25.76 (14.80)	0.215 ¹
CD45	Media (sd)	100.00 (0.00)	98.68 (11.36)	0.256 ¹
HLA	DQ2 homocigotos	21 (33.9%)	26 (37.1%)	0.695 ²
	No DQ2 homocigotos	41 (66.1%)	44 (62.9%)	

¹t-test, ²chi-cuadrado

sd: desviación típica. IMC: índice de masa corporal. IN: índice nutricional. TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1. AGA: IgA anti gliadina. EMA: IgA anti endomisio. IgA anti-tTG: IgA anti transglutaminasa tisular. IL-6: interleukina 6. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1β: interleukina 1β. TNF-α: factor de necrosis tumoral α. LIEs: linfocitos intraepiteliales.

Entre las interleukinas, el TNF-α es significativamente mayor en pacientes con clínica clásica (valor medio: 11.57 pg/mL en clínica clásica vs. 8.20 pg/mL en clínica no clásica), no habiendo diferencias en las otras interleukinas determinadas.

De forma significativa, el porcentaje de pacientes con mayor afectación anatomopatológica entre los pacientes con formas clásicas es mayor que el que encontramos

entre los pacientes con formas no clásicas (presentan un Marsh IIIc el 42.7% de los pacientes con clínica clásica y el 23.8% de los pacientes con clínica no clásica). No se encuentran diferencias significativas en los LIEs y sus subpoblaciones entre ambos grupos.

Tampoco existen diferencias significativas en la genética de riesgo.

Se estudió la evolución de los parámetros antropométricos y bioquímicos a los 3, 6 y 12 meses tras la instauración de la dieta sin gluten y la evolución de los valores de las interleukinas a los 3 y a los 6 meses después del inicio del tratamiento en ambos grupos de pacientes. Mediante un modelo general lineal univariante se estudiaron las diferencias en la variación de estos parámetros en los pacientes de los dos grupos descritos, considerando los datos al diagnóstico y a los 12 meses para la antropometría y los parámetros bioquímicos y al diagnóstico y a los 6 meses para las interleukinas. Los resultados de dicho análisis se muestran en las Tablas 42 y 43.

De forma significativa, ajustando por el nivel de partida, la mejoría del z score de peso, el z score de talla, el z score del IMC y el IN, el aumento de los niveles de colesterol y folato, el cambio en los niveles de transferrina y el descenso de IgA total es mayor en los pacientes que debutan con clínica clásica (Tabla 42). No hay diferencias significativas entre ambos grupos en la evolución de los demás parámetros estudiados.

Tabla 42. Modelo general lineal univariante para la forma de presentación clínica.

Variable	Clínica clásica		Clínica no clásica		Beta (IC95%)	p-valor
	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 12 meses de DSG	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 12 meses de DSG		
Z score peso	-1.02 (0.81)	-0.26 (0.86)	-0.58 (0.87)	-0.43 (0.88)	0.48 (0.33-0.62)	<0.001
Z score talla	-0.59 (1.03)	-0.32 (0.97)	-0.42 (1.05)	-0.34 (1.16)	0.14 (0.00-0.27)	0.045
Z score IMC	-0.95 (0.86)	-0.16 (0.88)	-0.51 (0.87)	-0.37 (0.83)	0.48 (0.31-0.66)	<0.001
IN	88.75 (8.67)	96.56 (10.89)	90.98 (13.86)	92.36 (14.20)	5.46 (3.58-7.33)	<0.001
Colesterol (mg/dL)	151.36 (30.25)	162.48 (28.33)	156.75 (29.79)	162.76 (27.18)	4.42 (-2.03-10.88)	<0.001
TG (mg/dL)	104.52 (57.71)	76.04 (35.33)	67.08 (36.99)	59.08 (24.76)	9.16 (-0.39-18.71)	0.060
Alb (g/dL)	4.86 (4.00)	5.19 (4.33)	4.63 (0.35)	4.69 (0.27)	0.49 (-0.56-1.54)	0.359

Fe (mcg/dL)	54.13 (36.83)	78.14 (32.89)	75.83 (34.01)	89.25 (32.33)	-7.21 (-16.65-2.23)	0.134
Tf (mg/dL)	301.54 (57.82)	304.85 (44.91)	284.41 (60.75)	282.57 (44.31)	14.78 (3.32-26.23)	0.012
Zn (mcg/dL)	62.95 (16.06)	73.45 (15.86)	71.15 (13.92)	75.25 (13.34)	-0.17 (-5.19-4.85)	0.947
preAlb (mg/dL)	17.74 (7.66)	17.74 (3.47)	17.88 (3.05)	18.95 (3.67)	-0.97 (-2.09-0.16)	0.091
IgA (mg/dL)	141.99 (81.52)	89.20 (53.48)	126.76 (62.23)	117.02 (59.54)	-35.22 (-47.95-(-22.49))	<0.001
IGF-1 (mcg/L)	64.20 (56.34)	109.51 (89.76)	156.85 (121.47)	211.03 (151.17)	-9.61 (-34.01-14.79)	0.437
Cobalamina (ng/L)	572.95 (200.21)	653.63 (214.67)	632.95 (293.91)	639.85 (240.61)	33.68 (-38.76-106.12)	0.360
Folato (mcg/L)	9.54 (5.97)	14.49 (6.02)	10.94 (6.10)	11.64 (5.29)	2.95 (1.00-4.90)	0.003
Leptina (mcg/L)	1.34 (1.04)	1.79 (2.06)	3.17 (4.78)	3.85 (6.33)	-1.15 (-2.54-0.25)	0.107
Calcidiol (ng/mL)	32.46 (12.80)	31.61 (8.64)	33.20 (28.97)	32.41 (9.97)	-0.39 (-2.97-2.20)	0.769
Vitamina E (mg/dL)	1.12 (0.56)	1.15 (0.44)	1.15 (0.42)	1.06 (0.39)	0.08 (-0.06-0.23)	0.238
IL-6 (pg/mL)	3.60 (3.52)	3.33 (4.09)	3.44 (4.98)	2.45 (1.32)	0.88 (-0.13-1.90)	0.088

sd: desviación típica. IMC: índice de masa corporal. IN: índice nutricional. TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1. IL-6: interleukina 6.

Tabla 43. Modelo general lineal univariante para la forma de presentación clínica: interleukinas.

Variable	Clínica clásica		Clínica no clásica		Beta (IC95%)	p-valor
	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 6 meses de DSG	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 6 meses de DSG		
IL-4 (pg/mL)	4.36 (6.03)	4.42 (4.41)	3.11 (2.79)	2.53 (2.22)	1.85 (-2.05-5.74)	0.331
IL-8 (pg/mL)	83.62 (47.68)	78.86 (73.84)	165.25 (349.48)	53.98 (22.50)	18.21 (-44.32-80.74)	0.546
IL-1β (pg/mL)	27.97 (46.40)	24.40 (38.28)	39.31 (116.43)	19.98 (35.03)	13.70 (-15.30-42.70)	0.332
TNF-α (pg/mL)	11.57 (5.13)	10.34 (3.37)	8.20 (3.77)	8.68 (3.98)	1.61 (-2.26-5.47)	0.393

sd: desviación típica. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1 β : interleukina 1 β . TNF- α : factor de necrosis tumoral α .

6.3.2. Genética

Los pacientes que tenían realizado el estudio de ambos alelos (133 pacientes) fueron clasificados en dos grupos en función de su genotipo de riesgo: pacientes portadores de DQ2 en homocigosis y pacientes con genotipo diferente a DQ2 en homocigosis.

En la Tabla 44 se expresan las características de edad, presentación clínica, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología, citokinas proinflamatorias, anatomía patológica y linfocitos intraepiteliales de ambos grupos.

No hay diferencias significativas en la edad al diagnóstico ni en la forma de presentación clínica entre pacientes portadores de DQ2 en homocigosis y pacientes no portadores. La antropometría al diagnóstico no muestra diferencias significativas entre ambos grupos.

En cuanto a los datos bioquímicos al diagnóstico, sólo la cobalamina es significativamente menor en pacientes portadores de DQ2 en homocigosis (valor medio: 519.31 ng/L), comparando con aquéllos que no lo son (valor medio: 671.92 ng/L).

No hay diferencias significativas en cuanto a la positividad de la serología al diagnóstico.

Tabla 44. Edad, presentación clínica, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología, CK proinflamatorias, anatomía patológica y LIEs de pacientes portadores de DQ2 en homocigosis y pacientes no portadores de DQ2 en homocigosis.

Variable	Categoría	DQ2 homocigotos (n=47)	No DQ2 homocigotos (n=86)	p-valor
Edad (meses)	Media (sd)	67.60 (48.80)	68.33 (47.67)	0.933 ¹
Presentación clínica	Clásica	21 (44.7%)	41 (48.2%)	0.719 ²
	No clásica	26 (55.3%)	44 (51.8%)	
Z score peso	Media (sd)	-0.86 (0.82)	-0.74 (0.81)	0.448 ¹
Z score talla	Media (sd)	-0.38 (0.89)	-0.40 (1.12)	0.943 ¹
Z score IMC	Media (sd)	-0.92 (0.78)	-0.74 (0.86)	0.256 ¹
IN	Media (sd)	87.80 (11.05)	89.86 (10.34)	0.295 ¹
Colesterol (mg/dL)	Media (sd)	154.83 (32.53)	155.16 (31.36)	0.956 ¹
TG (mg/dL)	Media (sd)	78.63 (43.83)	85.72 (59.59)	0.512 ¹
Alb (g/dL)	Media (sd)	4.59 (0.39)	4.55 (0.40)	0.695 ¹
Fe (mcg/dL)	Media (sd)	69.20 (38.91)	64.39 (30.01)	0.446 ¹
Tf (mg/dL)	Media (sd)	282.45 (49.16)	287.30 (67.61)	0.678 ¹
Zn (mcg/dL)	Media (sd)	68.79 (17.95)	69.62 (17.24)	0.826 ¹
preAlb (mg/dL)	Media (sd)	20.47 (12.40)	17.76 (3.00)	0.105 ¹
IgA (mg/dL)	Media (sd)	130.91 (73.50)	137.38 (68.88)	0.620 ¹
IGF-1 (mcg/L)	Media (sd)	102.91 (90.40)	118.98 (99.13)	0.445 ¹
Cobalamina (ng/L)	Media (sd)	519.31 (188.93)	671.92 (293.28)	0.009¹
Folato (mcg/L)	Media (sd)	10.86 (6.41)	10.97 (6.17)	0.938 ¹
Leptina (mcg/L)	Media (sd)	2.58 (2.99)	2.25 (3.43)	0.636 ¹
Calcidiol (ng/mL)	Media (sd)	37.42 (41.37)	31.13 (11.44)	0.264 ¹
Vitamina E (mg/dL)	Media (sd)	1.10 (0.48)	1.10 (0.42)	0.961 ¹

AGA	Positiva	25 (80.6%)	44 (81.5%)	1.000 ²
	Negativa	6 (19.4%)	10 (18.5%)	
EMA	Positiva	43 (97.7%)	82 (98.8%)	1.000 ²
	Negativa	1 (2.3%)	1 (1.2%)	
IgA anti-tTG	Positiva	45 (95.7%)	85 (98.8%)	0.285 ²
	Negativa	2 (4.3%)	1 (1.2%)	
IL-6 (pg/mL)	Media (sd)	3.10 (1.83)	2.81 (1.78)	0.450 ¹
IL-4 (pg/mL)	Media (sd)	1.80 (1.96)	4.24 (3.17)	0.182 ¹
IL-8 (pg/mL)	Media (sd)	96.19 (80.38)	183.21 (382.54)	0.667 ¹
IL-1β (pg/mL)	Media (sd)	135.78 (220.32)	36.58 (79.37)	0.248 ¹
TNF-α (pg/mL)	Media (sd)	5.23 (0.45)	12.55 (4.90)	0.013¹
Anatomía Patológica	Marsh I, II, IIIa, IIIb	2 (9.5%)	5 (9.4%)	1.000 ²
	Marsh IIIc	19 (90.5%)	48 (90.6%)	
LIEs	Media (sd)	10.31 (6.66)	9.22 (5.52)	0.513 ¹
CD3+	Media (sd)	92.31 (5.84)	94.20 (6.91)	0.335 ¹
CD3-	Media (sd)	7.69 (5.84)	5.80 (6.91)	0.335 ¹
CD103	Media (sd)	86.16 (9.04)	83.53 (14.27)	0.481 ¹
TCRγδ	Media (sd)	18.38 (9.32)	24.53 (15.06)	0.121 ¹
CD45	Media (sd)	100 (0.00)	100 (0.00)	

¹t-test, ²chi-cuadrado

sd: desviación típica. IMC: índice de masa corporal. IN: índice nutricional. TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1. AGA: IgA antigliadina. EMA: IgA antiendomiso. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. IL-6: interleukina 6. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1β: interleukina 1β. TNF-α: factor de necrosis tumoral α. LIEs: linfocitos intraepiteliales.

El TNF-α es significativamente mayor en pacientes no homocigotos para DQ2 (valor medio: 12.55 pg/mL vs. 5.23 pg/mL en pacientes portadores de DQ2 en homocigosis), no habiendo diferencias en el resto de las interleukinas estudiadas.

No se han encontrado diferencias significativas en la severidad de la afectación histológica, los LIEs y sus subtipos entre los grupos comparados.

Se estudió en ambos grupos de pacientes la evolución de los parámetros antropométricos y bioquímicos a los 3, 6 y 12 meses tras la instauración de la dieta sin gluten y la evolución de los valores de las interleukinas a los 3 y a los 6 meses después del inicio del tratamiento. Mediante un modelo general lineal univariante se estudiaron las diferencias en la variación de estos parámetros en los pacientes de los dos grupos descritos, considerando los datos al diagnóstico y a los 12 meses para la antropometría y los parámetros bioquímicos y al diagnóstico y a los 6 meses para las interleukinas. Los resultados de dicho análisis se muestran en las Tablas 45 y 46.

Tabla 45. Modelo general lineal univariante para el HLA de riesgo.

Variable	DQ2 homocigotos		No DQ2 homocigotos		Beta (IC95%)	p-valor
	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 12 meses de DSG	Media(sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 12 meses de DSG		
Z score peso	-0.86 (0.82)	-0.42 (0.90)	-0.74 (0.81)	-0.29 (0.89)	-0.01 (-0.26-0.23)	0.919
Z score talla	-0.38 (0.89)	-0.24 (0.91)	-0.40 (1.12)	-0.21 (1.15)	-0.01 (-0.20-0.19)	0.946
Z score IMC	-0.92 (0.78)	-0.49 (0.70)	-0.74 (0.86)	-0.26 (0.89)	0.11 (-0.16-0.39)	0.412
IN	87.80 (11.05)	91.75 (12.89)	89.86 (10.34)	94.78 (12.43)	0.45 (-2.69-3.59)	0.778
Colesterol (mg/dL)	154.83 (32.53)	167.62 (29.89)	155.16 (31.36)	161.97 (30.05)	-6.68 (-15.76-2.39)	0.147
TG (mg/dL)	78.63 (43.83)	62.72 (32.25)	85.72 (59.59)	69.58 (28.51)	5.17 (-7.61-17.95)	0.423
Alb (g/dL)	4.59 (0.39)	4.65 (0.21)	4.55 (0.40)	5.41 (5.84)	0.60 (-1.67-2.87)	0.600
Fe (mcg/dL)	69.20 (38.91)	84.49 (27.59)	64.39 (30.01)	85.69 (34.02)	2.46 (-10.25-15.17)	0.702
Tf (mg/dL)	282.45 (49.16)	296.29 (46.24)	287.30 (67.61)	293.03 (44.30)	-4.99 (-19.49-9.51)	0.496
Zn (mcg/dL)	68.79 (17.95)	82.60 (16.76)	69.62 (17.24)	77.98 (16.26)	-4.50 (-12.79-3.80)	0.283
preAlb (mg/dL)	20.47 (12.40)	18.20 (3.10)	17.76 (3.00)	18.84 (4.33)	0.81 (-0.93-2.55)	0.356

IgA (mg/dL)	130.91 (73.50)	98.76 (69.01)	137.38 (68.88)	115.01 (56.42)	11.51 (-7.71-30.73)	0.238
IGF-1 (mcg/L)	102.91 (90.40)	138.55 (114.32)	118.98 (99.13)	189.93 (137.66)	7.10 (-27.99-42.20)	0.687
Cobalamina (ng/L)	519.31 (188.93)	614.91 (248.66)	671.92 (293.28)	672.43 (196.53)	3.84 (-103.89-111.57)	0.943
Folato (mcg/L)	10.86 (6.41)	13.48 (6.41)	10.97 (6.17)	12.29 (5.81)	-1.25 (-4.41-1.91)	0.433
Leptina (mcg/L)	2.58 (2.99)	2.35 (3.27)	2.25 (3.43)	4.46 (7.51)	1.89 (-1.00-4.77)	0.196
Calcidiol (ng/mL)	37.42 (41.37)	33.44 (13.12)	31.13 (11.44)	31.50 (7.03)	0.77 (-2.53-4.08)	0.642
Vitamina E (mg/dL)	1.10 (0.48)	1.03 (0.32)	1.10 (0.42)	1.04 (0.51)	0.04 (-0.19-0.27)	0.740
IL-6 (pg/mL)	3.10 (1.83)	2.28 (0.95)	2.81 (1.78)	2.85 (3.66)	0.80 (-0.46-2.05)	0.210

sd: desviación típica. IMC: índice de masa corporal. IN: índice nutricional. TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1. IL-6: interleukina 6.

Tabla 46. Modelo general lineal univariante para el HLA de riesgo: interleukinas.

Variable	DQ2 homocigotos		No DQ2 homocigotos		Beta (IC95%)	p-valor
	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 6 meses de DSG	Media(sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 6 meses de DSG		
IL-4 (pg/mL)	1.80 (1.96)	3.91 (5.90)	4.24 (3.17)	2.29 (2.20)	-2.05 (-11.89-7.79)	0.594
IL-8 (pg/mL)	96.19 (80.38)	107.26 (113.92)	183.21 (382.54)	82.88 (82.75)	-58.27 (-244.63-128.09)	0.434
IL-1β (pg/mL)	135.78 (220.32)	35.60 (48.52)	36.58 (79.37)	10.74 (6.87)	2.67 (-17.66-23.01)	0.704
TNF-α (pg/mL)	5.23 (0.45)	9.28 (8.43)	12.55 (4.90)	9.73 (2.07)	-2.08 (-20.28-16.11)	0.767

sd: desviación típica. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1 β : interleukina 1 β . TNF- α : factor de necrosis tumoral α .

No se encontraron diferencias significativas en la evolución de la antropometría, los parámetros bioquímicos estudiados y las IL entre ambos grupos de pacientes.

6.3.3. IgA antitransglutaminasa tisular

Se clasificó a los pacientes en dos grupos en función del valor de IgA antitransglutaminasa tisular que presentaban al diagnóstico: pacientes con IgA anti-tTG más de 10 veces por encima del valor de corte (157) y pacientes con IgA anti-tTG por debajo de dicho valor (101).

En la Tabla 47 se expresan las características de edad, presentación clínica, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología (anticuerpos antigliadina y antiendomiso), citocinas proinflamatorias, anatomía patológica, linfocitos intraepiteliales y genética de ambos grupos.

Los pacientes con IgA anti-tTG >10 veces el valor de corte tienen una edad al diagnóstico significativamente menor que aquéllos con valores menores (edad media: 56.85 meses vs. 72.53 meses, respectivamente). De forma significativa, presentan con más frecuencia una clínica clásica (65.4% vs. 39.6%). No se han encontrado diferencias significativas en los datos antropométricos al diagnóstico entre ambos grupos.

De forma significativa, los niveles de colesterol, hierro, zinc y folato fueron menores en pacientes con IgA anti-tTG >10 veces el valor de corte, mientras que los niveles de transferrina fueron mayores. Concretamente, el valor medio de colesterol en pacientes con IgA anti-tTG >10 veces el valor de corte corresponde a 150.28 mg/dL, mientras que en pacientes con IgA anti-tTG <10 veces el valor de corte es 159.60 mg/dL; los valores medios del hierro son 59.23 mcg/dL y 69.58 mcg/dL; los del zinc, 64.05 mcg/dL y 71.12 mcg/dL; los del folato, 9.06 mcg/L y 12.34 mcg/L; los de la transferrina, 304.83 mg/dL y 277.14 mg/dL, respectivamente.

La positividad de los anticuerpos antigliadina y antiendomiso es de forma significativa más frecuente en los pacientes con IgA anti-tTG >10 veces el valor de corte. El 90.9% de los pacientes con IgA anti-tTG >10 veces el valor de corte presenta AGA positivos al diagnóstico, frente al 61.9% de los pacientes con niveles por debajo de 10 veces el valor de corte. El 100% de los pacientes con títulos de IgA anti-tTG por encima de 10 veces el valor de corte presenta EMA positivos, en comparación con el 94.7% de los pacientes con IgA anti-tTG <10 veces el valor de corte.

No se han encontrado diferencias en cuanto al valor de las interleukinas en función del valor de IgA anti-tTG al diagnóstico.

Tabla 47. Edad, presentación clínica, antropometría, parámetros bioquímicos nutricionales, serología (AGA y EMA), CK proinflamatorias, anatomía patológica, LIEs y genética de pacientes con IgA anti-tTG mayor y menor de 10 veces el valor de corte.

Variable	Categoría	IgA anti-tTG >10 veces valor de corte (n=157)	IgA anti-tTG <10 veces valor de corte (n=101)	p-valor
Edad (meses)	Media (sd)	56.85 (44.70)	72.53 (48.23)	0.008¹
Presentación clínica	Clásica	102 (65.4%)	40 (39.6%)	<0.001²
	No clásica	54 (34.6%)	61 (60.4%)	
Z score peso	Media (sd)	-0.86 (0.85)	-0.78 (0.88)	0.461 ¹
Z score talla	Media (sd)	-0.58 (1.06)	-0.43 (1.01)	0.294 ¹
Z score IMC	Media (sd)	-0.75 (0.90)	-0.76 (0.88)	0.899 ¹
IN	Media (sd)	90.12 (11.37)	89.06 (11.33)	0.472 ¹
Colesterol (mg/dL)	Media (sd)	150.28 (29.16)	159.60 (30.81)	0.022¹
TG (mg/dL)	Media (sd)	93.43 (54.24)	78.70 (50.01)	0.050 ¹
Alb (g/dL)	Media (sd)	4.83 (3.73)	4.63 (0.32)	0.665 ¹
Fe (mcg/dL)	Media (sd)	59.23 (38.44)	69.58 (34.41)	0.036¹
Tf (mg/dL)	Media (sd)	304.83 (59.65)	277.14 (55.30)	<0.001¹
Zn (mcg/dL)	Media (sd)	64.05 (15.77)	71.12 (14.63)	0.004¹
preAlb (mg/dL)	Media (sd)	17.88 (7.05)	17.54 (3.85)	0.728 ¹
IgA (mg/dL)	Media (sd)	142.36 (76.56)	124.52 (68.15)	0.061 ¹
IGF-1 (mcg/L)	Media (sd)	96.75 (102.79)	115.47 (92.70)	0.231 ¹
Cobalamina (ng/L)	Media (sd)	585.12 (219.21)	628.68 (290.24)	0.254 ¹
Folato (mcg/L)	Media (sd)	9.06 (5.85)	12.34 (5.85)	<0.001¹
Leptina (mcg/L)	Media (sd)	1.98 (3.19)	2.31 (3.41)	0.522 ¹
Calcidiol (ng/mL)	Media (sd)	32.27 (23.44)	34.41 (13.26)	0.513 ¹
Vitamina E (mg/dL)	Media (sd)	1.10 (0.54)	1.20 (0.42)	0.216 ¹

AGA	Positiva	110 (90.9%)	39 (61.9%)	<0.001²
	Negativa	11 (9.1%)	24 (38.1%)	
EMA	Positiva	151 (100%)	90 (94.7%)	0.008²
	Negativa	0 (0%)	5 (5.3%)	
IL-6 (pg/mL)	Media (sd)	3.67 (4.33)	3.22 (3.81)	0.280 ¹
IL-4 (pg/mL)	Media (sd)	3.49 (5.47)	5.49 (3.18)	0.857 ¹
IL-8 (pg/mL)	Media (sd)	79.70 (47.07)	70.94 (25.35)	0.096 ¹
IL-1β	Media (sd)	31.75 (61.45)	58.19 (134.38)	0.090 ¹
TNF-α (pg/mL)	Media (sd)	10.65 (4.82)	9.76 (5.44)	0.800 ¹
Anatomía Patológica	Marsh I, II, IIIa, IIIb	6 (30%)	14 (70.0%)	0.001²
	Marsh IIIc	119 (70.4%)	50 (29.6%)	
LIEs	Media (sd)	9.23 (5.05)	9.63 (7.52)	0.677 ¹
CD3+	Media (sd)	94.92 (5.27)	93.71 (6.52)	0.209 ¹
CD3-	Media (sd)	5.09 (5.27)	6.29 (6.52)	0.212 ¹
CD103	Media (sd)	84.39 (12.44)	83.66 (15.93)	0.743 ¹
TCRγδ	Media (sd)	24.22 (12.44)	24.37 (14.33)	0.944 ¹
CD45	Media (sd)	100.00 (0.00)	98.22 (13.17)	0.147 ¹
HLA	DQ2 homocigotos	22 (35.5%)	25 (35.2%)	0.559 ²
	No DQ2 homocigotos	40 (64.5%)	46 (64.8%)	

¹t-test, ²chi-cuadrado

sd: desviación típica. IMC: índice de masa corporal. IN: índice nutricional. TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1. AGA: IgA anti gliadina. EMA: IgA anti endomisio. IgA anti-tTG: IgA anti transglutaminasa tisular. IL-6: interleukina 6. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1β: interleukina 1β. TNF-α: factor de necrosis tumoral α. LIEs: linfocitos intraepiteliales.

Los pacientes con niveles de IgA anti-tTG >10 veces el valor de corte presentan mayor afectación anatomopatológica al diagnóstico que aquéllos con niveles menores. En concreto, en el 70.4% de los pacientes con títulos de IgA anti-tTG >10 veces el valor de corte se describe un Marsh IIIc en la biopsia diagnóstica, mientras que esto sólo ocurre en el 29.6% de los pacientes con IgA anti-tTG <10 veces el valor de corte. No se han encontrado diferencias

significativas en el valor de los linfocitos intraepiteliales y sus subtipos al diagnóstico entre ambos grupos.

En cuanto a la genética, no hay diferencias significativas en el porcentaje de pacientes portadores de DQ2 en homocigosis en función del nivel de IgA anti-tTG al diagnóstico.

Se estudió en ambos grupos de pacientes la evolución de los parámetros antropométricos y bioquímicos a los 3, 6 y 12 meses tras la instauración de la dieta sin gluten y la evolución de los valores de las interleukinas a los 3 y a los 6 meses después del inicio del tratamiento. Mediante un modelo general lineal univariante se estudiaron las diferencias en la variación de estos parámetros en los pacientes de los dos grupos descritos, considerando los datos al diagnóstico y a los 12 meses para la antropometría y los parámetros bioquímicos y al diagnóstico y a los 6 meses para las interleukinas. Los resultados de dicho análisis se muestran en las Tablas 48 y 49.

Ajustando por el nivel de partida, el aumento del z score de peso y el descenso de los niveles de IgA total es significativamente mayor en pacientes cuyo valor de IgA anti-tTG al diagnóstico es mayor de 10 veces el valor de corte. El aumento de los valores de zinc, en cambio, es significativamente mayor en pacientes con IgA anti-tTG al diagnóstico menor de 10 veces el valor de corte. No se encontraron diferencias entre ambos grupos en la evolución del resto de los parámetros estudiados.

Tabla 48. Modelo general lineal univariante para la IgA anti-tTG.

Variable	IgA anti-tTG >10 veces valor de corte		IgA anti-tTG <10 veces valor de corte		Beta (IC95%)	p-valor
	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 12 meses de DSG	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 12 meses de DSG		
Z score peso	-0.86 (0.85)	-0.30 (0.83)	-0.78 (0.88)	-0.39 (0.93)	-0.18 (-0.34-(-0.24))	0.024
Z score talla	-0.58 (1.06)	-0.34 (1.04)	-0.43 (1.01)	-0.31 (1.08)	-0.11 (-0.25-0.02)	0.105
Z score IMC	-0.75 (0.90)	-0.18 (0.85)	-0.76 (0.88)	-0.35 (0.88)	-0.18 (-0.36-0.00)	0.053
IN	90.12 (11.37)	95.67 (11.52)	89.06 (11.33)	93.28 (14.02)	-1.73 (-3.76-0.29)	0.093
Colesterol (mg/dL)	150.28 (29.16)	159.73 (25.17)	159.60 (30.81)	167.58 (32.00)	2.96 (-3.77-9.68)	0.387
TG (mg/dL)	93.43 (54.24)	71.14 (33.45)	78.70 (50.01)	63.95 (29.42)	-3.80 (-13.20-5.60)	0.426

Alb (g/dL)	4.83 (3.73)	5.13 (3.96)	4.63 (0.32)	4.64 (0.28)	-0.49 (-1.60-0.63)	0.391
Fe (mcg/dL)	59.23 (38.44)	82.31 (35.47)	69.58 (34.41)	83.46 (28.59)	-1.01 (-10.39-8.38)	0.833
Tf (mg/dL)	304.83 (59.65)	300.01 (46.34)	277.14 (55.30)	287.78 (44.31)	1.43 (-10.88-13.73)	0.819
Zn (mcg/dL)	64.05 (15.77)	71.09 (12.44)	71.12 (14.63)	80.76 (17.29)	8.50 (3.42-13.58)	0.001
preAlb (mg/dL)	17.88 (7.05)	18.23 (3.54)	17.54 (3.85)	18.32 (3.76)	0.05 (-1.14-1.24)	0.935
IgA (mg/dL)	142.36 (76.56)	91.46 (48.09)	124.52 (68.15)	116.38 (67.75)	30.57 (17.45-43.69)	<0.001
IGF-1 (mcg/L)	96.75 (102.79)	150.99 (130.06)	115.47 (92.70)	161.76 (132.93)	-10.19 (-33.72-13.33)	0.393
Cobalamina (ng/L)	585.12 (219.21)	651.63 (235.04)	628.68 (290.24)	639.78 (206.10)	-15.52 (-91.50-60.45)	0.687
Folato (mcg/L)	9.06 (5.85)	13.64 (6.22)	12.34 (5.85)	12.46 (5.07)	-1.55 (-3.73-0.63)	0.162
Leptina (mcg/L)	1.98 (3.19)	2.41 (3.38)	2.31 (3.41)	3.30 (6.41)	0.45 (-1.02-1.91)	0.548
Calcidiol (ng/mL)	32.27 (23.44)	32.15 (9.87)	34.41 (13.26)	31.52 (7.68)	-1.32 (-4.05-1.42)	0.343
Vitamina E (mg/dL)	1.10 (0.54)	1.12 (0.38)	1.20 (0.42)	1.09 (0.50)	-0.03 (-0.18-0.12)	0.656
IL-6 (pg/mL)	3.67 (4.33)	3.01 (3.62)	3.22 (3.81)	2.82 (2.18)	-0.13 (-1.21-0.96)	0.817

sd: desviación típica. IMC: índice de masa corporal. IN: índice nutricional. TG: triglicéridos. Alb: albúmina. Fe: hierro. Tf: transferrina. Zn: zinc. preAlb: prealbúmina. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. IL-6: interleukina 6.

Tabla 49. Modelo general lineal univariante para la IgA anti-tTG: interleukinas.

Variable	IgA anti-tTG >10 veces valor de corte		IgA anti-tTG <10 veces valor de corte		Beta (IC95%)	p-valor
	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 6 meses de DSG	Media (sd) al diagnóstico	Media (sd) a los 6 meses de DSG		
IL-4 (pg/mL)	3.49 (5.47)	4.12 (4.17)	5.49 (3.18)	2.31 (1.64)	-2.49 (-7.49-2.51)	0.309
IL-8 (pg/mL)	79.70 (47.07)	79.43 (64.00)	220.88 (424.71)	33.14 (23.42)	-48.85 (-117.41-19.72)	0.150
IL-1β (pg/mL)	31.75 (61.45)	21.33 (36.29)	58.19 (134.38)	29.25 (41.44)	-13.17 (-48.07-21.74)	0.436
TNF-α (pg/mL)	10.65 (4.82)	10.01 (3.62)	9.76 (5.44)	8.83 (3.69)	-1.20 (-5.54-3.13)	0.567

sd: desviación típica. IL-4: interleukina 4. IL-8: interleukina 8. IL-1 β : interleukina 1 β . TNF- α : factor de necrosis tumoral α .

6.3.4. Análisis de conglomerados

Basándonos en los resultados de los estudios estadísticos evolutivos y asociativos expuestos con anterioridad, se seleccionaron las variables más significativas para establecer unas hipótesis de agrupación de pacientes con características similares en el momento del diagnóstico clínico. Para ello, se hizo un análisis de conglomerados o clústers de k-medias. En este análisis, se intentan establecer grupos de pacientes que sean lo más homogéneos posibles entre sí en las variables analizadas y, a su vez, lo más diferentes posibles del resto de grupos establecidos, analizando después las variables que más caracterizan a los grupos creados. Se consideraron dos, tres y cuatro grupos y en el agrupamiento se incluyeron las variables edad, z score de peso, z score de IMC, IgA antitransglutaminasa tisular, hierro, zinc, folato e interleukina 6.

En este análisis se tuvieron en cuenta los pacientes de la muestra con observaciones en todas las variables analizadas (n=176).

Los datos descriptivos de esta muestra se resumen en la Tabla 50, indicando para cada variable la media, la mediana, el rango intercuartil y los valores mínimo y máximo.

Tabla 50. Datos descriptivos de la muestra para el análisis de conglomerados.

	Media	Mediana	Rango intercuartil	Valor mínimo	Valor máximo
Edad al diagnóstico (meses)	59.36	41.50	23.75 - 81.25	10.00	176.00
Z score peso	-0.84	-0.89	-1.38 - (-0.37)	-2.79	2.13
Z score IMC	-0.77	-0.82	-1.30 - (-0.26)	-2.66	3.02
IgA anti-tTG	19.77	18.62	8.16 - 28.40	0.01	65.48
Fe (mcg/dL)	60.70	54.00	35.00 - 83.00	8.00	186.00
Zn (mcg/dL)	65.91	64.50	56.00 - 74.00	34.00	117.00
Folato (mcg/L)	10.10	8.41	5.60 - 13.15	0.71	24.00
IL-6 (pg/mL)	3.59	2.00	2.00 - 2.93	2.00	36.20

IMC: índice de masa corporal. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. Fe: hierro. Zn: zinc. IL-6: interleukina 6.

6.3.4.1. Análisis en dos clústers

El análisis en dos clústers queda reflejado de forma gráfica en la Figura 38, que representa gráficos de dispersión por parejas de variables. Los colores denotan los dos grupos establecidos, correspondiendo el color negro al que denominaremos Grupo 1 y el color rojo al que denominaremos Grupo 2.

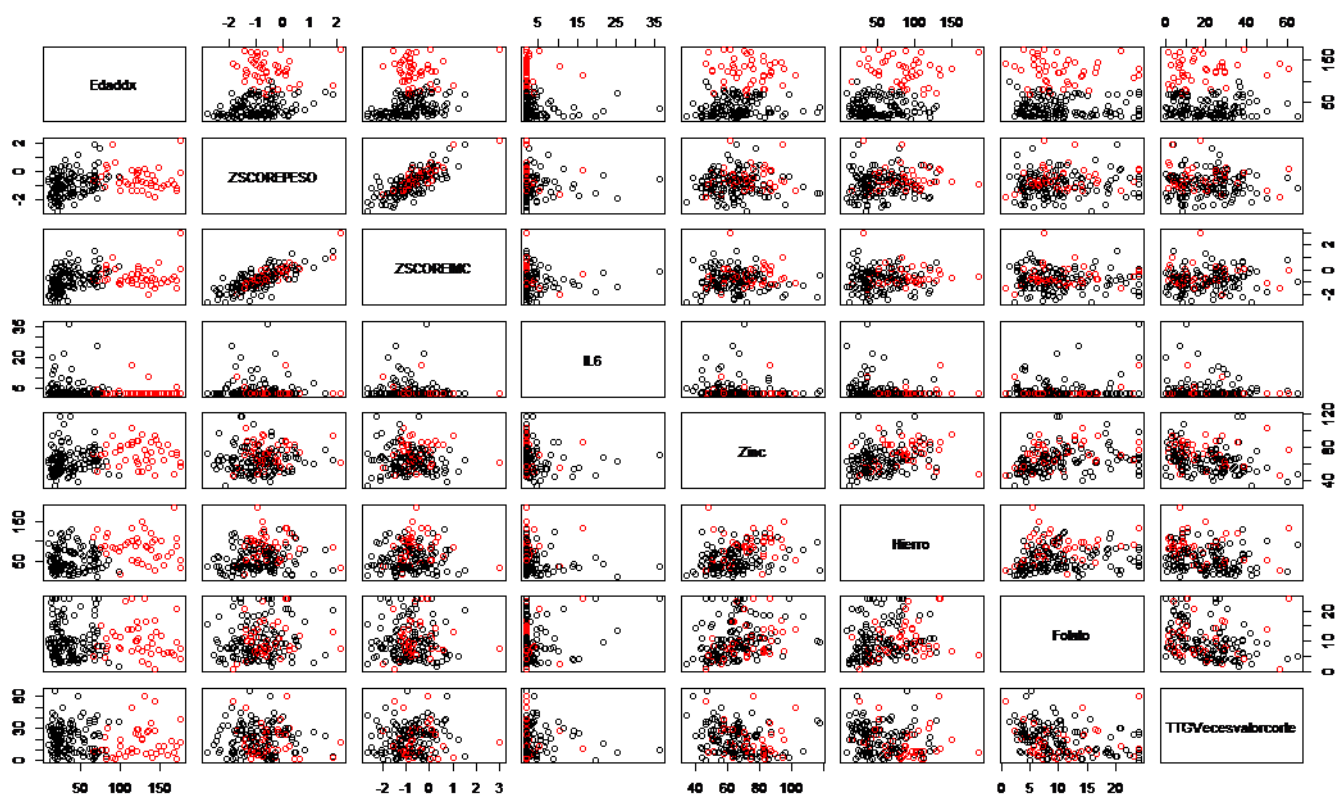


Figura 38. Distribución en dos clústers.

Las medias de las variables en cada uno de los grupos conformados se resumen en la Tabla 51.

Tabla 51. Medias de las variables en la agrupación en dos clústers.

	Edad al diagnóstico (meses)	Z score peso	Z score IMC	IgA anti-tTG	Fe (mcg/dL)	Zn (mcg/dL)	Folato (mcg/L)	IL-6 (pg/mL)
Grupo 1	37.05	-0.93	-0.84	20.47	52.64	63.76	10.04	3.90
Grupo 2	124.31	-0.56	-0.58	17.72	84.18	72.18	10.30	2.69

IMC: índice de masa corporal. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. Fe: hierro. Zn: zinc. IL-6: interleukina 6.

La varianza explicada con estos dos clústers es 47.3%.

Analizando las medias de las variables en los dos clústers, se observa que hay diferencias notables en la edad al diagnóstico, 37.05 meses en el Grupo 1 frente a 124.31 meses en el Grupo 2, el hierro, 52.6 mcg/dL frente a 84.18 mcg/dL, y la IL-6, 3.90 pg/mL frente a 2.69 pg/mL. Hay ciertas diferencias en los z scores, tanto de peso como de IMC, y en el zinc,

y muy pequeñas o inexistentes en la IgA anti-tTG y el folato. La clasificación que puede establecerse a través de estos clústers es, por un lado (Grupo 1), pacientes con edad al diagnóstico baja, mayor afectación del peso y del IMC, hierro y zinc bajos e IL-6 elevada, y, por otro (Grupo 2), pacientes con edad de debut alta, menor afectación del peso y del IMC, hierro y zinc más elevados e IL-6 más baja.

6.3.4.2. Análisis en tres clústers

El análisis en tres clústers se representa en la Figura 39, que muestra de nuevo gráficos de dispersión por parejas de variables. Los colores muestran los tres grupos establecidos, correspondiendo el color negro al que denominaremos Grupo 1, el color rojo al Grupo 2 y el color verde al Grupo 3.

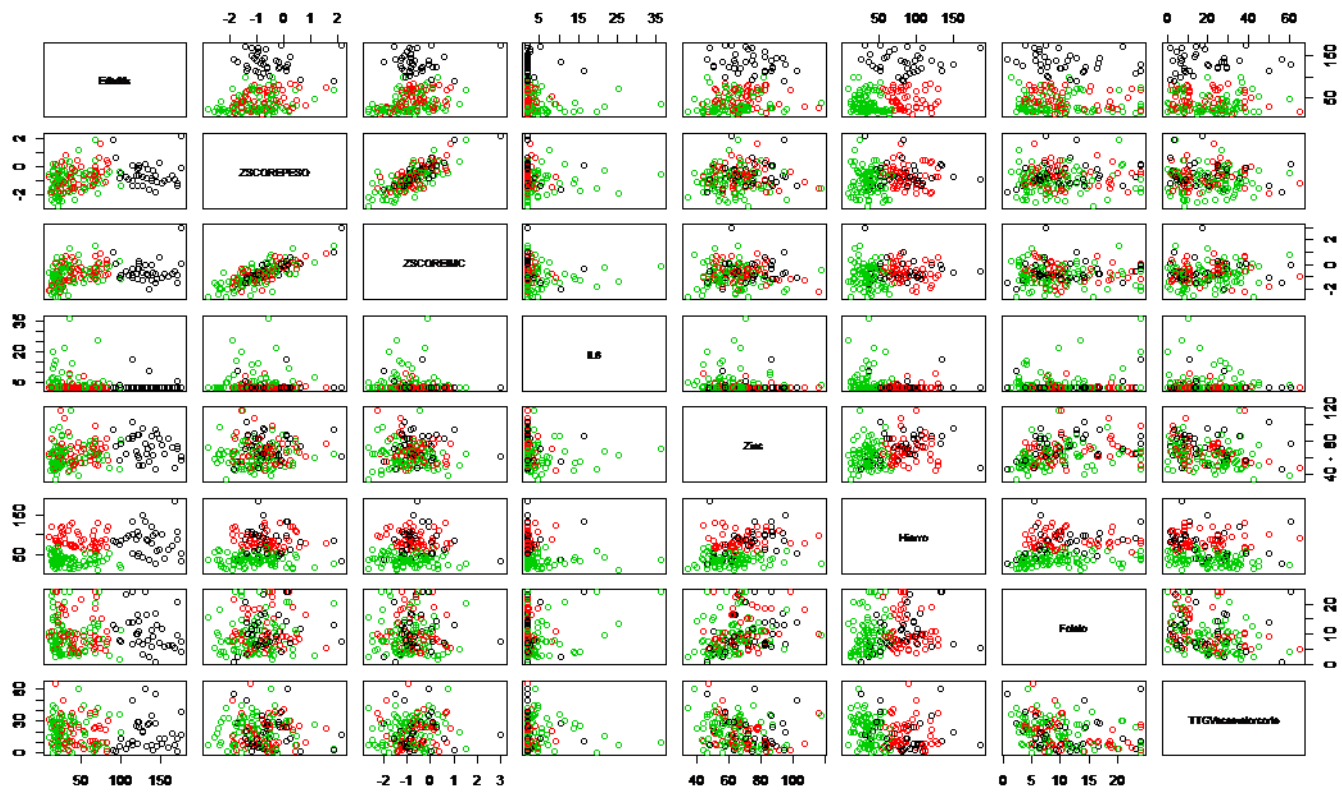


Figura 39. Distribución en tres clústers.

Las medias de las variables en los tres grupos conformados aparecen en la Tabla 52.

Tabla 52. Medias de las variables en la agrupación en tres clústers.

	Edad al diagnóstico (meses)	Z score peso	Z score IMC	IgA anti-tTG	Fe (mcg/dL)	Zn (mcg/dL)	Folato (mcg/L)	IL-6 (pg/mL)
Grupo 1	133.78	-0.58	-0.58	18.55	82.62	72.41	10.61	2.77
Grupo 2	47.00	-0.67	-0.70	18.39	87.76	68.63	11.25	2.53
Grupo 3	35.23	-1.04	-0.90	21.08	35.81	61.61	9.22	4.55

IMC: índice de masa corporal. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. Fe: hierro. Zn: zinc. IL-6: interleukina 6.

La varianza explicada con estos tres clústers es 61.4%.

En esta ocasión aparece un clúster (Grupo 1) con una edad media mayor que los otros dos. Entre el clúster dos y el tres las diferencias más claras están en el peso, -0.67 SDS (Grupo 2) frente a -1.04 SDS (Grupo 3), el hierro, 87.76 mcg/dL (Grupo 2) frente a 35.81 mcg/dL (Grupo 3), y la IL-6, 2.53 pg/mL frente a 4.55 pg/mL. Con estos tres clústers, la clasificación de los pacientes correspondería a:

- Grupo 1: pacientes con edad al diagnóstico alta, menor afectación del peso, hierro alto e IL-6 baja.
- Grupo 2: pacientes con edad al diagnóstico baja, menor afectación del peso, hierro alto e IL-6 baja.
- Grupo 3: pacientes con edad al diagnóstico baja, mayor afectación ponderal, hierro bajo e IL-6 elevada.

6.3.4.3. Análisis en cuatro clústers

El análisis en cuatro clústers aparece de forma gráfica en la Figura 40, que representa gráficos de dispersión por parejas de variables. Los colores indican los cuatro grupos establecidos, siendo el color negro el correspondiente al Grupo 1, el color rojo al Grupo 2, el color verde al Grupo 3 y el color azul al Grupo 4.

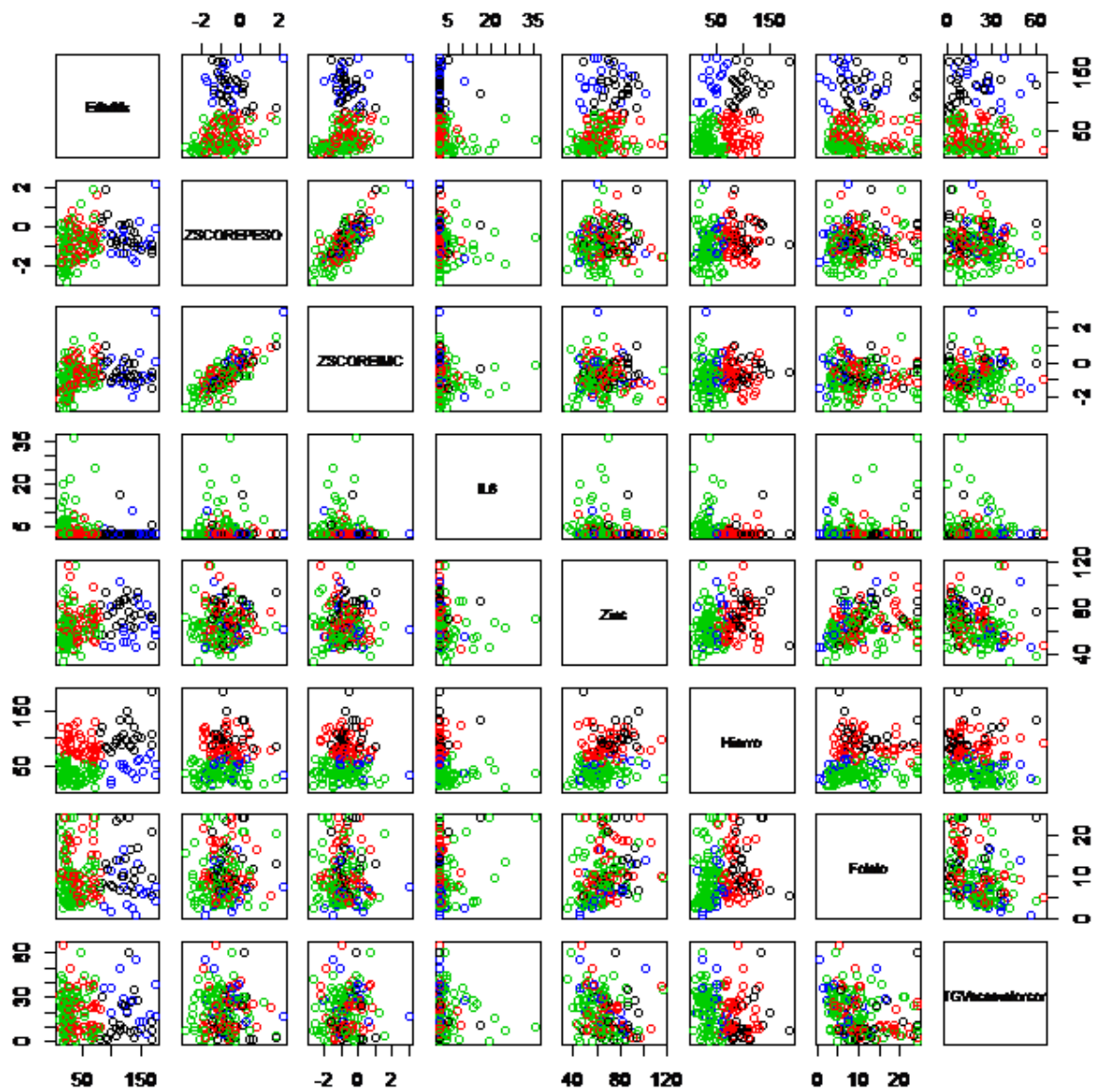


Figura 40. Distribución en cuatro clústers.

Las medias de las variables en los cuatro grupos conformados se muestran en la Tabla 53.

Tabla 53. Medias de las variables en la agrupación en cuatro clústers.

	Edad al diagnóstico (meses)	Z score peso	Z score IMC	IgA anti-tTG	Fe (mcg/dL)	Zn (mcg/dL)	Folato (mcg/L)	IL-6 (pg/mL)
Grupo 1	124.32	-0.48	-0.61	14.68	104.48	75.40	12.12	2.76
Grupo 2	45.53	-0.71	-0.72	18.49	86.63	68.57	11.40	2.55
Grupo 3	33.13	-1.05	-0.92	20.73	36.00	61.73	9.37	4.62
Grupo 4	134.82	-0.64	-0.45	26.14	45.12	65.24	7.08	2.68

IMC: índice de masa corporal. IgA anti-tTG: IgA antitransglutaminasa tisular. Fe: hierro. Zn: zinc. IL-6: interleukina 6.

La varianza explicada con estos 4 clústers es 67.2%.

Existen claras diferencias en la edad al diagnóstico (los Grupos 1 y 4 presentan edades altas y los Grupos 2 y 3, mucho menores). Hay también diferencias en el hierro: en el Grupo 1 el valor es alto, algo menor en el Grupo 2 y claramente más bajo en los Grupos 3 y 4. En cuanto a IL-6, en el Grupo 3 los valores son mayores. Nos encontramos ciertas diferencias en los z score de peso e IMC y pequeñas diferencias en las variables folato e IgA anti-tTG que antes no aparecían.

Con estos cuatro clústers, podríamos clasificar a los pacientes de la siguiente forma:

- Grupo 1: edad al diagnóstico alta, menor afectación del peso y del IMC, hierro, zinc y folato altos, IgA anti-tTG baja e IL-6 baja.
- Grupo 2: edad al diagnóstico baja, moderada afectación del peso y del IMC, hierro, zinc y folato altos, IgA anti-tTG algo más elevada e IL-6 baja.
- Grupo 3: edad al diagnóstico baja, mayor afectación del peso y del IMC, hierro, zinc y folato bajos, IgA anti-tTG algo más elevada e IL-6 alta.
- Grupo 4: edad al diagnóstico alta, menor afectación del peso y del IMC, hierro, zinc y folato bajos, IgA anti-tTG elevada e IL-6 baja.

6.3.4.4. Estudio de distribución de variables cualitativas en los clústers

A raíz del análisis de clústers y teniendo en cuenta las variables cualitativas más destacadas en el estudio asociativo descrito anteriormente, realizamos un análisis de la distribución de las variables cualitativas más significativas en los dos grupos definidos en el

análisis en dos clústers, considerando las siguientes: sexo, presentación clínica (clásica vs. no clásica), HLA (DQ2 homocigotos vs. no DQ2 homocigotos), IgA anti-tTG al diagnóstico (mayor de 10 veces el valor de corte vs menor de 10 veces el valor de corte) y anatomía patológica (Marsh I, II, IIIa y IIIb vs. Marsh IIIc). Elegimos la agrupación de pacientes en dos clústers por su significación clínica.

De los 176 pacientes incluidos en el análisis de clústers, disponíamos en todos los casos de datos acerca del sexo, la presentación clínica y los valores de IgA anti-tTG. La Tabla 54 recoge el resultado del análisis de la distribución de dichas variables cualitativas en los dos clústers, que nos permite concluir que sólo hay diferencias significativas en relación con la forma de presentación clínica, encontrando en el Grupo 1 un porcentaje mayor de pacientes con clínica clásica y en el Grupo 2 un mayor porcentaje de pacientes con clínica no clásica. No existen diferencias significativas en cuanto al sexo ni en relación al valor de IgA anti-tTG entre ambos grupos.

Tabla 54. Análisis de distribución del sexo, la presentación clínica y la IgA anti-tTG en dos clústers.

Variable	Categoría	Grupo 1 (n=131)	Grupo 2 (n=45)	p-valor
Sexo	Varón	56 (42.7%)	19 (42.2%)	0.951 ¹
	Mujer	75 (57.3%)	26 (57.8%)	
Presentación clínica	Clásica	98 (74.8%)	8 (17.8%)	<0.001 ¹
	No clásica	33 (25.2%)	37 (82.2%)	
IgA anti-tTG	Mayor de 10 veces el valor de corte	93 (71.0%)	25 (55.6%)	0.057 ¹
	Menor de 10 veces el valor de corte	38 (29.0%)	20 (44.4%)	

¹chi-cuadrado

En 88 pacientes pertenecientes a estos dos grupos, pudimos estudiar la genética de riesgo. La Tabla 55 muestra los datos de este análisis, que nos indican que no existen diferencias significativas entre ambos grupos.

Tabla 55. Análisis de distribución del HLA de riesgo en dos clústers.

Variable	Categoría	Grupo 1 (n=56)	Grupo 2 (n=32)	p-valor
HLA	DQ2 homocigotos	19 (33.9%)	10 (31.2%)	0.797 ¹
	No DQ2 homocigotos	37 (66.1%)	22 (68.8%)	

¹chi-cuadrado

Se había realizado biopsia intestinal en 126 pacientes de los pertenecientes a ambos grupos. El análisis de distribución realizado nos indica que no existen diferencias significativas en cuanto a la severidad de la lesión anatomopatológica. (Tabla 56).

Tabla 56. Análisis de distribución de la anatomía patológica en dos clústers.

Variable	Categoría	Grupo 1 (n=93)	Grupo 2 (n=33)	p-valor
Anatomía Patológica	Marsh I, II, IIIa, IIIb	61 (65.6%)	20 (60.6%)	0.608 ¹
	Marsh IIIc	32 (34.4%)	13 (39.4%)	

¹chi-cuadrado

En resumen, en el estudio de distribución de las variables cualitativas en los dos clústers, existen diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a la presentación clínica, situándose más pacientes con clínica clásica en el Grupo 1 y más pacientes con clínica no clásica en el Grupo 2. No hay diferencias significativas en las demás variables analizadas, si bien nos parece relevante remarcar que en el Grupo 1 nos encontramos con un porcentaje mayor de pacientes con IgA anti-tTG mayor de 10 veces el valor de corte y que el valor p está cerca de alcanzar la significación estadística, si bien no lo hace.

Aunando el análisis de conglomerados en dos grupos y la distribución de variables cualitativas relevantes en los mismos, podemos concluir que:

El Grupo 1 reúne más pacientes con:

- Menor edad al diagnóstico.
- Clínica clásica.
- Mayor afectación del peso y del IMC.
- Menores niveles de hierro y zinc.
- IL-6 más elevada.

En el Grupo 2 encontramos más pacientes con:

- Mayor edad al diagnóstico.
- Clínica no clásica.
- Menor afectación del peso y del IMC.
- Niveles más altos de hierro y zinc.
- Valores menores de IL-6.

7. DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

La enfermedad celiaca es un proceso sistémico de carácter inmunológico desencadenado por el consumo de gluten y de otras prolaminas relacionadas que se da en sujetos genéticamente predispuestos. Cursa con una combinación variable de síntomas clínicos, marcadores serológicos específicos y enteropatía y asocia haplotipos HLA-DQ2 y/o DQ8.

Con el objetivo principal de analizar el perfil clínico, genético, inflamatorio y nutricional de los pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca en nuestra Comunidad Autónoma y su evolución a lo largo del primer año de dieta sin gluten, planteamos este estudio, para el que contamos con una muestra constituida por 258 niños (menores de 16 años de edad) procedentes de la consulta de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Complejo Hospitalario de Navarra, diagnosticados de EC según los criterios vigentes en cada momento desde el 1 de enero de 2009 al 30 de junio de 2014.

7.1. Características de la muestra

Conforman la muestra un 41.1% de varones y un 58.9% de mujeres, constatándose una mayor prevalencia de enfermedad celiaca en el sexo femenino, como está descrito en múltiples estudios a nivel mundial (73, 97-102). Este hallazgo concuerda con lo comprobado en otras enfermedades de tipo autoinmune, como la tiroiditis, lo que sugiere una etiopatogenia compartida (103) y, quizás, una influencia hormonal en la respuesta inmune. Concretamente, la identificación de factores genéticos no-HLA que influyen en el riesgo de desarrollar enfermedad celiaca, localizados en regiones del genoma que en la mayoría de los casos albergan genes relacionados con la respuesta inmune, muchos de ellos superpuestos con los vinculados a enfermedades relacionadas con la inmunidad (diabetes mellitus de tipo 1, tiroiditis autoinmune), parece explicar una base genética común (16, 104).

La edad media al diagnóstico fue 63 meses (5 años y 3 meses), siendo los pacientes menores de 24 meses el 26.4% de la muestra. El diagnóstico de EC se hizo con más frecuencia posteriormente a los 2 años de edad (73.6% de los casos). Esta tendencia coincide con lo referido en otras poblaciones de estudio (105, 106). Destaca en nuestra muestra que el 67.5% de los pacientes fueron diagnosticados antes de los 6 años de edad, por lo que podemos hablar de un diagnóstico en etapas precoces en la mayoría de los casos. En relación con este hecho, sabemos que el consumo de gluten es el desencadenante imprescindible de la enfermedad, pero nos queda mucho por saber acerca de la interacción entre los factores genéticos y ambientales que regulan el equilibrio entre la tolerancia al gluten y la activación de la respuesta inmune que conduce al desarrollo de la enfermedad celiaca. Se habla de múltiples determinantes que podrían estar implicados, como la composición de la microbiota, determinadas infecciones intestinales..., factores que pueden llegar a explicar por qué, tal y como sugieren muchos autores, la respuesta inmune propia de la enfermedad celiaca tiende a desarrollarse precozmente en niños genéticamente predispuestos, normalmente antes de los 5 años de edad (107).

Los pacientes con clínica clásica (síntomas digestivos incluyendo la distensión abdominal, estancamiento ponderal y ponderoestatural) supusieron el 55.3% de la muestra, un porcentaje mayor que el de los pacientes con clínica no clásica. En los últimos años, encontramos estudios que refieren esta misma tendencia (73, 98, 108-111), mientras que otros describen la contraria (70, 112-114). Lo que es evidente en la actualidad es que la presentación no clásica de la EC aparece cada vez con mayor frecuencia en las consultas de Gastroenterología, sobre todo en pacientes de más edad (2, 70, 113, 115, 116), probablemente por el mayor conocimiento de la enfermedad adquirido por los clínicos en los últimos años y que permite identificar como candidatos al despistaje de la enfermedad a pacientes con síntomas extraintestinales.

El 24% de los pacientes de la muestra pertenecía a algún grupo de riesgo asociado a la enfermedad celiaca, siendo el más prevalente el compuesto por los familiares de primer grado con EC, lo que apoya la influencia de un riesgo genético que se hereda.

El estudio genético nos muestra que el 35.3% de los pacientes en los que se contó con el estudio de ambos alelos del HLA-DQA1 y DQB1 fue DQ2 homocigoto, el 28.6% DQ2 heterocigoto, el 12.8% portaba DQ2 en trans, el 3% portaba medio DQ2, el 5.3% era positivo para DQ8 pero no para DQ2 y el 14.3% era positivo para DQ2 y DQ8. Sólo un paciente no portaba ninguno de los alelos de riesgo. Este paciente se diagnosticó de EC por presentar una clínica clásica, una serología y unos hallazgos histológicos compatibles y una buena respuesta clínica tras iniciar la dieta sin gluten; además, presentó una recaída clínica, serológica e histológica cuando el gluten se reintrodujo en la dieta. Estos datos son similares a los descritos en el área mediterránea (2, 111, 117-119) y contrastan con lo observado en el norte de Europa, donde destaca la mayor prevalencia de DQ8 entre los pacientes portadores de haplotipos de riesgo (120, 121).

Destacan además las diferencias existentes en la distribución del HLA de riesgo entre los pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca y la población general. Según un estudio reciente de Martínez-Ojinaga et al. (119), en el que se compara la carga genética de riesgo entre pacientes celíacos y controles de la región de Madrid, el 4.8% de los controles era DQ2 homocigoto, el 20.5%, DQ2 heterocigoto, el 4.6% portaba DQ2 en trans, el 19.6%, medio DQ2, el 10.5% era positivo para DQ8 pero no para DQ2, el 7.3% era positivo para DQ2 y DQ8 y el 33% no portaba ningún alelo de riesgo.

En la población de Navarra, Comunidad Autónoma donde se ha llevado a cabo nuestro proyecto, estudios previos han objetivado resultados similares a los nuestros. Hernández-Charro et al. (122) objetivaron que el 47.7% de los pacientes con enfermedad celiaca portaba DQ2 en homocigosis, frente al 6.7% de los controles, el 29.9% era portador de DQ en heterocigosis, frente al 19.6% de los controles, y el 21.4% era negativo para DQ2 (72.4% de los controles).

En cuanto a la prevalencia de las frecuencias alélicas del gen DQB1*02 en la población general (tanto DQB1*02:01 como DQB1*02:02), ésta varía según la zona geográfica de España, de forma que existen regiones con mayor densidad de alelos de susceptibilidad, como Navarra y País Vasco, y otras con menos, como Galicia, Asturias y Cantabria (28).

7.2. Evolución clínica y analítica desde el diagnóstico y durante el primer año tras la implantación de la dieta sin gluten

En el momento del diagnóstico, destaca entre nuestros pacientes una afectación significativa del peso y del índice de masa corporal y menor, aunque también existente, de la talla. Esto se debe al estado de desnutrición que presentan algunos pacientes cuando son diagnosticados de enfermedad celiaca, que puede corresponder a un estado de malnutrición aguda, con afectación exclusiva del peso, o a un estado de desnutrición crónica, en el que el crecimiento longitudinal ya se ha visto alterado (123). A los 3 meses del inicio de la dieta sin gluten, se produce de forma ya evidente una importante mejoría del peso y el índice nutricional, que continúa a los 6 y a los 12 meses. La talla, sin embargo, al ser un parámetro antropométrico de recuperación más lenta, no mejora de forma evidente hasta los 6 meses del inicio de la DSG. Como consecuencia de la relación entre el peso y la talla, el índice de masa corporal experimenta una mejoría muy llamativa a los 3 meses del comienzo del tratamiento, siendo esta mejoría menos marcada, pero persistente, a los 6 y a los 12 meses.

La afectación de la talla ha sido descrita por muchos autores como uno de los signos habituales en la presentación de la enfermedad celiaca (73, 74, 123, 124). La recuperación tardía de este parámetro, que requiere una mejoría del estado nutricional mantenida en el tiempo, también ha sido comentada (125, 126), no sólo en la enfermedad celiaca, sino en situaciones de clara malnutrición, como puede ser la correspondiente a los niños con síndrome de Down en el postoperatorio de una cirugía cardíaca (127). Este hecho puede equiparar la EC con otras patologías en las que el estado de desnutrición previo al inicio del tratamiento es obvio.

Los tres anticuerpos utilizados para el diagnóstico de la enfermedad celiaca son, como ya se ha comentado ampliamente en el texto, la IgA anti gliadina (AGA), la IgA anti endomisio (EMA) y la IgA antitransglutaminasa tisular (IgA anti-tTG). En pacientes con déficit de IgA, se determinan los anticuerpos IgG, siendo estos pacientes candidatos a biopsia intestinal de forma obligada para el diagnóstico de la enfermedad (1), debido a que a día de hoy no hay estudios que determinen qué nivel de IgG antitransglutaminasa puede predecir con fiabilidad la existencia de lesión intestinal (2).

Planteamos en nuestro estudio qué combinación de anticuerpos presenta mayor sensibilidad para el diagnóstico de la EC, tanto en pacientes más jóvenes (de 5 años de edad o menos) como en más mayores (por encima de los 5 años). Las combinaciones con mayor rentabilidad diagnóstica (al menos un anticuerpo positivo) en los niños de 5 años de edad o menos son las que incluyen la determinación de AGA (AGA+EMA y AGA+IgA anti-tTG), mientras que en los mayores de 5 años se obtiene un mayor porcentaje de positividad con la determinación de AGA+EMA o EMA+IgA anti-tTG. La determinación de los tres tipos de anticuerpos no aumenta el porcentaje de resultados positivos en comparación con la determinación de AGA+EMA o AGA+IgA anti-tTG en los pacientes con 5 años de edad o menos, pero permite obtener una positividad del 100% en los pacientes mayores de 5 años. Las últimas guías diagnósticas de la ESPGHAN recomiendan determinar inicialmente la IgA

anti-tTG y, si ésta supera en 10 veces o más el valor de corte establecido, solicitar EMA en una segunda muestra para confirmar el diagnóstico sin necesidad de realizar biopsia intestinal. No aconsejan la determinación de EMA ni AGA en el estudio inicial (1). Hay que tener en cuenta que valores de IgA anti-tTG por debajo de 10 veces el valor de corte se asocian con más frecuencia a otras patologías, como enfermedad inflamatoria intestinal, infección por *Helicobacter pylori*, diarreas infecciosas... En estos casos, con el fin de evitar realizar diagnósticos falsos positivos, se debe plantear la realización del estudio anatomopatológico, hecho indicado en las mismas guías (1).

En este punto, con base en la experiencia clínica, nos parece interesante reflexionar acerca de aquellos casos con los que nos encontramos en ocasiones en las consultas de Gastroenterología Infantil, en los que niños pequeños, habitualmente menores de un año, presentan una clínica clásica muy sintomática, compatible con una enfermedad celiaca, y, sin embargo, una serología negativa o bien positividad únicamente de los anticuerpos antigliadina, sobre todo de la IgA frente a péptidos deaminados de la gliadina. En estos pacientes, ante la fuerte sospecha clínica, es necesario realizar una biopsia intestinal para confirmar el daño histológico y solicitar serologías de enfermedad celiaca de forma seriada y frecuente, para dar tiempo a que se produzca la positividad de los anticuerpos antitransglutaminasa tisular y antiendomiso. La presencia de lesión intestinal severa en pacientes con serología negativa está descrita por diferentes autores, si bien refieren una mayor prevalencia de estos casos en pacientes de mayor edad (57, 128). En nuestra casuística, contamos con un paciente de 9 meses de edad con las características descritas, que presentaba síntomas severos y negatividad de los tres anticuerpos. El estudio histopatológico mostró hallazgos compatibles con un grado 3c de Marsh. Tres meses después de la realización de la biopsia duodenal, se detectaron IgA anti-tTG positivos.

En nuestro estudio, el comportamiento de la IgA antigliadina tras el inicio de la DSG muestra un descenso muy marcado de sus niveles a los 3 meses de iniciar el tratamiento, descenso mucho menos llamativo a los 6 y a los 12 meses. La EMA y la IgA anti-tTG presentan una evolución paralela y distinta a la de la AGA, puesto que la disminución de su valor es, aunque significativa, menos intensa a los 3 meses de comenzar la DSG y continúa de forma obvia a los 6 y a los 12 meses.

Que el descenso de los niveles de los anticuerpos propios de la EC se produce tras retirar el gluten de la dieta ha sido ampliamente descrito, utilizándose como consecuencia para la monitorización del cumplimiento del tratamiento (1, 22, 77, 129, 130). Sin embargo, en nuestros resultados, un porcentaje significativo de pacientes sigue presentando una serología positiva al año de haberse iniciado la dieta sin gluten (11% de los pacientes presentan AGA, 20.5% EMA y 22% IgA anti-tTG positivos). Este hallazgo es concordante con lo descrito por otros autores. Vécsei et al. (131) establecen que el tiempo medio para la recuperación de la mucosa intestinal es de 2.2 años y que es la negatividad de los EMA la que predice esta curación con mayor fiabilidad. También refieren que la determinación de los anticuerpos tiene un valor limitado a la hora de predecir el estado de la mucosa intestinal los primeros años tras el diagnóstico, mejorando su rentabilidad tras un periodo más largo de tiempo. Bannister et al. (132) describen un 18% de pacientes con serología positiva al año de

haberse instaurado la DSG, dato similar al de nuestros resultados, presentando sólo un 22% de estos pacientes hallazgos histológicos compatibles con daño intestinal. El valor predictivo negativo de la determinación de IgA anti-tTG en este estudio es muy elevado (98%). Podemos concluir, por tanto, que la determinación periódica de la serología es una herramienta útil para determinar la curación de la mucosa intestinal y, en consecuencia, el cumplimiento del tratamiento, pero no debemos olvidar la importancia de contar para ello con otras herramientas, como la monitorización clínica y, en casos seleccionados, la realización de un estudio anatomopatológico.

El diferente comportamiento que experimenta la AGA en comparación con la EMA y la IgA anti-tTG puede explicarse por el hecho de que la AGA funciona como un marcador de permeabilidad intestinal y un indicador del estado de la inmunidad innata del paciente (133, 134) y no es específica de la enfermedad celiaca. De hecho, en pacientes con síndrome de Down, que presentan alteraciones en los mecanismos que componen la inmunidad innata, nos encontramos con frecuencia con niveles elevados de AGA que no se acompañan de la elevación de los otros anticuerpos ni de hallazgos histológicos propios de la EC (135, 136), lo que indica que no es un buen marcador para el estudio de la enfermedad celiaca en estos pacientes. Sabemos que en el desarrollo de la enfermedad celiaca se produce una disregulación inmune, en la que hay implicados procesos que competen tanto a la inmunidad innata como a la adaptativa, caracterizados por la presencia de AGA y anti-tTG, la infiltración linfocitaria en la membrana epitelial intestinal y la expresión de múltiples citocinas (16, 134). Con la evolución de la serología descrita en estos párrafos, entendemos que la alteración en la permeabilidad intestinal y los mecanismos propios de la inmunidad innata mejoran antes una vez instaurada la dieta sin gluten que aquéllos que implican a otros fenómenos inmunes representados por la IgA anti-tTG y la EMA.

De forma paralela a la evolución de la serología propia de la enfermedad, nos encontramos con el hecho de que la IgA total desciende de forma muy marcada a los 3 meses de haber comenzado la DSG, coincidiendo con la importante disminución de la AGA y, aunque menos intensa pero también significativa, de la EMA y la IgA anti-tTG. Posteriormente, se eleva de forma mucho menos marcada a los 6 y a los 12 meses.

En cuanto a la evolución de los parámetros bioquímicos nutricionales estudiados tras la instauración del tratamiento, nos encontramos con varias tendencias diferenciadas.

Por un lado, el colesterol y el hierro experimentan un aumento de sus niveles de forma progresiva a lo largo de los primeros 12 meses tras el inicio de la dieta sin gluten.

Niveles bajos de colesterol al diagnóstico de la enfermedad han sido descritos con anterioridad, principalmente a expensas de la disminución de los niveles de HDL colesterol (76, 137, 138), hecho que puede explicarse como consecuencia de un defecto en la absorción de grasa y por una disminución de la ingesta. Como consecuencia del daño que sufre la mucosa intestinal, los niveles de apolipoproteína A1, fabricada a nivel del intestino delgado y que constituye la porción mayoritaria del HDL colesterol, pueden disminuir, al igual que puede ocurrir con la absorción de lípidos. Por tanto, la reparación de la mucosa tras la instauración

de la DSG se traduce en un incremento de los niveles de colesterol total a expensas del HDL colesterol (76, 138, 139).

En algunos de estos estudios se describe un aumento de los niveles de triglicéridos tras la instauración de la DSG, también como consecuencia de la mejoría de la absorción de lípidos (76, 139, 140). En nuestra muestra, sin embargo, los triglicéridos descienden entre el diagnóstico y los 3 primeros meses desde el inicio del tratamiento, manteniéndose posteriormente en valores similares. Creemos que dicha evolución se explica por los pacientes de la muestra, sobre todo lactantes, que cuentan con poca reserva glucogénica y a los que, como a todos, se les indica realizar los estudios analíticos requeridos en ayunas. Estos pacientes, por las horas de ayunas, movilizan triglicéridos para mantener su gasto energético, lo que se traduce en valores altos de los mismos, mayores en el momento del diagnóstico, cuando su reserva glucogénica se encuentra más deteriorada.

La presencia de ferropenia y de anemia ferropénica han sido descritas en numerosos estudios al diagnóstico de la enfermedad celiaca, siendo incluso uno de los signos guía más conocido para el despistaje de la enfermedad (74, 75, 98, 129). Tal y como sugiere nuestro estudio, existen referencias de que la recuperación de la anemia ferropénica no se produce de forma inmediata tras la instauración de la dieta sin gluten, sino que es preciso que pasen de 6 a 12 meses de buen cumplimiento de la misma para que se produzca la normalización del perfil férrico y, como consecuencia, de la serie roja (129, 141).

En relación al metabolismo férrico y a la recuperación lenta de los niveles normales de hierro referida en el párrafo anterior, nos encontramos en nuestra muestra con que la transferrina, la proteína transportadora del hierro en el plasma, aumenta desde el diagnóstico a los 3 primeros meses tras el inicio de la DSG y desciende a los 6 y a los 12 meses. Esto nos indica que a los 3 meses de haber comenzado el tratamiento, las reservas de hierro todavía no se han recuperado y el organismo continúa produciendo cantidades elevadas de transferrina para asegurar el correcto aporte de este elemento a las células que lo precisan. El descenso de la transferrina objetivado a los 6 y a los 12 meses de DSG nos habla de la normalización de los depósitos de hierro y de su metabolismo. La elevación de los niveles de transferrina en pacientes recién diagnosticados de EC en los que se observan niveles bajos de hierro también ha sido descrita (75, 142).

Una tendencia distinta a la anterior es la que presentan el zinc, el folato y la cobalamina: estos tres parámetros experimentan una elevación muy marcada de sus niveles a los 3 meses de haber iniciado la dieta sin gluten, manteniéndose posteriormente en cifras similares.

El descenso de los niveles de zinc en pacientes recién diagnosticados de enfermedad celiaca es ampliamente conocido (129, 140, 143), hecho que se produce de nuevo como consecuencia de la malabsorción intestinal propia de la enfermedad. La recuperación de niveles adecuados de dicho micronutriente al poco tiempo de iniciar la DSG, como sugiere nuestro estudio, ha sido referida con anterioridad (129).

En el momento del diagnóstico de la EC, muchos estudios han referido la existencia de niveles bajos de folato y de cobalamina, e incluso la presencia de anemia megaloblástica (74, 129, 143). La disminución del folato se debe a la reducción de las proteínas y enzimas presentes en la mucosa intestinal dañada que son necesarias para la absorción del ácido fólico, aunque también puede explicarse en parte por la disminución de los niveles de vitamina B12 que puede estar presente, ya que el folato requiere de la cobalamina para activarse. Con el inicio de la DSG, los niveles de ambos parámetros se normalizan (75). Nuestro estudio sugiere que dicha normalización se produce al poco tiempo de iniciar el tratamiento.

El factor de crecimiento insulinoide 1 (IGF-1) experimenta en nuestro estudio un aumento marcado a los 3 meses de haberse iniciado la DSG, se mantiene estable entre los 3 y los 6 meses y se eleva de nuevo a los 12 meses. Es bien sabido que el estado nutricional influye en la producción de IGF-1, que tiene lugar a nivel hepático, y que niveles disminuidos de dicho parámetro han sido descritos en situaciones de desnutrición y en enfermedades crónicas. Es también un marcador del grado de adiposidad. Otros autores hablan del aumento de los niveles de IGF-1 en pacientes con enfermedad celiaca una vez iniciada la dieta sin gluten, tal y como describimos en nuestro trabajo (144, 145).

Otro parámetro marcador del grado de adiposidad es la leptina, del que se ha descrito su correlación con el índice de masa corporal, tanto en el caso de sujetos sanos como en pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca (70). En nuestro estudio, sus valores experimentan un aumento a los 3 meses de haber iniciado la DSG, un leve descenso a los 6 y una nueva elevación a los 12 meses, lo que sugiere, por tanto, una disminución de la masa grasa al diagnóstico y un aumento de la misma tras el inicio del tratamiento. Existen estudios que describen que la leptina no es un parámetro que se encuentre alterado en el diagnóstico de la EC (70, 146), aunque otros describen lo contrario (147, 148). En algunos de ellos, tal y como ocurre en nuestra muestra, se objetiva un aumento en los niveles de dicho parámetro tras la instauración de la DSG (148). Otros no observan ninguna diferencia entre los valores al diagnóstico y tras la instauración del tratamiento (146).

Estudiamos en nuestra muestra la evolución de los valores del alfa-tocoferol durante el primer año de dieta sin gluten. Este parámetro mostró un aumento a los 3 meses de iniciar el tratamiento, manteniéndose en niveles similares a los 6 meses y descendiendo a los 12, por lo que su evolución en el tiempo no mostró una tendencia homogénea. Hay estudios que describen la presencia de un déficit de vitamina E al diagnóstico de la enfermedad celiaca en pocos pacientes (149), mientras que otros lo encuentran de forma más prevalente, refiriendo además una recuperación de sus niveles tras el inicio de la dieta sin gluten (150). Otros autores, por el contrario, no encuentran diferencias entre los niveles de alfa-tocoferol en pacientes con EC y sujetos sanos (151).

Aunque hay múltiples investigaciones que exponen la presencia de un déficit de vitamina D en pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca y una recuperación de la misma con la dieta sin gluten (76, 129, 143), no hemos encontrado en nuestra muestra cambios significativos en sus valores durante el primer año de tratamiento. De acuerdo con

nuestro análisis, hay estudios que no encuentran diferencias en los valores de vitamina D en pacientes recién diagnosticados en relación con controles sanos (152). Tampoco hemos objetivado cambios significativos en la evolución de los valores de prealbúmina y albúmina, ambos descritos en otras poblaciones (75, 140, 142).

Dentro del análisis de la evolución de diferentes parámetros a lo largo del primer año de dieta sin gluten, determinamos la evolución de la interleukina 6 en todos los pacientes y, en un subgrupo de ellos escogidos de forma aleatoria (40 pacientes), estudiamos la evolución de IL-4, IL-8, IL-1 β y TNF- α durante los 6 primeros meses de tratamiento. La media de IL-6 al diagnóstico y durante los 12 primeros meses de dieta sin gluten se mantuvo en valores normales en la gran mayoría de los casos, mientras que el resto de las citocinas analizadas presentó valores medios por encima de la normalidad, que persistían a los 6 meses de haber instaurado el tratamiento. Objetivamos que IL-6 e IL-1 β descendieron progresivamente desde la instauración de la dieta libre de gluten, pero estos cambios no fueron significativos en el tiempo. Está descrito que el tiempo medio para la recuperación de la mucosa intestinal es de 2.2 años (131), hecho que puede explicar la persistencia de valores elevados de las interleukinas estudiadas tras sólo 6 meses de dieta sin gluten. Probablemente, el escaso tamaño de la muestra y el menor tiempo de seguimiento para el análisis de IL-4, IL-8, IL-1 β y TNF- α han sido una limitación en nuestro estudio a la hora de valorar la evolución de estas interleukinas.

Existen muchos estudios que hablan de los valores de diferentes interleukinas al diagnóstico de la enfermedad celiaca y de su evolución tras la instauración del tratamiento. Sabemos actualmente que en la patogénesis de la EC están implicadas la inmunidad innata y la adaptativa, con una respuesta mediada fundamentalmente por los linfocitos T, hecho que provoca la elevación de diferentes citocinas (153). Street et al. (144) describieron que niños al diagnóstico de la EC presentaban niveles elevados de IL-6 y TNF- α y que ambos parámetros recuperaban valores normales tras la instauración de la dieta sin gluten. Eiró et al. (154) establecieron que pacientes con EC presentaban niveles más elevados de IL-6 e IL-8, entre otras citocinas. Rostami-Nejad et al. (71) hablan, contando con una muestra importante, de niveles elevados de IL-8 en pacientes con EC, en comparación con sujetos sanos. Goel et al. (155, 156) comprobaron que la provocación con gluten en pacientes con EC producía una elevación de los niveles de IL-6, IL-8 y TNF- α , entre otras citocinas, sobre todo en los pacientes que presentaban más síntomas tras la provocación. Björck et al. (157), en cambio, no encontraron diferencias en los valores de IL-4, IL-8, IL-1 β y TNF- α entre controles sanos y niños recién diagnosticados de EC, pero sí en los valores de otras interleukinas. Caruso et al. (158) sólo objetivaron niveles elevados de IL-6 y TNF- α en pacientes con EC refractaria, pero no en pacientes con EC con respuesta a la DSG.

7.3. Correlación entre la forma de presentación clínica y diferentes parámetros al diagnóstico

Tal como hemos comentado previamente, clasificamos a los pacientes en dos grupos en función de la presentación clínica de la enfermedad: consideramos por una parte a los

pacientes con clínica clásica (síntomas digestivos incluyendo distensión abdominal, estancamiento ponderal y ponderoestatural) y por otra a los pacientes con formas no clásicas.

En nuestro estudio, los pacientes con clínica clásica eran significativamente más jóvenes y presentaban al diagnóstico una mayor afectación del peso y del índice de masa corporal, no así de la talla ni del índice nutricional. La asociación del diagnóstico precoz de la enfermedad con la presencia de síntomas clásicos está ampliamente aceptada y constatada (110). El estancamiento ponderal es uno de los signos que definen la clínica clásica, hecho que explica la diferencia en este parámetro entre ambos grupos de pacientes. Sin embargo, no encontramos diferencias en cuanto al desarrollo estatural al diagnóstico. Como ya se ha comentado, la talla es un parámetro de afectación tardía, que requiere en este caso una enfermedad no diagnosticada y no tratada durante un periodo mayor que el que precisa el peso para alterarse. Entre los niños con afectación de la talla al diagnóstico podemos encontrar a pacientes con clínica clásica y con formas no clásicas, en los que el periodo de tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad celiaca a su diagnóstico ha sido probablemente mayor que en pacientes que no presentan afectación estatural (105), si bien típicamente este retraso diagnóstico es más frecuente en pacientes con clínica no clásica (159), que presentan síntomas más difíciles de reconocer como propios de la enfermedad o no presentan ninguno. Por otra parte, también en ambos grupos podemos encontrar pacientes con otras comorbilidades que contribuyan o sean la causa de una talla baja (160). La relación entre el peso y la talla explica las características del IMC descritas en los pacientes de la muestra.

Dentro de los parámetros bioquímicos nutricionales, el hierro, el zinc, el IGF-1 y la leptina son significativamente menores en pacientes con clínica clásica, mientras que los triglicéridos y la transferrina son mayores. No hay diferencias en el resto de las determinaciones analizadas. Si bien la anemia ferropénica persistente o recurrente es por sí sola, dentro de las manifestaciones extraintestinales de la enfermedad celiaca, uno de los signos guía que hace sospechar la enfermedad, existen estudios que han encontrado una mayor prevalencia de anemia y niveles más bajos de hierro en pacientes con síntomas clásicos en comparación con pacientes que presentan la enfermedad de forma no clásica (161, 162), como es el caso del nuestro. En nuestra búsqueda no hemos hallado otros estudios relevantes que analicen la diferencia de los parámetros bioquímicos nutricionales que hemos estudiado en función de la forma de presentación clínica de la enfermedad.

En cuanto a la serología, entre los pacientes con clínica clásica nos encontramos con un mayor porcentaje de anticuerpos anti gliadina positivos, sin haber diferencias en los otros dos anticuerpos (antiendomiso y antitransglutaminasa tisular). Como explicación a este primer dato, cabe destacar que los pacientes con clínica clásica son más jóvenes y es a los pacientes de menor edad a los que se les solicita la determinación de AGA dentro de la batería analítica que se realiza para el diagnóstico, puesto que la sensibilidad de dicho anticuerpo disminuye con la edad (163). La ausencia de diferencias en los niveles de IgA anti-tTG entre ambos grupos es acorde a lo descrito en otros estudios (113, 164).

El estudio de las interleukinas nos muestra que TNF- α es mayor en pacientes con clínica clásica, no habiendo diferencias en los valores del resto de las citokinas estudiadas. Aunque cada vez se conocen más datos, existen muchas incógnitas acerca de las características de la cascada inflamatoria que se pone en marcha con el debut de la enfermedad celiaca. Hacen falta muchos más estudios a nivel molecular que aclaren qué actores participan en ella y qué papel juega cada uno y si hay diferencias en este aspecto en función de, entre otros aspectos, la forma de presentación clínica de la enfermedad.

De forma significativa, el porcentaje de pacientes con afectación anatomopatológica más severa es mayor entre los pacientes con clínica clásica, mientras que no hay diferencias entre ambos grupos en cuanto a la presencia de linfocitos intraepiteliales y sus subpoblaciones. La presencia de una atrofia vellositaria más severa en pacientes con síntomas clásicos ha sido descrita con anterioridad, de manera concordante con los resultados de nuestro estudio (165). Sin embargo, existen contradicciones en este aspecto. Brar et al. (166) establecieron en una muestra de 499 pacientes adultos que no existía correlación entre el grado de atrofia vellositaria y la severidad en la presentación clínica de la EC. Nurminen et al. (124), posteriormente, hablan de una mayor afectación anatomopatológica en niños con síntomas extraintestinales, en comparación con pacientes con clínica clásica al diagnóstico y pacientes detectados mediante screening. La ausencia de asociación entre la presencia de LIEs y el tipo de presentación clínica también ha sido descrita (167).

No encontramos diferencias entre ambos grupos en relación con el HLA, dato concordante con lo descrito por otros autores (26, 27), si bien existen estudios que refieren una mayor frecuencia de síntomas clásicos en pacientes homocigotos para DQ2 (24), alguno de ellos muy reciente (110, 168). Incluso hay investigadores que sugieren que pacientes portadores de al menos una copia de DQB1*02 presentan una clínica clásica al debut con más frecuencia que aquellos que no portan ninguna (169).

En conclusión, y según los resultados de nuestro trabajo, entre los pacientes que debutan con clínica clásica podemos esperar encontrar pacientes más jóvenes, con mayor afectación ponderal, que presentan una mayor alteración en los parámetros bioquímicos nutricionales y una mayor severidad en los hallazgos anatomopatológicos.

7.4. Diferencias en la evolución durante el primer año de dieta sin gluten en función de la forma de presentación clínica

Una vez valoradas las diferencias al diagnóstico en los pacientes de la muestra en función de la forma de presentación de la enfermedad, estudiamos la evolución de ambos grupos de pacientes (pacientes con clínica clásica vs. pacientes con formas no clásicas) durante el primer año de dieta sin gluten.

Encontramos que, de forma significativa y ajustando por el nivel de partida de cada una de las variables analizadas, la mejoría experimentada en todos los parámetros antropométricos estudiados (peso, talla, índice de masa corporal e índice nutricional) es mayor en los pacientes que debutan con síntomas clásicos. Según lo referido con anterioridad,

el peso y el IMC mostraban mayor afectación al diagnóstico en pacientes con clínica clásica, lo que explica que la introducción de la dieta sin gluten se traduzca en una mejoría significativa de ambos parámetros; en pacientes con clínica no clásica, la afectación de ambos parámetros fue significativamente menor, por lo que es esperable que no objetivemos grandes cambios en su evolución una vez instaurado el tratamiento, pues su deterioro no forma parte de la clínica de debut de la enfermedad. La talla y el índice nutricional no mostraban diferencias significativas al diagnóstico entre ambos grupos, pero sí que lo hacen a lo largo del primer año de DSG. La mayor afectación del estado nutricional en los pacientes más sintomáticos y la mejoría experimentada en el mismo una vez instaurado el tratamiento pueden provocar un *catch-up* más pronunciado en estos pacientes, de forma que, aunque las diferencias entre ambos grupos al diagnóstico no tengan significación estadística, el hecho de que las medias de ambos parámetros a los 12 meses de DSG prácticamente se igualen partiendo de valores algo menores al diagnóstico, otorga dicha significación en este caso. Podemos concluir de esta evolución, por tanto, que los pacientes con clínica clásica presentan un estado de desnutrición al diagnóstico con posibles consecuencias en su desarrollo estatural, que mejora de forma significativa con la instauración del tratamiento.

El descenso de la IgA total fue mayor, de forma significativa, en los pacientes con clínica clásica, lo que se explica por una mayor persistencia de la positividad de los anticuerpos característicos de la enfermedad celiaca a los 12 meses de dieta sin gluten en los pacientes con formas no clásicas. De nuevo este dato puede hacernos reflexionar acerca de la mayor afectación de los pacientes con clínica clásica y también sobre el cumplimiento de la DSG una vez realizado el diagnóstico. Es esperable que la dieta pautada, restrictiva y en ocasiones difícil de cumplir, se instaure de forma más estricta en pacientes con síntomas evidentes y alarmantes que limitan su funcionamiento cotidiano, mientras que se sea más laxo en pacientes con síntomas leves o en aquéllos detectados mediante screening, sobre todo si afectan a pacientes de mayor edad con más autonomía en su alimentación, pacientes que con mayor frecuencia se encuentran en el grupo que debuta con clínica no clásica. Por tanto, no es llamativo que los IgA antitransglutaminasa tisular, los antiendomisio y los anti gliadina desciendan antes en los pacientes con clínica clásica, lo que se traduce en una disminución más pronunciada de la IgA total, aunque siempre se mantiene dentro de valores normales.

En cuanto a los parámetros bioquímicos nutricionales, el aumento de los niveles de colesterol y folato fue mayor en los pacientes con síntomas clásicos, sin haberse encontrado diferencias significativas entre ambos grupos en el momento del diagnóstico. El colesterol prácticamente iguala sus valores en ambos grupos a los 12 meses de haber iniciado la dieta sin gluten, siendo la diferencia entre este valor y el inicial mayor en el grupo de pacientes con clínica clásica, lo que otorga la significación estadística. Los niveles medios de folato en los pacientes con síntomas clásicos superan a los presentados en el grupo de pacientes con clínica no clásica. Esto datos nos pueden estar hablando de nuevo de un mejor cumplimiento de la DSG. La transferrina experimentó una tendencia distinta en ambos grupos: mientras que la media de dicho parámetro fue mayor a los 12 meses de DSG en pacientes con síntomas clásicos, disminuyó en pacientes con clínica no clásica, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Como se ha comentado con anterioridad, encontramos en nuestro estudio

niveles más bajos de hierro y más elevados de transferrina en pacientes con síntomas clásicos al diagnóstico, lo que nos habla de una prevalencia más alta de anemia ferropénica en estos pacientes. Sabemos que la recuperación de este tipo de anemia es tardía en los pacientes celíacos (129, 141). La diferente tendencia de la transferrina entre ambos grupos nos confirma ambos hechos: dado que la prevalencia de anemia ferropénica es mayor en los pacientes con clínica clásica, es esperable que los niveles de transferrina continúen siendo más elevados a los 12 meses de DSG en este grupo de pacientes. No hubo diferencias en el resto de las determinaciones analizadas.

No encontramos diferencias en la evolución de los valores de las citocinas proinflamatorias incluidas en el estudio, lo que sugiere que no hay diferencias en la evolución de la cascada inflamatoria propia de la enfermedad entre ambos grupos de pacientes.

Así pues, los pacientes con clínica clásica presentarán una mejoría más marcada de los parámetros antropométricos y de ciertos micronutrientes (colesterol, folato) durante el primer año de dieta sin gluten que aquellos pacientes con formas no clásicas de la enfermedad.

7.5. Correlación entre el HLA de riesgo y diferentes parámetros al diagnóstico

Clasificamos a nuestros pacientes en dos grupos en función del HLA a efectos de análisis estadísticos: pacientes portadores de DQ2 en homocigosis y no portadores de DQ2 en homocigosis.

No encontramos entre ambos grupos diferencias en cuanto a la edad y la antropometría en el momento del diagnóstico. Hay estudios de acuerdo con la afirmación de que no existe asociación entre ser portador o no de DQ2 en homocigosis y la edad de debut de la enfermedad (27, 168), mientras que otros autores establecen una menor edad de presentación en pacientes portadores de DQ2 en homocigosis (24, 110, 170).

Entre los parámetros bioquímicos nutricionales, sólo objetivamos que los pacientes homocigotos presentaban niveles de cobalamina significativamente menores al diagnóstico, no habiendo diferencias en el resto de las determinaciones analizadas. De acuerdo con ello, Bajor et al. (27) no encontraron diferencias en cuanto a la prevalencia de anemia en función de la carga genética (pacientes portadores de DQ2 en homocigosis en comparación con no portadores). Sin embargo, Karinen et al. (170) describieron niveles menores de hemoglobina al diagnóstico en pacientes homocigotos para DQB1*02:01. No hemos hallado estudios relevantes que analicen si existen diferencias en los demás parámetros bioquímicos que hemos tenido en cuenta en función de la carga genética de los pacientes.

No hay diferencias en cuanto al porcentaje de positividad o negatividad de ninguno de los anticuerpos característicos de la enfermedad celíaca entre ambos grupos. Thomas et al. (171), en 2009, describieron la presencia de un mayor porcentaje de individuos con anticuerpos antiendomiso positivos entre pacientes portadores de DQ2 en comparación con

aquéllos portadores de DQ8, que era todavía mayor en los pacientes DQ2 homocigotos. Nuestra búsqueda bibliográfica no ha encontrado otros trabajos al respecto.

En relación con las citocinas proinflamatorias, encontramos niveles mayores de TNF- α en pacientes no portadores de DQ2 en homocigosis, mientras que no objetivamos diferencias en el resto de las interleukinas analizadas. Aunque no estudiaron el mismo perfil de moléculas, Bragde et al. (172), en 2014, tampoco encontraron diferencias entre la carga genética de pacientes celíacos y niveles de diferentes marcadores potenciales de enfermedad celíaca (la proteína CXCL11 y los RNA mensajeros TNFRSF9 y TNFSF13B).

No existen diferencias en la severidad de la afectación histológica entre ambos grupos, ni tampoco en cuanto a la presencia de linfocitos intraepiteliales ni de sus subpoblaciones. Hay estudios que sugieren la presencia de una mayor severidad en el daño histológico en pacientes portadores de DQ2 en homocigosis (170), alguno de ellos muy reciente (110), mientras que otros están de acuerdo con lo descrito en nuestro trabajo (26, 27, 168).

En resumen, según nuestro análisis, ser o no portador de DQ2 en homocigosis no discrimina a los pacientes celíacos en cuanto a su edad y clínica de presentación, su perfil bioquímico, serológico y de citocinas proinflamatorias, ni tampoco en cuanto a la severidad de la afectación anatomopatológica presente al comienzo de la enfermedad.

7.6. Diferencias en la evolución durante el primer año de dieta sin gluten en función del HLA de riesgo

En nuestro trabajo, no encontramos ninguna diferencia en la evolución clínica ni de los parámetros bioquímicos e inflamatorios analizados entre pacientes portadores y no portadores de DQ2 en homocigosis.

Existen pocos estudios que valoren el efecto de la dieta sin gluten en función de la distinta genética de riesgo de los pacientes con enfermedad celíaca. Karinen et al. (170) encontraron una recuperación más lenta de la atrofia vellositaria presente al diagnóstico en aquellos pacientes portadores de DQB1*02:01 en homocigosis, hecho que no hemos podido comprobar, pues sólo contamos con datos de estudio anatomopatológico al diagnóstico en los pacientes que así lo requirieron según los criterios vigentes en el momento del estudio inicial en la consulta de Gastroenterología Infantil.

De nuevo, según nuestros resultados, la carga genética de riesgo de los pacientes con enfermedad celíaca no nos permite predecir una mejor o peor respuesta al tratamiento con la dieta exenta de gluten.

7.7. Correlación entre los niveles de IgA antitransglutaminasa tisular y diferentes parámetros al diagnóstico

Dividimos de nuevo a los pacientes en dos grupos, en este caso en función del valor de IgA antitransglutaminasa tisular que presentaban al diagnóstico: por un lado, pacientes con IgA anti-tTG 10 veces por encima del valor de corte y por otro, aquéllos que presentaban un valor de IgA anti-tTG menor de 10 veces el valor de corte.

Los pacientes con IgA antitransglutaminasa tisular mayor de 10 veces el valor de corte eran significativamente más jóvenes y presentaban con mayor frecuencia una clínica clásica al diagnóstico. Martínez-Ojinaga et al. (110) y Vivas et al. (165), de acuerdo con nuestro trabajo, describen un debut más precoz de la enfermedad en pacientes con mayores niveles de IgA anti-tTG. Existen estudios que sugieren que no existen diferencias en cuanto al tipo de clínica al debut en función del título de IgA anti-tTG (113, 164) y otros que encuentran una mayor frecuencia de síntomas extraintestinales en pacientes con mayores niveles de IgA anti-tTG (173). No encontramos diferencias en cuanto a los parámetros antropométricos estudiados en comparación con los pacientes con IgA anti-tTG menor de 10 veces el valor de corte. Hay autores que describen una mayor afectación del peso en pacientes con títulos altos de IgA anti-tTG (173).

Entre los parámetros bioquímicos nutricionales analizados, los niveles de colesterol, hierro, zinc y folato fueron menores en los pacientes con IgA anti-tTG mayor de 10 veces el valor de corte y la transferrina fue mayor en este grupo. No hubo diferencias en el resto de las determinaciones analizadas. De acuerdo con nuestros hallazgos, encontramos estudios que describen una mayor prevalencia de anemia ferropénica en pacientes con valores más altos de IgA anti-tTG (141). Deora et al. (174), sin embargo, estudiaron si existía correlación entre la presencia de déficits de micronutrientes y el título de IgA anti-tTG, sin encontrar diferencias entre los valores de ferritina, zinc y vitamina D en función de los niveles de IgA anti-tTG al diagnóstico.

Con mayor frecuencia, los pacientes con IgA anti-tTG mayor de 10 veces el valor de corte presentaron anticuerpos anti gliadina y anti endomisio positivos. Cabe destacar que en ningún paciente de este grupo se objetivaron EMA negativos al diagnóstico, lo que nos habla de la gran especificidad de este tipo de anticuerpos en el diagnóstico de la enfermedad. Por ello, en los criterios diagnósticos vigentes de la ESPGHAN se recomienda la determinación de EMA en una segunda muestra de sangre en aquellos pacientes con títulos de IgA anti-tTG mayores de 10 veces el valor normal si, de acuerdo con los padres, se decide no plantear la biopsia intestinal, siendo la positividad de estos anticuerpos uno de los criterios fundamentales para llegar al diagnóstico sin realizar estudio anatomopatológico (1). La gran correlación existente entre ambos tipos de anticuerpos ha sido demostrada en varios estudios (175-177).

No encontramos diferencias en los valores de las interleukinas estudiadas entre ambos grupos de pacientes. Aunque no hemos hallado muchos estudios que hablen de la correlación entre los niveles de diferentes citokinas proinflamatorias y los niveles de IgA anti-tTG, sí que hay algunos que se refieren a este tema, si bien no estudian las moléculas que

nosotros analizamos en nuestros pacientes, como el realizado por Fabris et al. (178), que describe la existencia de correlación entre el Factor Activador de Células B de la familia del Factor de Necrosis Tumoral (BAFF) y los valores de IgA anti-tTG en pacientes adultos con EC. La expresión anormal de BAFF, presente en muchas enfermedades autoinmunes, altera la tolerancia inmune, permitiendo la supervivencia de células B autorreactivas y participando en la progresión de linfomas de células B. Sus niveles disminuyen de forma significativa con la introducción de la dieta sin gluten. Por su parte, Lettesjö et al. (179) objetivaron la existencia de correlación entre los niveles de interleukina 18, una citokina proinflamatoria con un rol crucial en el mantenimiento de la respuesta T *helper* 1, y los valores de IgA anti-tTG en niños diagnosticados de enfermedad celiaca.

Los pacientes con IgA antitransglutaminasa tisular mayor de 10 veces el valor de corte presentaron una mayor severidad en la afectación anatomopatológica que aquéllos con niveles por debajo de ese valor de corte. Esta afirmación es uno de los pilares de los últimos criterios diagnósticos publicados por la ESPGHAN (1) y es un dato corroborado por múltiples investigadores (65, 164, 165, 173, 180). No hubo, sin embargo, diferencias en la presencia de linfocitos intraepiteliales y sus subpoblaciones entre ambos grupos. No hemos encontrado estudios que analicen una posible correlación entre la presencia de LIEs y los niveles de IgA anti-tTG al diagnóstico.

La presencia de DQ2 en homocigosis no fue diferente en estos dos grupos de pacientes. Martínez-Ojinaga et al. (110), de acuerdo con esta afirmación, objetivan que no existen diferencias en los niveles de IgA antitransglutaminasa tisular en pacientes portadores de DQ2 en homocigosis si los comparan con pacientes no portadores. Sin embargo, también existen estudios que encuentran mayores niveles de IgA anti-tTG en pacientes DQ2 homocigotos (27, 169).

En resumen, y de acuerdo con lo descrito en otras poblaciones, niveles de IgA antitransglutaminasa tisular por encima de 10 veces el valor de corte nos permiten identificar a pacientes con anticuerpos antiendomiso positivos y daño histológico más severo, permitiéndonos en la mayoría de los casos llegar al diagnóstico de enfermedad celiaca sin necesidad de realizar biopsias intestinales. Nuestro estudio sugiere que estos pacientes presentarán además en la mayoría de los casos una edad más joven en el momento del diagnóstico, una clínica más sintomática y una mayor afectación nutricional, si bien estas características no son concordantes de forma homogénea con los datos descritos por otros autores.

7.8. Diferencias en la evolución durante el primer año de dieta sin gluten en función de los niveles de IgA antitransglutaminasa tisular

Tras instaurar la dieta sin gluten y ajustando por el nivel de partida, observamos que el aumento de peso en los pacientes con IgA antitransglutaminasa tisular mayor de 10 veces el valor de corte fue más pronunciado que en los pacientes con niveles menores, mientras que no encontramos diferencias en la evolución de la talla, el índice de masa corporal y el índice nutricional. Como hemos comentado, nuestros resultados indican que este grupo de

pacientes presenta una edad más joven al diagnóstico, junto con una clínica más sintomática, una mayor afectación nutricional y un daño más severo de la mucosa intestinal, dato corroborado por muchos autores (65, 164, 165, 173, 180). Son pacientes que, por su menor edad, se encuentran en un periodo de crecimiento intenso, que les hace más susceptibles a los efectos de la retirada del gluten de la dieta y a las consecuencias de la curación intestinal, lo que se traduce en una mejoría más marcada del peso durante el primer año de tratamiento.

El descenso de los niveles de IgA total fue mayor en los pacientes con IgA antitransglutaminasa tisular mayor de 10 veces el valor de corte. Niveles mayores de IgA anti-tTG hacen pensar en una mayor cantidad de IgA total circulante, pero, aunque el valor medio de IgA total al diagnóstico es mayor en el grupo con IgA anti-tTG mayor de 10 veces el valor de corte, no hay diferencias significativas con el grupo que presentaba niveles menores de IgA anti-tTG. Según nuestro estudio, los pacientes con niveles mayores de IgA anti-tTG presentaban con más frecuencia una clínica clásica al diagnóstico, más florida, por tanto, que los pacientes con niveles menores. De nuevo, esto ha podido significar un mejor cumplimiento de la dieta sin gluten desde su inicio, lo que se ha traducido en una disminución más marcada de la IgA anti-tTG y, por tanto, de la IgA total, pues es un hecho ampliamente aceptado y comprobado que el buen cumplimiento de la DSG conlleva una disminución de los niveles de IgA anti-tTG (108, 130, 181, 182).

Observamos que el aumento de los niveles de zinc fue mayor en los pacientes con IgA antitransglutaminasa tisular menor de 10 veces el valor de corte, no objetivando diferencias entre ambos grupos en cuanto a la evolución del resto de los parámetros bioquímicos nutricionales analizados.

No encontramos diferencias en los valores de las interleukinas estudiadas tras la instauración de la dieta sin gluten entre ambos grupos de pacientes.

No conocemos estudios que hayan evaluado los cambios producidos por la dieta sin gluten en pacientes celíacos con diferentes niveles de IgA antitransglutaminasa tisular al diagnóstico. Según nuestro trabajo, presentar niveles de IgA anti-tTG mayores de 10 veces el valor de corte no predice, en general, una mejor o peor respuesta al tratamiento con la dieta exenta de gluten, con excepción de un mayor aumento de peso en los pacientes con niveles más elevados de IgA anti-tTG.

7.9. Análisis de conglomerados

Tal y como se ha explicado anteriormente, basándonos en los estudios estadísticos previos, seleccionamos inicialmente las variables cuantitativas más significativas para establecer unas hipótesis de agrupación de pacientes con características similares al debut que nos permitieran clasificarlos en subgrupos. Posteriormente, consideramos las variables cualitativas más destacadas en los análisis previos y estudiamos su distribución en los subgrupos conformados. Pretendíamos de esta forma saber si podíamos hablar de perfiles de

pacientes con características clínicas, analíticas, genéticas e histológicas compartidas al debut de la enfermedad celiaca.

Aunque realizamos análisis que nos permitieron agrupar a los pacientes en dos, tres y cuatro conglomerados o clústers, para valorar la distribución de las variables cualitativas seleccionamos el análisis en dos clústers en base a las características clínicas que definían a los pacientes, pues la agrupación en tres y cuatro conglomerados, a diferencia de la agrupación en dos, se basa en determinaciones bioquímicas.

Así pues, nos encontramos con un primer grupo de pacientes caracterizado por una menor edad al debut, mayor presencia de clínica clásica, mayor afectación ponderal, menores niveles de hierro y zinc y valores más altos de interleukina 6. En este grupo, un porcentaje más alto de pacientes presenta una IgA antitransglutaminasa tisular mayor de 10 veces el valor de corte, si bien no podemos hablar de significación estadística.

Por otro lado, el segundo grupo se caracteriza por una edad de debut más elevada, una mayor prevalencia de clínica no clásica, menor afectación ponderal, mayores niveles de hierro y zinc y valores más bajos de interleukina 6.

Entre ambos grupos, la distribución del sexo, del HLA (considerado como DQ2 en homocigosis vs. no DQ2 en homocigosis), del porcentaje de pacientes con niveles de IgA anti-tTG mayor de 10 veces el valor de corte y de la severidad de la afectación histológica no muestra diferencias significativas.

No hemos encontrado ningún otro estudio que describa un análisis de datos similar, el cual, a nuestro parecer, traduce lo que vemos en la práctica clínica habitual con mucha frecuencia. En las consultas de Gastroenterología Infantil valoramos a pacientes en el debut de la EC que responden a los patrones que hemos descrito: por una parte, lactantes que presentan síntomas digestivos muy floridos y hallazgos clínicos y analíticos que sugieren un cuadro de desnutrición aguda y, por otra, niños más mayores mucho menos sintomáticos o asintomáticos con menor afectación nutricional. Nuestro análisis nos permite afirmar que ni una ni otra forma de presentación de la enfermedad predice que vayamos a objetivar en las pruebas complementarias una serología más alterada, ni una carga genética de mayor riesgo ni una mayor afectación anatomopatológica. Concuere, además, con los últimos criterios diagnósticos publicados por la ESPGHAN, que han dejado de diferenciar en su algoritmo a los pacientes sintomáticos de los no sintomáticos, basando el diagnóstico que no precisa de la toma de biopsias principalmente en los hallazgos serológicos, sin tener en cuenta el tipo de clínica ni el estudio del HLA (1).

Como ya hemos comentado con anterioridad, sí que hay estudios que analizan diferentes aspectos de la enfermedad en relación con la forma de presentación de la misma. Así, hay trabajos que no encuentran diferencias entre los niveles de IgA antitransglutaminasa tisular y el tipo de clínica al diagnóstico (113, 164), hecho que concuerda con nuestro análisis de conglomerados, mientras que hay excepciones a los mismos, como el estudio de Mubarak et al. (173), que encuentra una mayor presencia de síntomas extraintestinales en pacientes con mayores niveles de IgA anti-tTG. Queremos destacar que nuestro estudio sí que

encuentra una mayor frecuencia de clínica clásica en los pacientes con niveles de IgA anti-tTG mayor de 10 veces el valor de corte en comparación con aquéllos que presenten niveles menores, pero la significación estadística de dicha diferencia desaparece, aunque por poco, cuando los pacientes se agrupan en dos clústers teniendo en cuenta otras variables relevantes, como hemos explicado.

Hay muchos investigadores que han analizado la carga genética en función de la presentación clínica de la enfermedad celiaca. De acuerdo con nuestro análisis se encuentran los estudios de Vermeulen et al. (26) y de Bajor et al. (27), que no encuentran correlación entre la forma de presentación de la enfermedad y ser portador o no de DQ2 en homocigosis. En otros casos sí que se encuentra una mayor frecuencia de síntomas clásicos en pacientes homocigotos para DQ2 (24, 110, 168).

Cuando analizamos la correlación entre la forma de presentación clínica y la severidad de la atrofia vellositaria objetivada en las biopsias intestinales, encontramos un mayor porcentaje de pacientes con afectación histológica más severa entre aquéllos con una clínica clásica al diagnóstico. Sin embargo, cuando agrupamos a los pacientes en dos clústers teniendo en cuenta más variables, esta correlación desaparece. Existen estudios con resultados diversos en este aspecto. Brar et al. (166), aunque analizaron pacientes adultos, se muestran de acuerdo con nuestros resultados. Vivas et al. (165), por el contrario, describen una mayor severidad en la afectación anatomopatológica entre pacientes con clínica clásica al diagnóstico y Nurminen et al. (124) encuentran una mayor severidad en dichos hallazgos en niños con síntomas extraintestinales, que es menor en pacientes con clínica clásica y en los asintomáticos.

Ante los diferentes tipos de análisis estadísticos realizados en este trabajo, consideramos que el análisis en conglomerados aporta una visión más completa de los pacientes que valoramos en nuestras consultas, pues no tiene en cuenta sólo dos características que son comparadas una con otra, sino un conjunto de variables que definen patrones de comportamiento propios en el momento del diagnóstico de la enfermedad celiaca.

En resumen, el análisis en conglomerados, junto con otros análisis estadísticos, parece discriminar dos modelos de enfermedad celiaca si tenemos en cuenta la clínica y la repercusión nutricional. En el modelo uno, asociado al clúster o Grupo 1, predominaría una clínica clásica y una importante afectación nutricional (antropométrica y bioquímica), y en el modelo dos, asociado al clúster dos, tendríamos más clínica no clásica y menos repercusión nutricional. Esto parece indicar que, aunque los dos modelos tienen la misma etiopatogenia y el mismo diagnóstico final, hay algunos factores moduladores asociados que influyen de forma importante en el modelo clínico de la enfermedad y que por el momento desconocemos.

8. LIMITACIONES DE ESTE ESTUDIO

8. LIMITACIONES DE ESTE ESTUDIO

1. Conformamos la muestra con pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca entre el 1 de enero de 2009 y el 30 de junio de 2014. En el año 2012, la ESPGHAN realizó una actualización de los criterios diagnósticos de la enfermedad, de forma que los pacientes diagnosticados entre enero de 2009 y diciembre de 2011 fueron valorados según los criterios publicados en 1990 y desde enero de 2012 hasta junio de 2014, con los actualizados en 2012, según los cuales, el diagnóstico de enfermedad celiaca podía realizarse en niños sintomáticos sin necesidad de realizar estudio histológico de las lesiones intestinales si presentaban un valor de anticuerpos antitransglutaminasa tisular por encima de 10 veces el valor considerado como normal, tenían anticuerpos antiendomiso positivos y un HLA de riesgo. Por tanto, el número de biopsias realizadas en los pacientes a partir de enero de 2012 disminuyó considerablemente, lo que ha hecho que no hayamos podido contar con datos anatomopatológicos de todos los pacientes incluidos en la muestra.
2. A lo largo del periodo de recogida de datos, se produjeron varios cambios en la metodología utilizada en el laboratorio para la determinación de los anticuerpos propios de la enfermedad, exceptuando el caso de los antiendomiso, cuyo procesamiento no sufrió cambios a lo largo del estudio.

En cuanto a los anticuerpos antigliadina, entre los años 2009 y 2013 se determinaba la IgA antigliadina, considerándose positivo un valor por encima de 10 unid arbit/mL. A partir de enero de 2014 pasó a determinarse la IgA frente a péptidos deaminados de la gliadina, siendo positiva a partir de 20 unid arbit/mL. Como en todo momento hemos utilizado para los análisis estadísticos asociativos el porcentaje de pacientes positivos o negativos para este tipo de anticuerpos, no se ha producido ninguna interferencia con los resultados de los mismos, pero sí hemos tenido que considerarlo cuidadosamente durante el manejo de los datos.

Por otra parte, entre 2009 y marzo de 2014 nuestro laboratorio determinaba los anticuerpos antitransglutaminasa totales (IgA e IgG). Hasta 2012, dicha determinación se medía en kU/L, considerándose positiva a partir de 10; entre 2013 y marzo de 2014, en unid arbit/mL, siendo positiva a partir de 20. Desde marzo de 2014, pasó a determinarse sólo la IgA anti-tTG, siempre que no hubiera un déficit de IgA total, en cuyo caso se determinaba la IgG anti-tTG. La IgA anti-tTG aislada se considera positiva si es mayor de 4 U/mL. En este caso, como una parte importante de nuestro análisis se centraba en valorar la correlación de los niveles de IgA anti-tTG por encima de 10 veces el valor de la normalidad con diversas variables, hemos tenido que crear una nueva variable que aunara las tres formas distintas de recoger este dato serológico, evitando de esta forma que los cambios en la metodología ocurridos a lo largo del tiempo artefactaran nuestros resultados.

3. Por cambios en la metodología del estudio del HLA de clase II en el laboratorio de Genética de nuestro hospital, en todos los pacientes de la muestra diagnosticados en 2009 y en 2013-2014, se estudiaron ambos alelos y se reflejaron en la historia de los

pacientes las características de ambos. Entre 2010 y 2012 sólo se aportó el fenotipo a través del análisis de uno o de los dos alelos. En este caso, decidimos realizar los análisis estadísticos que considerasen el HLA con los pacientes que contaban con datos de ambos alelos, lo que ha supuesto una disminución en el tamaño de la muestra en este aspecto.

4. El estudio de las interleukinas al diagnóstico y a lo largo de los primeros 6 meses de dieta sin gluten, realizado en un subgrupo de 40 pacientes escogidos de forma aleatoria, cuenta con dos limitaciones importantes: por un lado, el escaso tamaño muestral y por otro, el seguimiento de estos parámetros durante sólo 6 meses. Nos parece en este caso que no podemos extraer conclusiones relevantes en este tema, pues haría falta un mayor número de datos para ello. Una excepción es el caso de la IL-6, que se valoró en todos los pacientes de la muestra al diagnóstico y a los 3, 6 y 12 meses después de haber iniciado la dieta sin gluten, pues formaba parte de las determinaciones habituales que se realizaban a estos pacientes, por lo que contamos con este dato en todos los pacientes de la muestra.
5. Con el fin de enriquecer el estudio de la evolución de los diferentes parámetros antropométricos y bioquímicos a lo largo del primer año de dieta sin gluten, habría sido interesante haber recabado datos sobre el cumplimiento del tratamiento entre los pacientes que forman parte de la muestra, lo que quizás habría que haber planteado de forma anónima a los participantes por la dificultad de admitir la falta de adherencia a un tratamiento cuando se produce. Esto nos habría permitido diferenciar a los pacientes cumplidores de los no cumplidores y afinar los resultados sobre la evolución durante el primer año tras el diagnóstico.

9. RESUMEN

9. RESUMEN

Podemos resumir los principales puntos de nuestro estudio con las ideas expuestas en los párrafos siguientes:

Nuestra muestra es representativa de la población pediátrica de enfermos celíacos, pues cumple con las características descritas por otros autores en cuanto a sexo, edad de diagnóstico, forma de presentación clínica, pertenencia a grupos de riesgo y distribución del HLA DQ2 y DQ8.

En el momento del diagnóstico, nuestros pacientes presentan rasgos de desnutrición clínica y bioquímica. Los tres anticuerpos estudiados son habitualmente positivos. La elevación de los niveles de la mayoría de las interleukinas estudiadas nos permite confirmar la activación de un patrón inflamatorio. Los hallazgos anatomopatológicos son los característicos de la enfermedad. La recuperación de los parámetros antropométricos y bioquímicos y la disminución de los niveles de anticuerpos se producen progresivamente tras la instauración de la dieta sin gluten.

Cuando valoramos las diferencias entre pacientes con clínica clásica y pacientes con clínica no clásica, objetivamos que los pacientes con clínica clásica son habitualmente más jóvenes, presentan más desnutrición clínica y bioquímica al diagnóstico y hallazgos anatomopatológicos más severos. Estos pacientes presentan una mejoría más marcada de su cuadro de desnutrición global tras la instauración del tratamiento.

Por otra parte, ser o no portador de DQ2 en homocigosis no predice mayor afectación clínica, bioquímica, serológica, en el perfil de citocinas proinflamatorias ni en el anatomopatológico en el momento del diagnóstico. Tampoco permite determinar una mejor o peor respuesta al tratamiento.

Los pacientes con niveles de IgA antitransglutaminasa tisular por encima de 10 veces el valor de corte son más jóvenes en el momento del diagnóstico, presentan con más frecuencia una clínica clásica y mayor afectación nutricional, anticuerpos antiendomiso positivos y hallazgos anatomopatológicos más severos. En estos pacientes no podemos hablar de una mejor o peor respuesta al tratamiento con la dieta exenta de gluten, con la excepción de que se produce una mayor ganancia ponderal en los pacientes con niveles más elevados de IgA anti-tTG al diagnóstico.

La realización del análisis de conglomerados nos permite distinguir dos modelos de enfermedad: en el primero predomina una edad de diagnóstico más precoz, la clínica clásica y una importante afectación nutricional y en el segundo, mayor edad al diagnóstico, la clínica no clásica y menor afectación nutricional, tanto clínica como bioquímica.

10. CONCLUSIONES

10. CONCLUSIONES

A partir de nuestro estudio, podemos llegar a las siguientes conclusiones:

1. La enfermedad celiaca presenta una mayor prevalencia en el sexo femenino y se diagnostica con mayor frecuencia entre los 2 y los 6 años de edad, principalmente a partir de una clínica clásica. Se confirma la asociación con el HLA de clase II, siendo la mayoría de nuestros pacientes portadores de DQ2 y una pequeña cantidad, portadores de DQ8.
2. En el momento del diagnóstico, los niños presentan con frecuencia un peso, una talla y un índice de masa corporal bajos.
3. A lo largo del primer año tras la implantación de la dieta sin gluten, se produce una mejoría de la situación nutricional de los pacientes, traducida en una mejoría de los parámetros antropométricos que los caracterizan al diagnóstico y de los parámetros bioquímicos nutricionales que pueden estar afectados. Paralelamente, se produce una disminución de los anticuerpos propios de la enfermedad, lo que permite a los clínicos monitorizar el cumplimiento del tratamiento. Sólo un pequeño porcentaje de pacientes presenta anticuerpos positivos al final del primer año de tratamiento.
4. Entre los pacientes que debutan con clínica clásica podemos esperar encontrar pacientes más jóvenes, con mayor afectación nutricional, tanto a nivel clínico como bioquímico, y con una atrofia vellositaria más severa. A lo largo del primer año de tratamiento, estos pacientes presentarán una mejoría más marcada de los parámetros antropométricos y de ciertos micronutrientes (colesterol, folato) que los pacientes que debutan con clínica no clásica.
5. Ser o no portador de DQ2 en homocigosis no discrimina a los pacientes celíacos en cuanto a su edad y clínica de presentación, su perfil bioquímico, serológico y de citocinas proinflamatorias, ni tampoco en cuanto a la afectación anatomopatológica presente al diagnóstico de la enfermedad. La carga genética de riesgo de los pacientes con enfermedad celiaca no nos permite predecir una mejor o peor respuesta al tratamiento con la dieta exenta de gluten.
6. Niveles de IgA antitransglutaminasa tisular por encima de 10 veces el valor de corte nos permiten identificar a pacientes con anticuerpos antiendomiso positivos y daño histológico más severo, permitiéndonos en la mayoría de los casos llegar al diagnóstico de enfermedad celiaca sin necesidad de plantear la biopsia intestinal. Estos pacientes presentarán en la mayoría de los casos una edad más joven al diagnóstico, una clínica más sintomática y una mayor afectación nutricional. Presentar niveles de IgA anti-tTG mayores de 10 veces el valor de corte no predice, salvo por una mayor ganancia ponderal en los pacientes con niveles de anticuerpos más elevados, una mejor o peor respuesta al tratamiento con la dieta sin gluten.
7. En las biopsias diagnósticas, los pacientes con clínica clásica y con niveles de IgA antitransglutaminasa tisular por encima de 10 veces el valor de corte presentan con

más frecuencia lesiones anatomopatológicas más severas, mientras que no existen diferencias en la severidad de las lesiones entre pacientes portadores de DQ2 en homocigosis y pacientes no portadores. La distribución porcentual de los distintos subtipos de linfocitos intraepiteliales no cambia en función de la forma clínica de presentación de la enfermedad, la carga genética ni los niveles de IgA antitransglutaminasa tisular al diagnóstico.

8. Concluimos que existen al diagnóstico dos perfiles de pacientes con enfermedad celiaca: un primer grupo caracterizado por una menor edad, mayor presencia de clínica clásica y mayor afectación nutricional, tanto a nivel clínico como bioquímico, y un segundo grupo con una edad más elevada, una mayor prevalencia de clínica no clásica y menor afectación nutricional. Entre ambos grupos no existen diferencias en cuanto al sexo, la serología, la carga genética de riesgo y la severidad de la afectación histológica, por lo que consideramos de gran aplicabilidad los últimos criterios diagnósticos publicados por la ESPGHAN, que basan el diagnóstico en los estudios serológicos, sin precisar en casos definidos de biopsia intestinal, sin discriminar por clínica y sin necesitar el estudio del HLA para la confirmación diagnóstica.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó I, Kurppa K, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, et al. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020;70(1):141-56.
2. Román Riechmann E, Castillejo de Villasante G, Cilleruelo Pascual ML, Donat Aliaga E, Polanco Allué I, Sánchez-Valverde F, et al. Rational application of the new European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) 2020 criteria for the diagnosis of coeliac disease. *An Pediatr (Barc).* 2020;92(2):110.e1-.e9.
3. Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *BMJ.* 1988;297(6664):1646-9.
4. Van de Kamer JH, Weijers HA, Dicke WK. Coeliac disease. IV. An investigation into the injurious constituents of wheat in connection with their action on patients with coeliac disease. *Acta Paediatr.* 1953;42(3):223-31.
5. Poulley JW. Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhea; jejunal and lymph-node biopsies. *Br Med J.* 1954;2(4900):1318-21.
6. Sakula J, Shiner M. Coeliac disease with atrophy of the small-intestine mucosa. *Lancet.* 1957;273(7001):876-7.
7. Mietens C. Studies on antibody formation against gliadin and lactalbumins. I. The formation of complement-fixing antibodies in patients with celiac disease and other intestinal diseases as well as in healthy control children. *Z Kinderheilkd.* 1967;98(3):254-67.
8. Bürgin-Wolff A, Hernández R, Just M, Signer E. Immunofluorescent antibodies against gliadin: a screening test for coeliac disease. *Helv Paediatr Acta.* 1976;31(4-5):375-80.
9. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol.* 1984;111(4):395-402.
10. Dieterich W, Laag E, Schöpfer H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology.* 1998;115(6):1317-21.
11. Stokes PL, Asquith P, Holmes GK, Mackintosh P, Cooke WT. Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease. *Lancet.* 1972;2(7769):162-4.
12. Falchuk ZM, Rogentine GN, Strober W. Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest.* 1972;51(6):1602-5.
13. Keuning JJ, Peña AS, van Leeuwen A, van Hooff JP, van Rood JJ. HLA-DW3 associated with coeliac disease. *Lancet.* 1976;1(7958):506-8.
14. Ek J, Albrechtsen D, Solheim BG, Thorsby E. Strong association between the HLA-Dw3-related B cell alloantigen -DRw3 and coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 1978;13(2):229-33.

15. Albert ED, Harms K, Wank R, Steinbauer-Rosenthal I, Scholz S. Segregation analysis of HL-A antigens and haplotypes in 50 families of patients with coeliac disease. *Transplant Proc.* 1973;5(4):1785-9.
16. Kupfer SS, Jabri B. Pathophysiology of celiac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 2012;22(4):639-60.
17. Lentze MJ, Auricchio S, Cadranel S, Milla PJ, Kelly D, McNeish AS, et al. Chapter 2. ESPGHAN: 50 Years Memories-The Early Years. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66 Suppl 1:S20-S8.
18. Meeuwisse G. Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Paediatr Scand.* 1970:461-3.
19. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child.* 1990;65(8):909-11.
20. 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(1):330-54.
21. 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(10):1185-94.
22. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(1):136-60.
23. Etayo V, Bodas-Pinedo A, Donat E, Martínez-Ojinaga E, Torres-Peral R, Eizaguirre J, et al. Differences in the geographical distribution of genotypes at risk in pediatric patients with coeliac disease (CD) in Spain. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* May 2019:124-5.
24. Zubillaga P, Vidales MC, Zubillaga I, Ormaechea V, García-Urkía N, Vitoria JC. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 genetic markers and clinical presentation in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002;34(5):548-54.
25. Al-Toma A, Goerres MS, Meijer JW, Peña AS, Crusius JB, Mulder CJ. Human leukocyte antigen-DQ2 homozygosity and the development of refractory celiac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(3):315-9.
26. Vermeulen BA, Hogen Esch CE, Yuksel Z, Koning F, Verduijn W, Doxiadis II, et al. Phenotypic variance in childhood coeliac disease and the HLA-DQ/DR dose effect. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44(1):40-5.
27. Bajor J, Szakács Z, Juhász M, Papp M, Kocsis D, Szegedi É, et al. HLA-DQ2 homozygosity increases tTGA levels at diagnosis but does not influence the clinical phenotype of coeliac disease: A multicentre study. *Int J Immunogenet.* 2019;46(2):74-81.

28. Allele frequencies.net [Internet]. Liverpool: Allele frequency net database (AFND); 2003 [actualizado 26 nov 2020; citado 26 nov 2020]. Disponible en: www.allele-frequencies.net
29. Fernández-Jiménez N, García-Etxebarria K, Plaza-Izurieta L, Romero-Garmendia I, Jáuregi-Miguel A, Legarda M, et al. The methylome of the celiac intestinal epithelium harbours genotype-independent alterations in the HLA region. *Sci Rep*. 2019;9(1):1298.
30. Nogueira-López J, Aznal-Sainz E, Malumbres-Chacón M, Sánchez-Martínez I, Bandrés-Elizalde E, Moleres A, et al. Metilación de DNA en enfermos celíacos y hermanos sanos con similar HLA de riesgo. Proyecto EpiEC. *Libro de ponencias, comunicaciones y posters del XXV Congreso de la SEGHNP*. 2018:30.
31. Pes GM, Bibbò S, Dore MP. Coeliac disease: beyond genetic susceptibility and gluten. A narrative review. *Ann Med*. 2019:1-16.
32. Olivares M, Neef A, Castillejo G, Palma GD, Varea V, Capilla A, et al. The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease. *Gut*. 2015;64(3):406-17.
33. Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, et al. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC Med*. 2019;17(1):142.
34. Valitutti F, Cucchiara S, Fasano A. Celiac Disease and the Microbiome. *Nutrients*. 2019;11(10):2403.
35. Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y. Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution? *Nutrients*. 2015;7(8):6900-23.
36. Cenit MC, Codoñer-Franch P, Sanz Y. Gut Microbiota and Risk of Developing Celiac Disease. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50 Suppl 2, Proceedings from the 8th Probiotics, Prebiotics & New Foods for Microbiota and Human Health meeting held in Rome, Italy on September 13-15, 2015:S148-s52.
37. Olivares M, Benítez-Páez A, de Palma G, Capilla A, Nova E, Castillejo G, et al. Increased prevalence of pathogenic bacteria in the gut microbiota of infants at risk of developing celiac disease: The PROFICEL study. *Gut Microbes*. 2018;9(6):551-8.
38. Palma GD, Capilla A, Nova E, Castillejo G, Varea V, Pozo T, et al. Influence of milk-feeding type and genetic risk of developing coeliac disease on intestinal microbiota of infants: the PROFICEL study. *PLoS One*. 2012;7(2):e30791.
39. Cheng J, Kalliomäki M, Heilig HG, Palva A, Lähteenoja H, de Vos WM, et al. Duodenal microbiota composition and mucosal homeostasis in pediatric celiac disease. *BMC Gastroenterol*. 2013;13:113.
40. Kalliomäki M, Satokari R, Lähteenoja H, Vähämäki S, Grönlund J, Routi T, et al. Expression of microbiota, Toll-like receptors, and their regulators in the small intestinal mucosa in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(6):727-32.

41. Kagnoff MF, Paterson YJ, Kumar PJ, Kasarda DD, Carbone FR, Unsworth DJ, et al. Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. *Gut*. 1987;28(8):995-1001.
42. Handley J, O'Neill H, Connolly J, Burrows D. Adenovirus 12 and dermatitis herpetiformis. *Acta Derm Venereol*. 1993;73(6):430-2.
43. Lawler M, Humphries P, O'Farrelly C, Hoey H, Sheils O, Jeffers M, et al. Adenovirus 12 E1A gene detection by polymerase chain reaction in both the normal and coeliac duodenum. *Gut*. 1994;35(9):1226-32.
44. Kahrs CR, Chuda K, Tapia G, Stene LC, Mårild K, Rasmussen T, et al. Enterovirus as trigger of coeliac disease: nested case-control study within prospective birth cohort. *BMJ*. 2019;364:l231.
45. Decker E, Engelmann G, Findeisen A, Gerner P, Laass M, Ney D, et al. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. *Pediatrics*. 2010;125(6):e1433-40.
46. Mårild K, Ludvigsson JF, Størdal K. Current evidence on whether perinatal risk factors influence coeliac disease is circumstantial. *Acta Paediatr*. 2016;105(4):366-75.
47. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Catassi C, Risk SWGoWaC. Mode of Delivery and Risk of Celiac Disease: Risk of Celiac Disease and Age at Gluten Introduction Cohort Study. *J Pediatr*. 2017;184:81-6.e2.
48. Adlercreutz EH, Wingren CJ, Vincente RP, Merlo J, Agardh D. Perinatal risk factors increase the risk of being affected by both type 1 diabetes and coeliac disease. *Acta Paediatr*. 2015;104(2):178-84.
49. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, et al. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA*. 2005;293(19):2343-51.
50. Meijer C, Shamir R, Szajewska H, Mearin L. Celiac Disease Prevention. *Front Pediatr*. 2018;6:368.
51. Meijer CR, Discepolo V, Troncone R, Mearin ML. Does infant feeding modulate the manifestation of celiac disease and type 1 diabetes? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017;20(3):222-6.
52. Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child*. 2006;91(1):39-43.
53. Crespo Escobar P, Castillejo G, Martínez-Ojinaga E, Donat E, Polanco I, Mearin ML, et al. Ten years of follow-up of the Spanish cohort of the European PreventCD study: the lessons learned. *Rev Esp Enferm Dig*. 2018;110(8):493-9.

54. Sollid LM, Qiao SW, Anderson RP, Gianfrani C, Koning F. Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules. *Immunogenetics*. 2012;64(6):455-60.
55. Cellier C, Delabesse E, Helmer C, Patey N, Matuchansky C, Jabri B, et al. Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group. *Lancet*. 2000;356(9225):203-8.
56. Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LL, Saavalainen P, Koskinen O, et al. Celiac disease without villous atrophy in children: a prospective study. *J Pediatr*. 2010;157(3):373-80, 80.e1.
57. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabó IR, Laurila K, Partanen J, Huhtala H, et al. Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut*. 2006;55(12):1746-53.
58. Borrelli M, Maglio M, Korponay-Szabó IR, Vass V, Mearin ML, Meijer C, et al. Intestinal anti-transglutaminase 2 immunoglobulin A deposits in children at risk for coeliac disease (CD): data from the PreventCD study. *Clin Exp Immunol*. 2018;191(3):311-7.
59. Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24(1):47-54.
60. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. Celiac disease. *Evid Rep Technol Assess (Summ)*. 2004(104):1-6.
61. Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T, Jidell E, Juto P, Olcén P, et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;47(4):428-35.
62. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(2):229-41.
63. Rostami K, Marsh MN, Johnson MW, Mohaghegh H, Heal C, Holmes G, et al. ROC-king onwards: intraepithelial lymphocyte counts, distribution & role in coeliac disease mucosal interpretation. *Gut*. 2017;66(12):2080-6.
64. Gibiino G, Lopetuso L, Ricci R, Gasbarrini A, Cammarota G. Coeliac disease under a microscope: Histological diagnostic features and confounding factors. *Comput Biol Med*. 2019;104:335-8.
65. Brusca I. Overview of biomarkers for diagnosis and monitoring of celiac disease. *Adv Clin Chem*. 2015;68:1-55.
66. Semwal P, Gupta RK, Sharma R, Garg K. Comparison of Endoscopic and Histological Findings between Typical and Atypical Celiac Disease in Children. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2018;21(2):86-92.

67. Paul SP, Hoghton M, Sandhu B. Limited role of HLA DQ2/8 genotyping in diagnosing coeliac disease. *Scott Med J*. 2017;62(1):25-7.
68. Binder E, Loinger M, Mühlbacher A, Edlinger M, Steichen E, Meraner D, et al. Genotyping of coeliac-specific human leucocyte antigen in children with type 1 diabetes: does this screening method make sense? *Arch Dis Child*. 2017;102(7):603-6.
69. 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(1):43-52.
70. Aurangzeb B, Leach ST, Lemberg DA, Day AS. Nutritional status of children with coeliac disease. *Acta Paediatr*. 2010;99(7):1020-5.
71. Rostami-Nejad M, Hejazi SH, Peña AS, Asadzadeh-Aghdai H, Rostami K, Volta U, et al. Contributions of HLA haplotypes, IL8 level and *Toxoplasma gondii* infection in defining celiac disease's phenotypes. *BMC Gastroenterol*. 2018;18(1):66.
72. Mustalahti K, Sulkanen S, Holopainen P, Laurila K, Collin P, Partanen J, et al. Coeliac disease among healthy members of multiple case coeliac disease families. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37(2):161-5.
73. Ertekin V, Selimoglu MA, Altinkaynak S. Celiac disease in childhood: evaluation of 140 patients. *Eurasian J Med*. 2009;41(3):154-7.
74. Laass MW, Schmitz R, Uhlig HH, Zimmer KP, Thamm M, Koletzko S. The prevalence of celiac disease in children and adolescents in Germany. *Dtsch Arztebl Int*. 2015;112(33-34):553-60.
75. Haapalahti M, Kulmala P, Karttunen TJ, Paajanen L, Laurila K, Mäki M, et al. Nutritional status in adolescents and young adults with screen-detected celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40(5):566-70.
76. Malandrino N, Capristo E, Farnetti S, Leggio L, Abenavoli L, Addolorato G, et al. Metabolic and nutritional features in adult celiac patients. *Dig Dis*. 2008;26(2):128-33.
77. Husby S, Murray JA, Katzka DA. AGA Clinical Practice Update on Diagnosis and Monitoring of Celiac Disease-Changing Utility of Serology and Histologic Measures: Expert Review. *Gastroenterology*. 2019;156(4):885-9.
78. Ilus T, Kaukinen K, Virta LJ, Pukkala E, Collin P. Incidence of malignancies in diagnosed celiac patients: a population-based estimate. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(9):1471-7.
79. van Gils T, Nijeboer P, Overbeek LI, Hauptmann M, Castelijin DA, Bouma G, et al. Risks for lymphoma and gastrointestinal carcinoma in patients with newly diagnosed adult-onset celiac disease: Consequences for follow-up: Celiac disease, lymphoma and GI carcinoma. *United European Gastroenterol J*. 2018;6(10):1485-95.
80. McAllister BP, Williams E, Clarke K. A Comprehensive Review of Celiac Disease/Gluten-Sensitive Enteropathies. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019;57(2):226-43.

81. Holmes GK, Prior P, Lane MR, Pope D, Allan RN. Malignancy in coeliac disease--effect of a gluten free diet. *Gut*. 1989;30(3):333-8.
82. Bathrellou E, Kontogianni MD, Panagiotakos DB. Celiac disease and non-celiac gluten or wheat sensitivity and health in later life: A review. *Maturitas*. 2018;112:29-33.
83. Green PH, Fleischauer AT, Bhagat G, Goyal R, Jabri B, Neugut AI. Risk of malignancy in patients with celiac disease. *Am J Med*. 2003;115(3):191-5.
84. Olén O, Askling J, Ludvigsson JF, Hildebrand H, Ekbom A, Smedby KE. Coeliac disease characteristics, compliance to a gluten free diet and risk of lymphoma by subtype. *Dig Liver Dis*. 2011;43(11):862-8.
85. Elfström P, Granath F, Ye W, Ludvigsson JF. Low risk of gastrointestinal cancer among patients with celiac disease, inflammation, or latent celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(1):30-6.
86. Garampazzi A, Rapa A, Mura S, Capelli A, Valori A, Boldorini R, et al. Clinical pattern of celiac disease is still changing. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;45(5):611-4.
87. Bascuñán KA, Vespa MC, Araya M. Celiac disease: understanding the gluten-free diet. *Eur J Nutr*. 2017;56(2):449-59.
88. Pace LA, Crowe SE. Complex Relationships Between Food, Diet, and the Microbiome. *Gastroenterol Clin North Am*. 2016;45(2):253-65.
89. Zong G, Lebowitz B, Hu FB, Sampson L, Dougherty LW, Willett WC, et al. Gluten intake and risk of type 2 diabetes in three large prospective cohort studies of US men and women. *Diabetologia*. 2018;61(10):2164-73.
90. Reddel S, Putignani L, Del Chierico F. The Impact of Low-FODMAPs, Gluten-Free, and Ketogenic Diets on Gut Microbiota Modulation in Pathological Conditions. *Nutrients*. 2019;11(2):373.
91. Sánchez-Valverde F, Zarikian D, Etayo V. Nuevas estrategias terapéuticas en Enfermedad Celiaca. En: Polanco I, editor. *Enfermedad Celiaca, presente y futuro*. 2º ed. Madrid: Ergon; 2017. p. 127-35.
92. Singh P, Arora A, Strand TA, Leffler DA, Catassi C, Green PH, et al. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(6):823-36.e2.
93. Navalón-Ramón E, Juan-García Y, Pinzón-Rivadeneira A. Prevalence and features of coeliac disease in the Mediterranean area of Spain. *Semergen*. 2016;42(8):514-22.
94. Castaño L, Blarduni E, Ortiz L, Núñez J, Bilbao JR, Rica I, et al. Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004;39(1):80-4.

95. Lionetti E, Gatti S, Pulvirenti A, Catassi C. Celiac disease from a global perspective. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2015;29(3):365-79.
96. Carrascosa Lezcano A, Fernández García JM, Fernández Ramos C, Ferrández Longás A, López-Siguero JP, Sánchez González E, et al. Spanish cross-sectional growth study 2008. Part II. Height, weight and body mass index values from birth to adulthood. *An Pediatr (Barc)*. 2008;68(6):552-69.
97. Jansson-Knodell CL, Hujoel IA, West CP, Taneja V, Prokop LJ, Rubio-Tapia A, et al. Sex Difference in Celiac Disease in Undiagnosed Populations: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(10):1954-68.e13.
98. Oliveira GN, Mohan R, Fagbemi A. Review of celiac disease presentation in a pediatric tertiary centre. *Arq Gastroenterol*. 2018;55(1):86-93.
99. Walker MM, Ludvigsson JF, Sanders DS. Coeliac disease: review of diagnosis and management. *Med J Aust*. 2017;207(4):173-8.
100. Singh P, Arora S, Singh A, Strand TA, Makharia GK. Prevalence of celiac disease in Asia: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2016;31(6):1095-101.
101. 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 J Gastroenterol*. 2013;19(17):2612-20.
102. Israeli E, Hershcovici T, Grotto I, Rouach Z, Branski D, Goldin E. Prevalence of celiac disease in an adult Jewish population in Israel. *Isr Med Assoc J*. 2010;12(5):266-9.
103. Rubio-Tapia A, Jansson-Knodell CL, Rahim MW, See JA, Murray JA. Influence of gender on the clinical presentation and associated diseases in adults with celiac disease. *Gac Med Mex*. 2016;152(Suppl 2):38-46.
104. Vitoria JC, Bilbao JR. Updates on coeliac disease. *An Pediatr (Barc)*. 2013;78(1):1-5.
105. Comba A, Çaltepe G, Yüce Ö, Erena E, Kalaycı AG. Effects of age of diagnosis and dietary compliance on growth parameters of patients with celiac disease. *Arch Argent Pediatr*. 2018;116(4):248-55.
106. Tapsas D, Hollén E, Stenhammar L, Fälth-Magnusson K. The clinical presentation of coeliac disease in 1030 Swedish children: Changing features over the past four decades. *Dig Liver Dis*. 2016;48(1):16-22.
107. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Tonutti E, Amarri S, et al. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med*. 2014;371(14):1295-303.
108. Garnier-Lengliné H, Cerf-Bensussan N, Ruemmele FM. Celiac disease in children. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015;39(5):544-51.

109. Iwańczak B, Matusiewicz K, Iwańczak F. Clinical picture of classical, atypical and silent celiac disease in children and adolescents. *Adv Clin Exp Med*. 2013;22(5):667-73.
110. Martínez-Ojinaga E, Fernández-Prieto M, Molina M, Polanco I, Urcelay E, Núñez C. Influence of HLA on clinical and analytical features of pediatric celiac disease. *BMC Gastroenterol*. 2019;19(1):91.
111. Cilleruelo ML, Roman-Riechmann E, Sánchez-Valverde F, Donat E, Manuel-Ramos J, Martín-Orte E, et al. Spanish national registry of celiac disease: incidence and clinical presentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59(4):522-6.
112. Domínguez Castro P, Harkin G, Hussey M, Christopher B, Kiat C, Liong Chin J, et al. Changes in Presentation of Celiac Disease in Ireland From the 1960s to 2015. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(6):864-71.e3.
113. Saeed A, Assiri A, Assiri H, Ullah A, Rashid M. Celiac disease in Saudi children. Evaluation of clinical features and diagnosis. *Saudi Med J*. 2017;38(9):895-9.
114. Gokce S, Arslantas E. Changing face and clinical features of celiac disease in children. *Pediatr Int*. 2015;57(1):107-12.
115. Hujoel IA, Reilly NR, Rubio-Tapia A. Celiac Disease: Clinical Features and Diagnosis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2019;48(1):19-37.
116. Kivelä L, Kaukinen K, Lähdeaho ML, Huhtala H, Ashorn M, Ruuska T, et al. Presentation of Celiac Disease in Finnish Children Is No Longer Changing: A 50-Year Perspective. *J Pediatr*. 2015;167(5):1109-15.e1.
117. Tucci F, Astarita L, Abkari A, Abu-Zekry M, Attard T, Ben Hariz M, et al. Celiac disease in the Mediterranean area. *BMC Gastroenterol*. 2014;14:24.
118. Donat E, Planelles D, Capilla-Villanueva A, Montoro JA, Palau F, Ribes-Koninckx C. Allelic distribution and the effect of haplotype combination for HLA type II loci in the celiac disease population of the Valencian community (Spain). *Tissue Antigens*. 2009;73(3):255-61.
119. Martínez-Ojinaga E, Molina M, Polanco I, Urcelay E, Núñez C. HLA-DQ distribution and risk assessment of celiac disease in a Spanish center. *Rev Esp Enferm Dig*. 2018;110(7):421-6.
120. Polvi A, Arranz E, Fernández-Arquero M, Collin P, Mäki M, Sanz A, et al. HLA-DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol*. 1998;59(3):169-75.
121. Kårhús LL, Thuesen BH, Skaaby T, Rumessen JJ, Linneberg A. The distribution of HLA DQ2 and DQ8 haplotypes and their association with health indicators in a general Danish population. *United European Gastroenterol J*. 2018;6(6):866-78.
122. Hernández-Charro B, Donat E, Miner I, Aranburu E, Sánchez-Valverde F, Ramos-Arroyo MA. Modifying effect of HLA haplotypes located trans to DQB1*02-DRB1*03 in celiac patients of Southern Europe. *Tissue Antigens*. 2008;71(3):213-8.

123. Nurminen S, Kivelä L, Taavela J, Huhtala H, Mäki M, Kaukinen K, et al. Factors associated with growth disturbance at celiac disease diagnosis in children: a retrospective cohort study. *BMC Gastroenterol*. 2015;15:125.
124. Nurminen S, Kivelä L, Huhtala H, Kaukinen K, Kurppa K. Extraintestinal manifestations were common in children with coeliac disease and were more prevalent in patients with more severe clinical and histological presentation. *Acta Paediatr*. 2019;108(4):681-7.
125. Patwari AK, Kapur G, Satyanarayana L, Anand VK, Jain A, Gangil A, et al. Catch-up growth in children with late-diagnosed coeliac disease. *Br J Nutr*. 2005;94(3):437-42.
126. Damen GM, Boersma B, Wit JM, Heymans HS. Catch-up growth in 60 children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1994;19(4):394-400.
127. Bravo-Valenzuela NJ, Passarelli ML, Coates MV, Nascimento LF. Weight and height recovery in children with Down syndrome and congenital heart disease. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2011;26(1):61-8.
128. Stroud C, Almilaji O, Nicholas D, Kirkham S, Surgenor SL, Williams I, et al. Evolving patterns in the presentation of coeliac disease over the last 25 years. *Frontline Gastroenterol*. 2020;11(2):98-103.
129. Kelly CP, Bai JC, Liu E, Leffler DA. Advances in diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1175-86.
130. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, Gastroenterology ACo. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(5):656-76.
131. Vécsei E, Steinwendner S, Kogler H, Innerhofer A, Hammer K, Haas OA, et al. Follow-up of pediatric celiac disease: value of antibodies in predicting mucosal healing, a prospective cohort study. *BMC Gastroenterol*. 2014;14:28.
132. Bannister EG, Cameron DJ, Ng J, Chow CW, Oliver MR, Alex G, et al. Can celiac serology alone be used as a marker of duodenal mucosal recovery in children with celiac disease on a gluten-free diet? *Am J Gastroenterol*. 2014;109(9):1478-83.
133. Hollon J, Puppa EL, Greenwald B, Goldberg E, Guerrerio A, Fasano A. Effect of gliadin on permeability of intestinal biopsy explants from celiac disease patients and patients with non-celiac gluten sensitivity. *Nutrients*. 2015;7(3):1565-76.
134. Assandri R, Montanelli A. Pentraxin 3 and biopsy status in celiac patients. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2018;11(3):225-32.
135. Carlsson A, Axelsson I, Borulf S, Bredberg A, Forslund M, Lindberg B, et al. Prevalence of IgA-antigliadin antibodies and IgA-antiendomysium antibodies related to celiac disease in children with Down syndrome. *Pediatrics*. 1998;101(2):272-5.

136. Castro M, Crinò A, Papadatou B, Purpura M, Giannotti A, Ferretti F, et al. Down's syndrome and celiac disease: the prevalence of high IgA-antigliadin antibodies and HLA-DR and DQ antigens in trisomy 21. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1993;16(3):265-8.
137. Capristo E, Addolorato G, Mingrone G, Scarfone A, Greco AV, Gasbarrini G. Low-serum high-density lipoprotein-cholesterol concentration as a sign of celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(11):3331-2.
138. Capristo E, Malandrino N, Farnetti S, Mingrone G, Leggio L, Addolorato G, et al. Increased serum high-density lipoprotein-cholesterol concentration in celiac disease after gluten-free diet treatment correlates with body fat stores. *J Clin Gastroenterol.* 2009;43(10):946-9.
139. Brar P, Kwon GY, Holleran S, Bai D, Tall AR, Ramakrishnan R, et al. Change in lipid profile in celiac disease: beneficial effect of gluten-free diet. *Am J Med.* 2006;119(9):786-90.
140. Rea F, Polito C, Marotta A, Di Toro A, Iovene A, Collini R, et al. Restoration of body composition in celiac children after one year of gluten-free diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1996;23(4):408-12.
141. Rajalahti T, Repo M, Kivelä L, Huhtala H, Mäki M, Kaukinen K, et al. Anemia in Pediatric Celiac Disease: Association With Clinical and Histological Features and Response to Gluten-free Diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(1):e1-e6.
142. Repo M, Lindfors K, Mäki M, Huhtala H, Laurila K, Lähdeaho ML, et al. Anemia and Iron Deficiency in Children With Potential Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(1):56-62.
143. Caruso R, Pallone F, Stasi E, Romeo S, Monteleone G. Appropriate nutrient supplementation in celiac disease. *Ann Med.* 2013;45(8):522-31.
144. Street ME, Volta C, Ziveri MA, Zanacca C, Banchini G, Viani I, et al. Changes and relationships of IGFS and IGFBPS and cytokines in coeliac disease at diagnosis and on gluten-free diet. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008;68(1):22-8.
145. Federico G, Favilli T, Cinquanta L, Ughi C, Saggese G. Effect of celiac disease and gluten-free diet on growth hormone-binding protein, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor-binding proteins. *Horm Res.* 1997;48(3):108-14.
146. Russo F, Chimienti G, Clemente C, Ferreri C, Orlando A, Riezzo G. A possible role for ghrelin, leptin, brain-derived neurotrophic factor and docosahexaenoic acid in reducing the quality of life of coeliac disease patients following a gluten-free diet. *Eur J Nutr.* 2017;56(2):807-18.
147. Blanco Quirós A, Arranz Sanz E, Garrote Adrados JA, Oyágüez Ugidos P, Calvo Romero C, Alonso Franch M. The tumor necrosis factor system and leptin in coeliac disease. *An Esp Pediatr.* 2001;55(3):198-204.
148. Ertekin V, Orbak Z, Selimoglu MA, Yildiz L. Serum leptin levels in childhood celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2006;40(10):906-9.

149. Erdem T, Ferat Ç, Nurdan YA, Halime E, Muhammed Selçuk S, Hamza K, et al. Vitamin and mineral deficiency in children newly diagnosed with celiac disease. *Turk J Med Sci.* 2015;45(4):833-6.
150. Romańczuk B, Szaflarska-Popławska A, Chetchowska M, Hozyasz KK. Analysis of the concentration of vitamin E in erythrocytes of patients with celiac disease. *Prz Gastroenterol.* 2016;11(4):282-5.
151. Tokgöz Y, Terlemez S, Karul A. Fat soluble vitamin levels in children with newly diagnosed celiac disease, a case control study. *BMC Pediatr.* 2018;18(1):130.
152. Bledsoe AC, King KS, Larson JJ, Snyder M, Absah I, Choung RS, et al. Micronutrient Deficiencies Are Common in Contemporary Celiac Disease Despite Lack of Overt Malabsorption Symptoms. *Mayo Clin Proc.* 2019;94(7):1253-60.
153. Piechota-Polańczyk A, Sałaga M, Huk I. T cell-activated signaling pathways and locally produced cytokines as potential targets in celiac disease. *Curr Drug Targets.* 2015;16(3):226-32.
154. Eiró N, González-Reyes S, González L, González LO, Altadill A, Andicoechea A, et al. Duodenal expression of Toll-like receptors and interleukins are increased in both children and adult celiac patients. *Dig Dis Sci.* 2012;57(9):2278-85.
155. Goel G, Tye-Din JA, Qiao SW, Russell AK, Mayassi T, Ciszewski C, et al. Cytokine release and gastrointestinal symptoms after gluten challenge in celiac disease. *Sci Adv.* 2019;5(8):eaaw7756.
156. Goel G, Daveson AJM, Hooi CE, Tye-Din JA, Wang S, Szymczak E, et al. Serum cytokines elevated during gluten-mediated cytokine release in coeliac disease. *Clin Exp Immunol.* 2020;199(1):68-78.
157. Björck S, Lindehammer SR, Fex M, Agardh D. Serum cytokine pattern in young children with screening detected coeliac disease. *Clin Exp Immunol.* 2015;179(2):230-5.
158. Caruso R, Marafini I, Sedda S, Del Vecchio Blanco G, Giuffrida P, MacDonald TT, et al. Analysis of the cytokine profile in the duodenal mucosa of refractory coeliac disease patients. *Clin Sci (Lond).* 2014;126(6):451-8.
159. Paez MA, Gramelspacher AM, Sinacore J, Winterfield L, Venu M. Delay in Diagnosis of Celiac Disease in Patients Without Gastrointestinal Complaints. *Am J Med.* 2017;130(11):1318-23.
160. Jericho H, Sansotta N, Guandalini S. Extraintestinal Manifestations of Celiac Disease: Effectiveness of the Gluten-Free Diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;65(1):75-9.
161. Saukkonen J, Kaukinen K, Koivisto AM, Mäki M, Laurila K, Sievänen H, et al. Clinical Characteristics and the Dietary Response in Celiac Disease Patients Presenting With or Without Anemia. *J Clin Gastroenterol.* 2017;51(5):412-6.

162. Kuloğlu Z, Kirsacıoğlu CT, Kansu A, Ensari A, Girgin N. Celiac disease: presentation of 109 children. *Yonsei Med J.* 2009;50(5):617-23.
163. Cataldo F, Ventura A, Lazzari R, Balli F, Nassimbeni G, Marino V. Antiendomysium antibodies and coeliac disease: solved and unsolved questions. An Italian multicentre study. *Acta Paediatr.* 1995;84(10):1125-31.
164. Loberman-Nachum N, Schvimer M, Avivi C, Barshack I, Lahad A, Fradkin A, et al. Relationships between Clinical Presentation, Serology, Histology, and Duodenal Deposits of Tissue Transglutaminase Antibodies in Pediatric Celiac Disease. *Dig Dis.* 2018;36(5):369-76.
165. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernández M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2008;103(9):2360-5.
166. Brar P, Kwon GY, Egbuna II, Holleran S, Ramakrishnan R, Bhagat G, et al. Lack of correlation of degree of villous atrophy with severity of clinical presentation of coeliac disease. *Dig Liver Dis.* 2007;39(1):26-9; discussion 30-2.
167. Taavela J, Kurppa K, Collin P, Lähdeaho ML, Salmi T, Saavalainen P, et al. Degree of damage to the small bowel and serum antibody titers correlate with clinical presentation of patients with celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11(2):166-71.e1.
168. Bajor J, Szakács Z, Farkas N, Hegyi P, Illés A, Solymár M, et al. Classical celiac disease is more frequent with a double dose of HLA-DQB1*02: A systematic review with meta-analysis. *PLoS One.* 2019;14(2):e0212329.
169. Nenna R, Mora B, Megiorni F, Mazzilli MC, Magliocca FM, Tiberti C, et al. HLA-DQB1*02 dose effect on RIA anti-tissue transglutaminase autoantibody levels and clinicopathological expressivity of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47(3):288-92.
170. Karinen H, Kärkkäinen P, Pihlajamäki J, Janatuinen E, Heikkinen M, Julkunen R, et al. Gene dose effect of the DQB1*0201 allele contributes to severity of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2006;41(2):191-9.
171. Thomas HJ, Ahmad T, Rajaguru C, Barnardo M, Warren BF, Jewell DP. Contribution of histological, serological, and genetic factors to the clinical heterogeneity of adult-onset coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44(9):1076-83.
172. Bragde H, Jansson U, Fredrikson M, Grodzinsky E, Söderman J. Potential blood-based markers of celiac disease. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:176.
173. Mubarak A, Spierings E, Wolters VM, Otten HG, ten Kate FJ, Houwen RH. Children with celiac disease and high tTGA are genetically and phenotypically different. *World J Gastroenterol.* 2013;19(41):7114-20.
174. Deora V, Aylward N, Sokoro A, El-Matary W. Serum Vitamins and Minerals at Diagnosis and Follow-up in Children With Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;65(2):185-9.

175. Roca M, Donat E, Marco-Maestud N, Masip E, Hervás-Marín D, Ramos D, et al. Efficacy Study of Anti-Endomysium Antibodies for Celiac Disease Diagnosis: A Retrospective Study in a Spanish Pediatric Population. *J Clin Med*. 2019;8(12):2179.
176. Werkstetter KJ, Korponay-Szabó IR, Popp A, Villanacci V, Salemme M, Heilig G, et al. Accuracy in Diagnosis of Celiac Disease Without Biopsies in Clinical Practice. *Gastroenterology*. 2017;153(4):924-35.
177. Mubarak A, Wolters VM, Gmelig-Meyling FH, Ten Kate FJ, Houwen RH. Tissue transglutaminase levels above 100 U/mL and celiac disease: a prospective study. *World J Gastroenterol*. 2012;18(32):4399-403.
178. Fabris M, Visentini D, De Re V, Picierno A, Maieron R, Cannizzaro R, et al. Elevated B cell-activating factor of the tumour necrosis factor family in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2007;42(12):1434-9.
179. Lettesjö H, Hansson T, Bergqvist A, Grönlund J, Dannaeus A. Enhanced interleukin-18 levels in the peripheral blood of children with coeliac disease. *Clin Exp Immunol*. 2005;139(1):138-43.
180. Tosco A, Auricchio R, Aitoro R, Ponticelli D, Primario M, Miele E, et al. Intestinal titres of anti-tissue transglutaminase 2 antibodies correlate positively with mucosal damage degree and inversely with gluten-free diet duration in coeliac disease. *Clin Exp Immunol*. 2014;177(3):611-7.
181. Martín-Pagola A, Ortiz-Paranza L, Bilbao JR, de Nanclares GP, Estevez EP, Castaño L, et al. Two-year follow-up of anti-transglutaminase autoantibodies among celiac children on gluten-free diet: comparison of IgG and IgA. *Autoimmunity*. 2007;40(2):117-21.
182. Dipper CR, Maitra S, Thomas R, Lamb CA, McLean-Tooke AP, Ward R, et al. Anti-tissue transglutaminase antibodies in the follow-up of adult coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;30(3):236-44.

