ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Julia María
Cabo del Riego

Tesis doctoral

OPTIMIZACIÓN, RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO Y APLICACIÓN CLÍNICA DE BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELIACA MEDIANTE ALGORITMOS COMPUTARIZADOS

Santiago de Compostela, 2024

Programa de doctorado en Investigación Clínica en Medicina

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL DA USC

TESIS DOCTORAL

OPTIMIZACIÓN, RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO Y APLICACIÓN CLÍNICA DE BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELIACA MEDIANTE ALGORITMOS COMPUTARIZADOS

Autora

Julia María Cabo del Riego

Directora: María Jesús Núñez Iglesias

Tutora: María Jesús Núñez Iglesias

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN MEDICINA

SANTIAGO DE COMPOSTELA / LUGO

Dña. **Julia María Cabo del Riego**

Declara que no existe ningún conflicto de interés en la tesis doctoral titulada:

Optimización, rendimiento diagnóstico y aplicación clínica de biomarcadores en el diagnóstico de la enfermedad celíaca mediante algoritmos computarizados

Por Nacho,

Para él, Gonzalo y Justino

"Ama tu oficio y envejece en él"

Eclesiásticos 11-15

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

AGRADECIMIENTOS

La historia de esta Tesis Doctoral comienza con este milenio, cuando diagnosticaron de enfermedad celiaca a mi hijo Nacho, con 3 años. Viví con auténtica angustia su diagnóstico, que requería una biopsia para la que fuimos a Coruña y requirió sedación general.

En los primeros años de su vida, aunque crecía mucho, cada vez estaba más delgado y enfermaba con mucha frecuencia. Yo acababa de llegar a Lugo y la Dra. Pilar de la Riva le hizo el diagnóstico (mi primer agradecimiento para Pilar) y su vida cambió, dejó de enfermar y se convirtió en un niño alegre y feliz. El destino quiso que mi vida profesional dentro del laboratorio estuviera dedicada el manejo de marcadores autoinmunes para esta enfermedad y me propuse estudiar e investigar lo máximo para ayudar en el diagnóstico precoz y aportar mi granito de arena en la enfermedad celiaca.

Mi más sincero agradecimiento a la Profesora Dra. María Jesús Núñez Iglesias, mi directora y tutora de esta Tesis Doctoral, una persona maravillosa de la que he aprendido infinito y a la que estaré eternamente agradecida, estoy segura de que esta Tesis será solo el principio de muchas colaboraciones juntas. Gracias también al Profesor Dr. Manuel Freire-Garabal y a la Profesora Dra. Silvia Novío, los tres son un equipo fabuloso. Muchas gracias al Dr. Paz que confío en mí una y otra vez, me apoyó e impulsó a realizar esta Tesis y me puso en contacto con ellos.

A mi jefa la Dra. Lola Maíz que siempre aplaude las iniciativas de investigación en el laboratorio. Gracias a mi compañero de despacho y amigo Manuel, son muchos los años dedicados al apasionante y complejo mundo de la autoinmunidad. Gracias a Carmen mi informática de cabecera, y por supuesto a Tamara, mi primera residente y apoyo incondicional. Por nuestra sección han pasado muchos técnicos y quiero dar las gracias a todos, nuestra profesión no existiría sin ellos.

Gracias a la Dra. Carmen García-Plata, compartimos la misma pasión por esta enfermedad y juntas hemos formado un auténtico tándem para el diagnóstico y el seguimiento de niños celíacos, hoy en día tenemos una relación profesional y de amistad inquebrantable. Igualmente, mi agradecimiento Dr. Abel González Ramírez con el que siempre cuento para el diagnóstico en adultos y nuestras "tournée" gallegas para divulgar la enfermedad celiaca por toda Galicia.

Gracias a Andrés y Eva del IDIS y a la Dra. Pilar Rodríguez Ledo que desde el principio confiaron en mis propuestas y me ayudaron a llevarlas a cabo.

Gracias a mi familia, mis padres, que me educaron en el amor al trabajo, el optimismo y la alegría con la que voy a trabajar cada día y también a mis suegros Jenni y Justino que seguro estarán muy orgullosos desde el cielo. Gracias Justino y a mis hijos, los 3 pilares de mi vida, a mi hermano Rafa el mejor diseñador gráfico del mundo y al resto de mi extensa familia, me siento muy orgullosa de ellos.

Gracias a todos cuantos contribuyeron con sus aportaciones a la culminación de esta Tesis, a los médicos que sospecharon de esta camaleónica enfermedad y solicitaron los anticuerpos al laboratorio y muy especialmente, mi más profunda gratitud para todos los celiacos diagnosticados con los criterios de esta Tesis Doctoral a los que con seguridad les mejoró infinitamente la calidad de vida y que ahora, parafraseando a mi admirada Dra. Isabel Polanco *"son personas sanas que comen diferente"*.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PRESENTACIÓN

La enfermedad celiaca es un trastorno sistémico autoinmune que cursa con una enteropatía crónica del intestino delgado, debida a la exposición al gluten de la dieta en personas genéticamente predispuestas. En la actualidad, la enfermedad celiaca constituye un problema de salud pública con casos en todos los grupos etarios, incluyendo ancianos.

Su diagnóstico supone un verdadero desafío para el clínico debido a su polimorfismo clínico, desde formas oligosintomáticas a complicaciones graves y, por tanto, se requiere una búsqueda activa de casos por parte de los médicos y un aumento de la concienciación de la variabilidad de la condición celiaca.

Para el diagnóstico se han identificado biomarcadores serológicos no invasivos, sencillos, de gran sensibilidad y especificidad; por lo que la identificación de nuevos casos de la enfermedad celiaca ha aumentado exponencialmente en los últimos años.

La optimización, el rendimiento diagnóstico y la aplicación clínica de estos biomarcadores es la base de esta Tesis Doctoral. La autora de esta Tesis Doctoral elaboró un algoritmo diagnóstico, que se integró en el petitorio electrónico del Área Sanitaria de Lugo, A Mariña y Monforte de Lemos (Lugo, zona Centro). Está basado en reglas expertas informáticas para la correcta aplicación de las guías clínicas en vigor. La contribución de la autora de esta Tesis Doctoral ha sido diseñar el citado algoritmo, validar pruebas de laboratorio y su acreditación con la norma UNE-EN-ISO 15189, recopilar los datos del estudio, estudiar y analizar las muestras por inmunoensayo y microscopio de fluorescencia, interpretar los resultados y contribuir a la divulgación de estos.

Los estudios integrados en esta Tesis Doctoral se han llevado a cabo durante los últimos 11 años; tomando como referencia las guías clínicas publicadas en el año 2012, 2018 y las posteriormente modificadas en el año 2020. Durante este periodo se ha aplicado el algoritmo computarizado citado a 19.564 personas; por lo que la evaluación de los resultados presenta una alta evidencia. Con la utilización de este algoritmo y siguiendo de forma automática las guías clínicas diagnósticas, se ha conseguido detectar un gran número de nuevos casos de enfermedad celíaca, tomar decisiones eficientes para la utilización de marcadores serológicos y derivar de forma adecuada a los/as pacientes a la atención hospitalaria.

Este documento se ha estructurado en 10 capítulos, tal y como se indica a continuación.

Capítulo 1: Introducción en la que se muestra una revisión de la literatura científica sobre la enfermedad celiaca. Se estructura en 10 subcapítulos donde se repasan la epidemiologia, la etiopatogenia, la clínica y de forma exhaustiva las diferentes guías clínicas para la utilización de biomarcadores. Se incluyen los criterios histológicos para el diagnóstico confirmatorio y el tratamiento clásico con dieta sin gluten y también las nuevas terapias en investigación. Por último, se muestran las complicaciones de la enfermedad cuando el diagnóstico se retrasa y la consecuencia más grave de la falta de respuesta al tratamiento, que es la enfermedad celiaca refractaria.

Capítulo 2: Se presentan la justificación y los objetivos de esta Tesis Doctoral.

Capítulo 3: Se recoge la metodología que incluye el ámbito de estudio en el que se desarrollaron los estudios llevados a cabo, el procedimiento, los métodos diagnósticos, las consideraciones

ético-legales, etc. Está estructurado en dos apartados principales, material y métodos generales y en función de los objetivos. Se destaca la descripción de los algoritmos diseñados y de las técnicas del laboratorio empleadas.

Capítulo 4: Corresponde a los resultados de la presente Tesis Doctoral e incluye contenidos de las publicaciones realizadas, de los planes de mejora y de la vía rápida establecidos en base a los resultados obtenidos. Se exponen los principales resultados, aquellos derivados de la actualización de los algoritmos atendiendo a las guías clínicas de referencia, la gestión de la demanda y las implicaciones clínicas de esta Tesis Doctoral. Se estructura en base a los objetivos formulados.

Capítulo 5: Discusión de los resultados, en la que se profundiza y contrasta con la bibliografía científica de referencia en el tema. En particular, sobre el uso de algoritmos diagnósticos, la coordinación entre los diferentes niveles de atención sanitaria para el diagnóstico de enfermedad celíaca, las fuente de datos utilizadas para el cálculo de incidencia mediante marcadores serológicos, etc.

Capítulo 6: Se muestran las limitaciones y fortalezas de los estudios incluidos en esta Tesis Doctoral.

Capítulo 7: Se expone la continuidad de nuestra investigación en los diferentes aspectos de la enfermedad (etiopatogenia, clínica, diagnóstico y tratamiento), cuáles son los principales retos y cómo podemos contribuir a ellos.

Capítulo 8: Muestra las conclusiones.

Capítulo 9: Recoge la bibliografía utilizada.

Capítulo 10: Incluye la información de los anexos.

Con respecto a las características de esta Tesis Doctoral, corresponde a la modalidad monográfica con contenidos derivados de publicaciones. La autora de esta Tesis Doctoral ha contribuido en el diseño, recopilación de datos, análisis estadístico, redacción y sumisión de las publicaciones.

Esta Tesis Doctoral contiene contenidos de los estudios publicados y en fase de revisión incluidos en ella:

1) *Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population.* Int J Environ Res Public Health. 2022 Apr 20;19(9):5020. doi: 10.3390/ijerph19095020. En esta publicación se muestra la implementación de algoritmos para evitar la biopsia diagnóstica en niños con enfermedad celiaca; 2) *Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion*, Int J Environ Res Public Health. 2022 Dec 21;20(1):66. doi: 10.3390/ijerph20010066. En esta publicación se recoge la aplicación del marcador hematológico amplitud de dispersión eritroide para la predicción de enfermedad celiaca en población adultas y geriátrica. Es una revista de primer cuartil con Factor de Impacto de 4.614 (Journal Citacion Reports) en 2022. 3) *Enfermedad celiaca del adulto:auto anticuerpos versus biopsia duodenal* Publicado en un número especial de la revista de Gastroenterología y Hepatología, que es la revista oficial de la Asociación Española para el Estudio del Hígado, Asociación Española de Gastroenterología, y grupo Español de Trabajo en enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa, con factor de impacto 1.9, 2022. Por otra parte, se incluyen contenidos

USC DE COMPOSTELA

de publicaciones en fase de revisión: 4) *Time trend in incidence of celiac disease in a Spanish population*, Clinical and Translational Gastroenterology (CTG); Q2 y factor de impacto 2021 de 4.396. Por otra parte, en esta Tesis Doctoral se incluye la aplicación clínica de los estudios realizados, con los planes de mejora que han sido acreditados por ENAC y la vía rápida confirmatoria para el estudio de la enfermedad celiaca que ha sido implantado en el Área Sanitaria de Lugo, A Mariña y Monforte de Lemos (Lugo, zona Centro).

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

RESUMEN

En los últimos años se han producido grandes avances en el conocimiento de la enfermedad celiaca, tanto en la etiopatogenia e inmunogenética, como en el uso de biomarcadores serológicos para el diagnóstico; así como en las distintas formas clínicas de expresión y enfermedades asociadas a los grupos de riesgo.

En este contexto, los criterios diagnósticos han sido revisados por las sociedades científicas y organismos de referencia; introduciendo cambios en los mismos. Hasta el año 2012 la biopsia duodenal era un requisito obligatorio para el diagnóstico de la enfermedad celíaca. A partir de este año la *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology* (ESPGHAN) estableció la posibilidad de evitar la biopsia en niños y adolescentes cuando se cumplían unos criterios estrictos. Esta misma Sociedad revisó dichos criterios en el año 2020.

A partir de la publicación de estas guías clínicas, siguiendo sus recomendaciones, así como las recomendaciones del Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad Español, se han diseñado y llevado a cabo los estudios que se engloban en esta Tesis Doctoral. En particular, se ha diseñado y aplicado un algoritmo computarizado integrado en el Sistema Informático de Laboratorio para identificar todos los nuevos casos de la enfermedad celiaca, y estandarizar el diagnóstico y seguimiento de esta enfermedad, en edad pediátrica, adultos y ancianos.

Teniendo en cuenta lo expuesto, en esta Tesis Doctoral, se formula como objetivo general optimizar y analizar el rendimiento diagnóstico del uso de biomarcadores en el diagnóstico de la EC mediante la utilización de algoritmos integrados en el Sistema Informático de Laboratorio.

Los estudios englobados en esta Tesis Doctoral han sido realizados en el Área Sanitaria de Lugo, A Mariña y Monforte de Lemos, Lugo zona centro, entre los años 2012 y 2023.

Entre los años 2012 y 2019, se estudiaron todos los pacientes con sospecha de enfermedad celiaca o pertenencia a grupos de riesgo de esta enfermedad (n=19.564; edad entre 9 meses y 87 años).

Con el uso de este algoritmo se ha conseguido sistematizar una forma única de diagnóstico de laboratorio para la enfermedad celíaca, minimizar los casos seronegativos y conocer la incidencia de la enfermedad celiaca para todos los grupos etarios, que en nuestra área sanitaria se encuentra entre las más elevadas del mundo.

Por otra parte, postulamos el uso del parámetro hematológico Ancho de Distribución Eritroide como posible ayuda en la detección de enfermedad celiaca en adultos de mediana edad y en ancianos.

Finalmente (durante los años 2020-2023), en base a los resultados obtenidos, como aplicación clínica de los mismos, se desarrolló y validó un programa de mejora para el diagnóstico de la enfermedad celiaca y se estableció una vía rápida de confirmación diagnóstica en los casos sospecha clínica y grupos de riesgo de la enfermedad (año 2023).

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

RESUMO

Nos últimos anos producíronse grandes avances no coñecemento da enfermidade celíaca, tanto na etiopatoxénese e inmunoxenética, como no uso de biomarcadores serolóxicos para o diagnóstico; así como nas diferentes formas clínicas de expresión e enfermidades asociadas a grupos de risco.

Neste contexto, revisáronse os criterios diagnósticos introducindo cambios nos mesmos. Ata 2012, a biopsia duodenal era un requisito obrigatorio para o diagnóstico da enfermidade celíaca. A partir deste ano, la *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology* (ESPGHAN) estableceu a posibilidade de evitar a biopsia en nenos e adolescentes cando se cumprisen criterios estritos. Esta mesma Sociedade revisou estes criterios en 2020.

A partir da publicación destas guías clínicas, seguindo as súas recomendacións, así como as recomendacións do Ministerio de Sanidade, Servizos Sociais e Igualdade, nesta Tese de Doutoramento deseñouse e aplicouse un algoritmo informatizado integrado no Sistema Informático do Laboratorio para identificar todos os novos casos de enfermidade celíaca, e estandarizar o diagnóstico e seguimento desta enfermidade, en idade pediátrica, adultos e maiores.

Tendo en conta o anterior, nesta Tese de Doutoramento formúlase o obxectivo xeral de optimizar e analizar o rendemento diagnóstico do uso de biomarcadores no diagnóstico da enfermidade celíaca mediante o uso de algoritmos integrados no Sistema Informático do Laboratorio.

Os estudos incluídos nesta Tese de Doutoramento realizáronse na Área Sanitaria de Lugo, na Mariña e Monforte de Lemos, Lugo zona centro, entre os anos 2012 e 2023.

Entre 2012 e 2019 estudáronse todos os pacientes con sospeita de enfermidade celíaca ou pertencentes a grupos de risco desta enfermidade (n=19.564, idade entre 9 meses e 87 anos).

Co uso deste algoritmo, púidose sistematizar unha forma única de diagnóstico de laboratorio da enfermidade celíaca, minimizar os casos seronegativos e coñecer a incidencia da enfermidade celíaca para todos os grupos de idade, que na nosa área sanitaria está entre as máis altas. no mundo.

Por outra banda, postulamos o uso do parámetro hematolóxico Ancho de Distribución Eritroide como unha posible axuda na detección da enfermidade celíaca en adultos de mediana idade e idade avanzada.

Finalmente (durante os anos 2020-2023), a partir dos resultados obtidos, como aplicación clínica dos mesmos, desenvolveuse e validouse un programa de mellora para o diagnóstico da enfermidade celíaca e estableceuse unha vía rápida de confirmación diagnóstica en casos de sospeita clínica. e grupos de risco de enfermidades (ano 2023).

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ABSTRACT

In recent years there have been great advances in the knowledge of celiac disease; including etiopathogenesis and immunogenetics, the use of serological biomarkers for diagnosis, as well as the knowledge of the different clinical forms and diseases associated with CD risk groups.

In this context, the diagnostic criteria have been revised and changes have been introduced. Until 2012 duodenal biopsy was a mandatory requirement for the diagnosis of celiac disease. Thereafter, the European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGHAN) established the possibility of avoiding biopsy in children and adolescents when strict criteria were met; this Society revised these criteria in 2020.

From the publication of these clinical guidelines, following their recommendations, as well as the recommendations of the Spanish Ministry of Health, Social Services and Equality, in this Doctoral Thesis we have designed and applied a computerized algorithm integrated in the Computerized Laboratory System to identify all new cases of celiac disease, and to standardize the diagnosis and follow-up of this disease, in pediatric age, adults and the elderly.

In view of the foregoing, the main aim objective of this Doctoral Thesis is to optimize and analyze the use and performance of biomarkers in the diagnosis of celiac disease using algorithms integrated in the Laboratory Computer System.

The studies included in this Doctoral Thesis have been carried out in the Health Area of Lugo, A Mariña and Monforte de Lemos, Lugo center area, between the years 2012 and 2023. Between the years 2012 and 2019, all patients with suspected celiac disease or belonging to risk groups of this disease were studied (n=19,564; from 9 months and 87 years of age).

With the use of this algorithm, we have managed to systematize a unique form of laboratory diagnosis for celiac disease to minimize seronegative cases and to know the incidence of celiac disease for all age groups, which in our health area is among the highest in the world.

On the other hand, we postulate the use of the hematological parameter Erythroid Distribution Width as a possible aid in the detection of celiac disease in middle-aged adults and elderly.

Finally (years 2020-2023) based on the results obtained, as a clinical application of the results, an improvement program for diagnosis was developed and validated and a fast diagnostic confirmation pathway was established in cases of clinical suspicion and risk groups of celiac disease (year 2023).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpos
Ac AGA	Anticuerpos antigliadina
Ac RTC	Anticuerpos antireticulina
APC	Células presentadoras de antígeno
ACEGA	Asociación de Celiacos de Galicia
ACIS	Axencia de Coñocemento in Saude
ADA	*American Association of Diabetes*
ADE	Ancho de distribución eritroide
AENOR	Agencia española de Normalización y Certificación
ACG	*American College of Gastroenterology*
AGPC	Anticuerpos anticélulas parietales gástricas
AINE	Antiinflamatorios no esteroideos
AOECS	Association of European Coeliac Societies
AP	Atención Primaria
AT	Alergia al trigo
ARA	Anticuerpos antireticulina
ATI	Inhibidores de la Alfa amilasa/tripsina
AYA	Anticuerpos antiyeyuno
BD	Biopsia duodenal
BSG	*British Society of Gastroenterology*
CC	Control de la curva
CIR	Crecimiento intrauterino retardado
CV	Coeficiente de variación
DE	Desviación estándar
DGP	Péptidos desaminados de gliadina
DH	Dermatitis herpetiforme
DLG	Dieta libre de gluten
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
EAI	Enfermedades autoinmunes
EC	Enfermedad celiaca
ECR	Enfermedad celiaca refractaria
ECSN	Enfermedad celíaca seronegativa
ELISA	*Enzime-linked ImmunoSorbent Assay*
ESGE	*European Society of Endoscopic Gastroenterology*
ESPGHAN	*European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*
FACE	Federación de Asociaciones de Celiacos de España
FODMAPs	Oligosacáridos fermentables, disacáridos, monosacáridos y polioles.
GA	Gluten Ataxia
GIP	Péptidos Inmunogénicos de la gliadina

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

HLA	Antígeno leucocitario humano
HULA	Hospital Universitario Lucus Augusti
IBP	Inhibidores de la bomba de protones
IC	Intervalo de confianza
IFI	Inmunofluorescencia indirecta
IFN	Interferón
IgA- EMA	Anticuerpos antiendomisio IgA
IgA-TG2	Anticuerpos antitransglutaminasa 2-IgA
IGF-1	Factor de estimulación de la formación ósea
IgG-DGP	Antipéptidos desaminados de la gliadina IgG
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
ISO	Organización Internacional del Normalización
LIE	Linfocitos intraepiteliales
LSN	Límite superior de Normalidad
LTAE	Linfoma de células T
MICA	Marcadores de estrés de la proteína A
NASPGHAN	Sociedad Norteamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica
NHANES	*National Health and Nutrition Examination Survey*
NICE	*The National Institute for Health and Care Excellence*
NKG2	Receptor activador de superficie de las células NK
OR	Odds Ratio
PET	Tomografía por emisión de positrones
PTH	Parathormona
QCE	Controles externos
RTC	Antireticulina
SBI	Sobrecrecimiento bacteriano intestinal/disbiosis
BSG	Sociedad Británica de Gastroenterología
SEGHNP	Sociedad Española de Gastroenterología Hepatología y Nutrición Pediátrica
SEQC	Sociedad Española de Química Clínica
SEQCML	Sociedad Española de Medicina de Laboratorio
SERGAS	Servicio Gallego de Salud
SGNC	Sensibilidad al gluten no celiaca
SII	Síndrome del intestino irritable
SIL	Sistema informático de laboratorio
SPM	Síndrome Poliendocrino Múltiple
TCR	Receptores de células T
TDAH	Trastorno por déficit de atención/hiperactividad
TFN	Interferón

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

TG2	Transglutaminasa 2
TI	Tiroiditis autoinmune
UC	Urticaria crónica
UK NEKAS	*External Quality Assessment Services*
USC	Universidad de Santiago de Compostela
USPSTF	*United States Preventive Services Task Force*
V/C	Cociente Vellosidad/cripta
VPN	Valor Predictivo Negativo
VPP	Valor Predictivo Positivo
VR	Valor de Referencia

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PUBLICACIONES, PROGRAMA DE MEJORA Y VÍA RÁPIDA DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL

1. Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population.

International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022 Apr 20;19(9):5020. doi: 10.3390/ijerph19095020.

Contribución específica en la publicación: Conceptualización, diseño y metodología del estudio, implementación y acreditación de técnicas en el laboratorio, recogida de datos, análisis de los datos, redacción y revisión del manuscrito original. Incluido en los capítulos de metodología, resultados y discusión (3-5) de esta Tesis Doctoral.

Índices de calidad: International Journal of Environmental Research and Public Health (IJERPH) es una revista Open Access que presenta en el año 2022 un Factor de Impacto de 4.614 (Journal Citacion Reports) en 2022 y un factor de impacto acumulado de 5 años de 4.779. Ocupa la siguiente posición en la categoría que pertenece: JCR - Q1 (Health Public) 45/182.

Autorización de la revista: International Journal of Environmental Research and Public Health (IJERPH) perteneciente al grupo MDPI es una revista Open Access (articles published under an open access Creative Common CC BY license) y permite la reutilización del artículo por parte de la autora.

2. Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion

International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022 Dec 21;20(1):66. doi: 10.3390/ijerph20010066.

Contribución específica en la publicación: Conceptualización, diseño y metodología del estudio, recogida de datos, análisis de los datos, redacción y revisión del manuscrito original. Incluido en los capítulos de metodología, resultados y discusión (3-5).

Índices de calidad: International Journal of Environmental Research and Public Health (IJERPH) es una revista Open Access que presenta en el año 2022 un Factor de Impacto de 4.614 (Journal Citacion Reports) en 2022 y un factor de impacto acumulado de 5 años de 4.779. Ocupa la siguiente posición en la categoría que pertenece: JCR - Q1 (Health Public) 45/182.

Autorización de la revista: International Journal of Environmental Research and Public Health (IJERPH) perteneciente al grupo MDPI es una revista Open Access (articles published under an open access Creative Common CC BY license) y permite la reutilización del artículo por parte de la autora.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3. Enfermedad celiaca del adulto: autoanticuerpos versus biopsia duodenal.

Número especial del VIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC) en la revista de Gastroenterología y Hepatología. Gastroenterología y Hepatología 2022, 45(3) :33-34.

Contribución específica en la comunicación: Conceptualización, diseño y metodología del estudio, recogida de datos, análisis de los datos, redacción y exposición oral de la comunicación. Incluida en los capítulos de metodología, resultados y discusión (3-5).

Índices de calidad: Publicado en un número especial Congreso de la revista de Gastroenterología y Hepatología, revista oficial de la Asociación Española para el Estudio del Hígado, Asociación Española de Gastroenterología, y grupo Español de Trabajo en enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa, con factor de impacto 1.9 en 2022. Ocupa la siguiente posición en la categoría que pertenece: JCR – Q4: 84/93 en Gastroenterología. ISSN: 0210-5705. Open Access. https://seecmadrid2022.com

4. Time Trends Incidence of Celiac Disease in a Spanish Population (En periodo de revisión)

Contribución específica en la publicación: Conceptualización, diseño y metodología del estudio, recogida de datos, análisis de los datos, redacción y revisión del manuscrito original.

Índices de calidad: Clinical and Translational Gastroenterology es una revista Open Acces que presenta Factor de Impacto 2021 de 4.396 y un factor de impacto acumulado 5 años 4.3. Pertenece: JCR – Q2 Rango: 43/93 Gastroenterología y Hepatología.

5. "Programa de mejora 7-2023": Modificación de los Valores de Referencia en niños y adultos para la Enfermedad Celíaca, basados en un estudio prospectivo propio con resultados histológicos de biopsias intestinales" y "Algoritmo diagnóstico_Criterios informáticos_Petitorio electrónico" con el código PNT_10 Ed.3, aprobado en la fecha 30/06/2023 certificado por ENAC dentro de la norma UNE-EN-ISO 15189:2023 y que se aplicará en el Servicio de Análisis Clínicos para la mejora en el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca y la gestión de la demanda de biomarcadores serológicos para esta enfermedad". Anexo 10.5.

6. "Vía rápida de confirmación diagnóstica de la enfermedad celiaca" para mejorar la accesibilidad a las unidades de digestivo (pediátrico y adultos) de los pacientes que presenten autoanticuerpos específicos de enfermedad celíaca en atención primaria y consultas de especialidades hospitalarias. Anexo 10.6.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: 1
INTRODUCCIÓN 1
1.1 Definición 3
1.1.1 Origen histórico de la EC 3
1.1.2 Enfermedades relacionadas con la intolerancia al trigo 5
1.1.2.1 Alergia al Trigo 6
1.1.2.2. Intolerancia al gluten/trigo no celiaca o SGNC 6
1.2 Epidemiología 8
1.2.1 Prevalencia 8
1.2.1.1. España 9
1.2.1.2. Europa 10
1.2.1.3. América del norte 10
1.2.1.4. Latinoamérica 10
1.2.1.5. Asia 11
1.2.1.6. África 11
1.2.2 Incidencia 11
1.2.2.1. Estudios poblacionales de incidencia 11
1.2.2.2. Aumento de la incidencia de la EC a lo largo del tiempo 11
1.2.2.2.1 Estudios de incidencia en todas las edades 12
1.2.2.2.2 Estudios de incidencia en niños 14
1.2.2.2.3 Estudios de incidencia en adultos 15
1.3 Etiopatogenia 16
1.3.1 Factores ambientales 16
1.3.1.1 El gluten 16
1.3.1.2. Otros factores ambientales 17
1.3.1.2.1. Tipo de parto (vaginal o cesárea) 17
1.3.1.2.2. Lactancia materna 17
1.3.1.2.3. Momento y forma de introducción del gluten en la dieta del niño 17
1.3.1.2.4. Infecciones 17
1.3.1.2.5. Situación socioeconómica 17

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.3.2 Factores genéticos 17
1.3.3 Factores inmunológicos: Etiopatogenia 20
1.3.3.2 Inmunidad innata 21
1.3.4 Microbiota 21
1.4 Manifestaciones Clínicas 22
1.4.1 Fenotipos clínicos 22
1.4.1.1 Criterios de Oslo 23
1.4.2 Forma intestinal: manifestaciones clínicas digestivas 25
1.4.3 Forma extraintestinal: manifestaciones clínicas extradigestivas 25
1.4.3.1 Manifestaciones cutáneas y mucosas 26
1.4.3.1.1 Dermatitis herpetiforme 27
1.4.3.1.2. Urticaria 27
1.4.3.1.3. Dermatitis atópica 27
1.4.3.1.4. Psoriasis 27
1.4.3.1.5. Rosácea 28
1.4.3.1.6. Manifestaciones orales 28
1.4.3.1.7. Alopecia areata 29
1.4.2.1.8. Otras manifestaciones cutáneas 30
1.4.3.2 Manifestaciones hematológicas 30
1.4.3.2.1. Anemia 30
1.4.3.2.2. Otras enfermedades hematológicas 31
1.4.3.3 Manifestaciones neuromusculares 31
1.4.3.3.1. Ataxia 32
1.4.3.3.2. Neuropatía periférica 32
1.4.3.3.3. Dolor de cabeza, epilepsia y deterioro cognitivo 33
1.4.3.4 Manifestaciones neuropsiquiátricas 33
1.4.3.4.1. Depresión y ansiedad 34
1.4.3.4.2. Síndrome de hiperactividad y autismo 34
1.4.3.4.3. Otros 34
1.4.3.5 Manifestaciones hepáticas 35
1.4.3.5.1. Hepatitis autoinmune y hepatitis inducida por gluten 35
1.4.3.6 Manifestaciones reproductivas 36

1.4.3.6.1. Infertilidad, abortos y prematuridad 36
1.4.3.7 Manifestaciones endocrinas 37
1.4.3.7.1. Diabetes Mellitus tipo 1 37
1.4.3.7.2. Alteraciones Tiroideas 38
1.4.3.7.3. Síndrome poliendocrino 38
1.4.3.7.4. Estatura baja 38
1.4.3.7.5 Obesidad 38
1.4.3.8 Manifestaciones esqueléticas 39
1.4.3.8.1. Osteopenia y Osteoporosis 39
1.4.3.8.2 Fracturas 40
1.4.4 Forma subclínica 40
1.4.5 Forma potencial 40
1.4.6 Grupos de riesgo y enfermedades asociadas a la EC 41
1.5 Diagnóstico 43
1.5.1 Diagnóstico serológico: autoanticuerpos específicos 43
1.5.1.1 Ac TG2 44
1.5.1.2 Ac EMA 44
1.5.1.3 Ac DGP 45
1.5.1.4 Criterios para la elección de un reactivo comercial y control de calidad 46
1.5.1.4.1 Criterios para elegir una prueba diagnóstica 47
1.5.1.4.2 Controles de calidad internos y externos 48
1.5.2 Diagnóstico histológico: BD 50
1.5.2.1 Clasificación de Marsh-Oberhuer 50
1.5.2.2 Diagnóstico diferencial de la enfermedad celiaca según el grado de biopsia 53
1.5.3 Otras herramientas diagnósticas 54
1.5.3.1 Inmunofenotipo de linfocitos intraepiteliales 54
1.5.3.2 Depósito subepiteliales de IgA-TG2 55
1.5.3.3 Test del interferón gamma (INF-□) ELISPOT y test de tetrámeros HLA DQ2.5-gliadina 55
1.5.3.4 Situaciones de difícil diagnóstico 56
1.6 Guías Clínicas y algoritmos diagnósticos 56
1.6.1 Guías de la ESPGHAN 58

1.6.1.1 Guía ESPGHAN 2012 (185) 58
1.6.1.2 Guías ESPGHAN 2020 59
1.6.2 Algoritmos en AP y especializada (Protocolo del Ministerio de Sanidad Español) 64
1.6.2.1 Secuencia de actuación diagnóstica en AP 64
1.6.2.2 Secuencia de actuación diagnóstica en atención especializada 65
1.6.2.3 Secuencia de actuación en el laboratorio, integrado en el SIL 66
1.6.2.4 Secuencia de actuación diagnóstica en déficits de IgA 66
1.6.3 Algoritmo de actuación en EC seronegativa 67
1.6.4 Escenarios clínicos 67
1.6.4.1 Cribado poblacional 67
1.6.4.2 Cribado diagnóstico en pacientes con sospecha clínica 69
1.6.4.3 Diagnóstico de enfermedad celiaca en situaciones especiales 69
1.6.4.4 La importancia del cribado correcto de la EC 69
1.7 Tratamiento 70
1.7.1. DLG 70
1.7.1.1 Tratamiento en asintomáticos 71
1.7.1.2 Marco legal de productos sin gluten 72
1.7.1.3 Aspectos socioeconómicos de la DLG 72
1.7.1.4 Medicamentos, cosméticos y vacunas de la DLG 73
1.7.2. Seguimiento de pacientes con DLG 73
1.7.2.1. Recomendaciones en el seguimiento de la DLG 75
1.7.2.2. Enfoques en la evolución del seguimiento 76
1.7.2.3. Péptidos inmunogénicos del gluten 77
1.7.3 Nuevas estrategias terapéuticas en la EC 78
1.7.3.1 Basados en la disminución del paso del gluten en la mucosa intestinal 81
1.7.3.2 Basados en la evitación de la degradación del gluten en el tracto intestinal ... 81
1.7.3.3 Basados en la inhibición de la modificación del gluten de la IgA-TG2 81
1.7.3.4 Basados en el bloqueo de linfocitos intraepiteliales 81
1.7.3.5 Basados en la inducción a la tolerancia (Vacuna NEXVAX) 81
1.7.4 Asociaciones de celiacos 82
1.7.4.1 Simbología 82
1.8 Complicaciones y enfermedades asociadas 83

1.8.1 Trastornos autoinmunes 83
1.8.2 Tumores malignos 83
1.8.3 Riesgo cardiovascular 83
1.9 EC no respondedora 84
1.9.1 Plan de actuación ante un paciente con pobre respuesta a la DLG 84
1.9.2 EC refractaria 86
1.9.2.1 Tipos de ECR 87
1.9.2.2 Tratamiento de la ECR 87
1.10 Conclusión: ahondar en el iceberg 88
CAPÍTULO 2: 89
OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN 89
2.1 Objetivos 89
2.1.1 Objetivo general 89
2.1.2 Objetivos específicos 89
2.2 Justificación 89
2.2.1. La EC, un problema de salud pública 89
2.2.2. Experiencia profesional en el ámbito de la autoinmunidad 90
2.2.3. Necesidad en la práctica clínica de biomarcadores diagnósticos de EC mínimamente invasivos y sostenibles 90
2.2.4. Necesidad de estudios de incidencia en todos los grupos de edad 92
2.2.5. Necesidad de implementación de protocolos de mejora en el diagnóstico de la EC 93
2.2.6 Necesidad de un algoritmo diagnóstico aplicable a diferentes grupos de edad 93
2.2.7 Necesidad de un mecanismo rápido de confirmación diagnóstica de la EC para no retrasar el comienzo del tratamiento y evitar los falsos negativos en pacientes que optan por comenzar la DLG antes de la biopsia 94
CAPÍTULO 3: 96
MATERIAL Y MÉTODOS 96
3.1. Metodología General 98
3.1.1. Ámbito de estudio 98
3.1.2. Procedimiento 98
3.1.3. Método diagnóstico 99
3.1.3.1. Diagnóstico serológico 99

3.1.4. BD 100
3.1.5. Genotipado 100
3.1.6. Consideraciones ético-legales 101
3.2 Material y métodos para los Objetivos 1 y 2 101
3.2.1. Diseño y sujetos de estudio 101
3.2.1.1 Diseño informático y reglas expertas 101
3.2.2. Diagnóstico serológico 105
3.2.3 Evaluación histopatológica de la mucosa intestinal 105
3.2.4. Genotipado 105
3.2.5. Seguimiento serológico de los pacientes 105
3.2.6. Análisis estadístico 105
3.3 Material y métodos para el objetivo 3 106
3.3.1. Diseño y sujetos de estudio 106
3.3.2. Evaluación clínica 106
3.3.3. Parámetros de laboratorio: bioquímicos y hematológicos 106
3.3.4. Criterios de diagnóstico 107
3.3.5. Análisis estadístico 107
3.4 Material y métodos para el objetivo 4 108
3.4.1 Diseño y sujetos de estudio 108
3.4.2 Análisis estadístico 110
3.5 Material y métodos para el objetivo 5 111
3.5.1. Muestra 111
3.5.2. Procedimiento 112
3.6 Material y métodos para el objetivo 6 112
3.6.1 Implementación de vía de derivación rápida 112
3.6.2. Puesta en marcha y aplicación 112
3.6.3 Supuestos clínicos de ejecución 113
CAPÍTULO 4. 117
RESULTADOS 117
4.1 Resultados para los objetivos 1 y 2 118
4.1.1. Características de la muestra 118
4.1.2. Manifestaciones clínicas de EC 119

4.1.3. Resultados de acuerdo con el algoritmo 119
4.1.4. Resultados serológicos 121
4.1.5. Genotipado 123
4.1.6. Evaluación histopatológica de la mucosa intestinal 123
4.1.7 Respuesta a DLG 126
4.2. Resultados para el objetivo 3 127
4.2.1. Tasa de detección nuevos casos de EC en ≥45 años 127
4.2.2 Serología y Genotipo HLA 129
4.2.3. Estadios de Marsh en la BD 129
4.2.4 Manifestaciones de EC 129
4.2.5 Comparativa de parámetros hematológicos y bioquímicos entre pacientes con y sin EC 131
4.2.6. Estudio de factores bioquímicos relacionados con la anemia 134
4.2.7. Estudio de rendimiento diagnóstico del ADE en atrofia duodenal en EC 135
4.3 Resultados para el objetivo 4 137
4.3.1. Diagnóstico de EC en todos los grupos etarios 137
4.3.2. Tendencias temporales en la incidencia de EC 139
4.3.3. Tendencias temporales de la incidencia de EC según edad y sexo 139
4.3.4. Tendencias temporales de la incidencia de EC según manifestaciones clínicas 143
4.4 Resultados para el objetivo 5 144
4.4.1 Plan de mejora 144
4.4.2 Establecimiento de nuevos VR diferenciados entre niños y adultos 144
4.4.3 Análisis de modificación de valores y de seronegativos 146
4.5 Resultados para el objetivo 6 150
4.5.1 Integración de vía rápida en el SIL y en el IANUS 150
4.5.2 Resultados preliminares de ejecución 153
4.6 Balance general de la aplicación de los algoritmos y la modificación de las guías espghan 2020. Gestión de la demanda 155
CAPÍTULO 5. 157
DISCUSIÓN 157
5.1. Discusión de los resultados vinculados a los objetivos 1 y 2 160
5.1.1. Con respecto a IgA-TG2 160

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.1.2. Con respecto al IgA-EMA 162
5.1.3. Con respeto al genotipado 164
5.2. Discusión de los resultados vinculados al objetivo 3 165
5.3. Discusión de los resultados vinculados al objetivo 4 168
5.3.1. Uso de algoritmos diagnósticos, número y la calidad de las pruebas serológicas y genéticas, fuente de datos para el cálculo de incidencia, coordinación entre los diferentes niveles de atención sanitaria para el diagnóstico de EC, estrategias de diagnóstico de EC 169
5.3.1.1 Con respecto al algoritmo diagnóstico 169
5.3.1.2 En relación con el número y la calidad de las pruebas serológicas y genéticas disponibles 169
5.3.1.3 Atendiendo a la fuente de datos empleada para el cálculo de incidencia 170
5.3.1.4 Considerando la coordinación entre los diferentes niveles de atención sanitaria para el diagnóstico de EC 170
5.3.2 Estrategias de detección diagnostica de EC 170
5.3.3. Factores genéticos relacionados 172
5.3.4. Factores relacionados con el gluten 172
5.3.5 Otros factores relacionados con la mayor o menor incidencia de la EC 177
5.3.6. Cambio en el patrón de inicio clínico de la EC 177
5.4 Discusión para el objetivo 5 180
5.5. Discusión para el objetivo 6 181
CAPÍTULO 6 184
LIMITACIONES Y FORTALEZAS 184
CAPÍTULO 7. 185
CONTINUIDAD DE NUESTRAS INVESTIGACIONES 185
7.1 En la etiopatogenia 185
7.2 En la clínica 186
7.3 En el diagnóstico 186
7.4 En el tratamiento 186
CAPÍTULO 8 188
CONCLUSIONES 188
CAPITULO 9. 190
BIBLIOGRAFÍA 190

CAPITULO 1O. 219
ANEXOS 219
ANEXO 10.1. 220
ANEXO 10.2 231
ANEXO 10.3 245
ANEXO 10.4. 250
ANEXO 10.5 263
ANEXO 10.6. 268

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Creciente fértil. Adaptación por la autora de esta Tesis Doctoral. Imagen de libre acceso disponible en https://ar.pinterest.com/pin/829154981369260765/ 4

Figura 2: Principales hitos históricos en el diagnóstico de la EC. 5

Figura 3. Nomenclatura de los trastornos relacionados con el gluten. 6

Figura 4. Prevalencia mundial de la enfermedad celiaca 9

Figura 5. Diferencias geográficas en la incidencia 100.000 personas/año antes del año 2000 (A) y después del año 2000 (B). 12

Figura 6: Complejo HLA. 18

Figura 7. Fisiopatología de la EC. Interacción del gluten con factores ambientales, autoinmunes y genéticos. 20

Figura 8. Fenotipos clínicos de la EC según los criterios de Oslo. 24

Figura 9. Teoría del Iceberg celiaco 25

Figura 10. Manifestaciones cutáneas y mucosas. 29

Figura 11. Manifestaciones neuromusculares. 32

Figura 12: Manifestaciones neuropsiquiátricas. 33

Figura 13: Manifestaciones Hepáticas. 35

Figura 14. Manifestaciones reproductivas en la EC. 36

Figura 15. Tipos de manifestaciones endocrinas más frecuentes. 37

Figura 16. Fisiopatología de la osteoporosis en la EC 39

Figura 17. Resumen gráfico de las manifestaciones extraintestinales de la EC 41

Figura 18. Pilares del diagnóstico de la EC. 43

Figura 19. A, fundamento de Inmunofluorescencia indirecta. Elaboración propia. B, Imagen propia correspondiente a sustrato esófago distal de mono. 45

Figura 20. Equipos utilizados en la determinación de marcadores serológicos específicos de EC en el área sanitaria de Lugo (Hospital Universitario Lucus Augusti). 47

Figura 21. Ejemplo del informe de control externo UK-NEKAS (Hospital Universitario Lucus Augusti). 49

Figura 22 Clasificación de Marsh modificada por OberHuber 1999. 51

Figura 23. Esquema de las anomalías inmunológicas específicas detectadas en los LIE por citometría de flujo en EC. Indicaciones diagnósticas. 55

Figura 24. Evolución de los criterios ESPGHAN para el diagnóstico de la EC en niños. 57

Figura 25. Preguntas formuladas y recomendaciones de la guía ESPGHAN 2020. 60

USC DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 26. Algoritmo de actuación en atención primaria. 62
Figura 27. Algoritmo de actuación en atención hospitalaria: gastroenterología pediátrica. 62
Figura 28. Algoritmo de actuación en déficit de IgA. 63
Figura 29. Protocolo de actuación según los resultados histológicos. 63
Figura 30. Supuestos clínicos en AP. 65
Figura 31. Secuencia de actuación diagnóstica de la enfermedad celiaca en atención especializada. 65
Figura 32. Algoritmo en vigor sintetizado para el diagnóstico precoz de la EC en el HULA. 66
Figura 33. Algoritmo diagnóstico para atrofia seronegativa. 67
Figura 34. Familiares de primer grado. 68
Figura 35. Problemas del infra y sobrediagnóstico. 70
Figura 36. Beneficios y desafíos de la DLG. 71
Figura 37. Evolución de la diferencia de precios de productos sin gluten 2009-2023. 72
Figura 38. Nuevo enfoque en el tratamiento, seguimiento y evolución de la EC. 76
Figura 39. Procedimiento de análisis de péptidos inmunogénicos del gluten en orina. 78
Figura 40. Mecanismo de actuación de nuevas estrategias terapéuticas. 80
Figura 41. Algoritmo de actuación ante el paciente con sospecha de EC que no responde a la dieta sin gluten. 85
Figura 42. Orden cronológico de los estudios 97
Figura 43: Ámbito de los estudios que se recogen en esta Tesis Doctoral. 98
Figura 44: Nuevo petitorio electrónico con un único perfil de diagnóstico. 102
Figura 45. Algoritmo diagnóstico elaborado por la autora de esta Tesis Doctoral que fue integrado en el SIL para menores de 4 años. 103
Figura 46. Algoritmo diagnóstico elaborado por la autora de esta Tesis Doctoral que fue integrado en el SIL para mayores de 4 años y adultos. 104
Figura 48. Diagrama de flujo del diagnóstico de EC integrado niños y adultos. 109
Figura 49. Clasificación de informes histológicos de biopsias por grado de MARSH según informes de anatomía patológica. 111
Figura 50. Supuesto de activación de vía rápida en pediatría (<15 años). 114
Figura 51. Supuesto de activación de vía rápida en adultos (≥15 años). 115
Figura 52. Supuesto de activación de vía rápida en déficit de IgA. 116
Figura 53. Distribución de edades (A) y distribución porcentual según edad 118
Figura 55. A: Relación entre los títulos de IgA-TG2 y EMA 122

Figura 56. Distribución porcentual según grupo de HLA DQ. 123
Figura 57. Valores de IgA-TG2 en pacientes que evitaron la biopsia o se sometieron a ella. 124
Figura 58. Histograma de frecuencias de técnicas cuantitativas. 125
Figura 59. Diagrama de flujo del diagnóstico de EC. 128
Figura 60. Anemia en pacientes con nuevo diagnóstico de EC, ajustada por edad y sexo. ... 130
Figura 61. Box plot de todas las variables continúas analizadas 133
Figura 62. Asociación entre parámetros hematológicos y EC. 134
Figura 63. Curva ROC relación entre atrofia duodenal y el ADE. 136
Figura 64. Loess Smoothing y predicción en (A) niños/adolescentes versus Adultos ancianos y (B) bianual por grupos de edad. 142
Figura 65. Loess Smoothing y predicción por sexo 143
Figura 66. Líneas de regresión ANCOVA de proporción de manifestaciones de EC. 143
Figura 67. Análisis ROC. Rendimiento diagnóstico de transglutaminasa sobre enfermedad celiaca confirmada. 145
Figura 68. Análisis ROC. Rendimiento diagnóstico de transglutaminasa sobre atrofia duodenal 145
Figura 69. Diferencia de medias de IgA-TG2 para niños y adultos. 146
Figura 70. Valores de la medianas ±95% IC. 146
Figura 71. Clasificación de grados de Marsh para los intervalos definidos de valores de TG2. 147
Figura 72. Porcentaje de seronegativos y seropositivos de EC en adultos 147
Figura 73. Valor de IgA-EMA en seronegativos para EC. 148
Figura 74. Relación entre valores séricos de IgA-TG2 y títulos de IgA-EMA. 149
Figura 75. Infografía: establecimiento de un sistema de derivación rápida para la confirmación diagnóstico de enfermos celiacos 151
Figura 76. Comentarios de ejecución de la vía rápida a partir de los perfiles generados en el petitorio electrónico. 152
Figura 77. Flujo de trabajo establecimiento de la vía rápida. 153
Figura 78. Aplicación de la vía rápida. Porcentaje de aplicación por edad. 154
Figura 79. Casos derivados a estudio por vía rápida en adultos. 154
Figura 80. Aumento de peticiones desde la aplicación del algoritmo. 155
Figura 81. Diferencias en el Nº de solicitudes después de la modificación de las Guías y representación gráfica de la diferencia bianual en el número de solicitudes de los tres marcadores serológicos específicos (Guías 2012-2020). 156

Figura 82. Esquema de los estudios de investigación derivados de esta Tesis Doctoral. 159

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Riesgos atribuidos a las distintas combinaciones de haplotipos. 19
Tabla 2: Grados de alteraciones orales 29
Tabla 3. Grupos de riesgo y enfermedades asociadas de la EC. 42
Tabla 4. Sensibilidad y especificidad de marcadores serológicos de EC. 46
Tabla 5. Clasificaciones de grado atrofia vellositaria. 52
Tabla 6. Enfermedades a considerar en el diagnóstico diferencial de la EC según resultado de la biopsia. 53
Tabla 7. Guías clínicas para el diagnóstico de la EC. 64
Tabla 8. Monitorización en la EC. 75
Tabla 9. Nuevas estrategias terapéuticas. 80
Tabla 10. Acreditaciones y reacreditaciones de procedimiento de laboratorio. 99
Tabla 11. Métodos diagnósticos y VR de EC. 100
Tabla 12. Parámetros bioquímicos y hematológicos. 107
Tabla 13. Manifestaciones clínicas y factores de riesgo de EC en pediatría. 119
Tabla 14. Características demográficas de los pacientes diagnosticados de EC. 127
Tabla 15. Manifestaciones clínicas de EC. 130
Tabla 16. Parámetros hematológicos. Comparación entre pacientes sin EC y pacientes con EC. 131
Tabla 17. Parámetros bioquímicos. Comparación entre individuos sin EC y con EC. 132
Tabla 18. Comparación entre individuos sin EC y con EC. Variables continúas 132
Tabla 19. Factores bioquímicos relacionados con la anemia. 135
Tabla 20. Correlación atrofia y ADE. 136
Tabla 21 Correlación IgA-TG2 y ADE. 136
Tabla 22. Resultados de IgA-TG2 para los diferentes grupos de edad 137
Tabla 23. Resultados de IgA-EMA para los diferentes grupos de edad. 137
Tabla 24. Correlación entre IgA-EMA y IgA-TG2. 138
Tabla 25. Método de diagnóstico y grado de Marsh-Oberhuber* 138
Tabla 26. Distribución genética. 139
Tabla 27. Incidencia de EC por 100.000 personas/año atendiendo a etapa etaria 139

Tabla 28. Incidencia de EC por 100.000 personas/año atendiendo a sexo 140
Tabla 29. EC Incidencia de EC por sexo y grupo de edad por 100.000 personas/año 141
Tabla 30. Umbral y medidas de precisión IgA-TG2/EC. 145
Tabla 31. Umbral y medidas de precisión IgA-TG2/atrofia 145
Tabla 32. Valor predictor de atrofia. 145
Tabla 33. IgA-TG2 según tipo de biopsia y Grado de atrofia Marsh en la BD. 146
Tabla 34. Hallazgos endoscópicos en EC. 149
Tabla 35. Calculo en las diferencias estadísticas basadas en la gestión de la demanda aplicando guías clínicas.....156

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 1:

INTRODUCCIÓN

Esta introducción se compone de 10 subcapítulos en los que se aborda una revisión de la enfermedad celiaca (EC) de acuerdo con la estructura abajo indicada. A lo largo de la misma se aborda el marco conceptual del tema de estudio en base a las evidencias científicas actualizadas. Por otra parte, se recogen contenidos de publicaciones y de otras actividades investigadoras realizadas por la autora de esta Tesis Doctoral.

SUBCAPÍTULO 1

Definición de la enfermedad como proceso autoinmune sistémico que afecta a todas las edades y diferentes grupos étnicos. Se aborda en este primer capítulo el origen histórico de la enfermedad haciendo hincapié en la repercusión que el descubrimiento de biomarcadores autoinmunes ha supuesto en la caracterización de la enfermedad. Una vez definida la enfermedad, se encuadra y se establece la diferencia con todos los trastornos relacionados con el gluten.

SUBCAPÍTULO 2

Epidemiología de la enfermedad. Se hace una revisión de la prevalencia y la incidencia de la enfermedad y de las diferencias epidemiológicas en los distintos países y continentes, basada en los estudios existentes al respecto.

SUBCAPÍTULO 3

Etiopatogenia. Se describen las causas de la enfermedad y los mecanismos fisiopatológicos implicados en la génesis de la enfermedad. Se describen como mecanismos fundamentales el gluten, principal factor ambiental, y los haplotipos antígeno leucocitario humano (HLA) DQ2 y DQ8, como factores de predisposición genética. También se hace mención a la microbiota, otro de los factores que constituyen un campo emergente en la investigación de esta enfermedad.

SUBCAPÍTULO 4

Se aborda el análisis de las manifestaciones clínicas. El espectro clínico de la enfermedad ha variado y es muy amplio; en este capítulo se describen todos los fenotipos clínicos, tanto formas gastrointestinales, más reconocibles por ser de presentación típica en niños, como las manifestaciones extradigestivas las cuales se exponen detalladamente. Además, se describen otras formas de presentación frecuente, la forma subclínica y la asintomática; responsables de que esta enfermedad este infradiagnosticada. Se describen las peculiaridades en los distintos grupos de edad y los grupos de riesgo. Todas estas formas clínicas han sido estudiadas por la autora de esta tesis para todos los grupos de edad, haciendo un estudio exhaustivo de las formas

extraintestinales en adultos y especialmente de la anemia y la alteración serológica de los parámetros hematológicos.

SUBCAPÍTULO 5

Se estudia el diagnóstico de la enfermedad. El diagnóstico confirmatorio se basa en la combinación de marcadores serológicos específicos y de la biopsia intestinal considerada el "Gold estándar" en el diagnóstico. En este capítulo se describen los autoanticuerpos de mayor sensibilidad y especificidad utilizados para el diagnóstico serológico y los criterios histológicos actuales para el diagnóstico de la enfermedad (Marsh-Oberhuber). También se repasan las nuevas herramientas diagnósticas, todavía no implementadas en la mayoría de los laboratorios.

SUBCAPÍTULO 6

Se presenta la estrategia de utilización de los biomarcadores mediante las guías clínicas y los protocolos de diagnóstico precoz. Se incluyen los algoritmos para atención primaria (AP) y especializada y el algoritmo en EC seronegativa. En el año 2012 la ESPGHAN publicó unas guías clínicas según las cuales, en niños y adolescentes se podría realizar un diagnóstico de EC sin necesidad de biopsia duodenal (BD) si se cumplían de forma estricta una serie de criterios clínicos, serológicos y genéticos. En el año 2020 estas guías fueron revisadas

SUBCAPÍTULO 7

En este capítulo se describe el tratamiento de la EC que consiste en la rápida instauración de una alimentación libre de gluten (DLG) que consigue, no sólo la normalización del estado de salud, sino también la recuperación de la calidad de vida de los pacientes, evitando complicaciones. Se describe la DLG y los protocolos de seguimiento en los enfermos celiacos. También se repasa las nuevas estrategias terapéuticas para la EC que están en estos momentos en fase de investigación.

SUBCAPÍTULO 8

Se refiere el pronóstico y las complicaciones de la EC.

SUBCAPÍTULO 9

Se analiza la EC que no responde al tratamiento, es decir, que no responde a la DLG. Se describe la actuación a seguir y presentamos un subcapítulo en el que se define la enfermedad celiaca refractaria, su clasificación y como se llega al diagnóstico a la que es considerada la forma más grave de EC. Se describe la actuación a seguir.

SUBCAPÍTULO 10:

Se expone una conclusión a la introducción.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.1 DEFINICIÓN

La EC es un trastorno sistémico de base inmunológica, causado por la ingesta de gluten y otras proteínas afines que afecta a individuos genéticamente susceptibles. Se caracteriza por la presencia de diversas manifestaciones clínicas dependientes de la ingestión de gluten, autoanticuerpos circulantes específicos, haplotipos HLA DQ2 (DQ2.5 y/o DQ2.2) y/o DQ8 y enteropatía (1).

Esta enfermedad autoinmune se asocia con un mayor riesgo de malignidad (2) y muerte(3), riesgos que disminuyen hasta alcanzar los de la población general en los años posteriores al diagnóstico y tras la instauración del único tratamiento reconocido para la EC, una DLG.

En los últimos años se ha producido cambios significativos en el diagnóstico, patogenia e historia natural de la EC que supone una verdadera "metamorfosis" de la enfermedad debido al incremento de diagnósticos, incluidos los/as pacientes geriátricos. La disponibilidad de test de cribado altamente sensibles y específicos, los cuales han permitido identificar grupos de riesgo, ha conducido a un aumento significativo de diagnósticos de EC en todo el mundo; considerándose hoy en día un problema de salud pública (4,5).

1.1.1 Origen histórico de la EC

Tres nombres son fundamentales en la historia de la enfermedad:

Areteo de Capadocia educado en la cultura griega trabajó en Roma, en la época de Nerón. Durante años reside al este de Turquía en un territorio del Oriente Próximo conocido como "Media Luna Fértil" o "Creciente fértil" (Figura 1) ubicado entre los ríos Éufrates y Tigris y el Nilo. En esa zona tiene lugar una gran revolución en la alimentación, condicionada por el cultivo de cereales, que implica un incremento muy marcado en el consumo de granos que contienen gluten, creando las condiciones para la aparición de enfermedades relacionadas con la exposición a sus proteínas. Areteo de Capadocia, en el 1 d C escribió un tratado titulado "*Sobre las causas y los síntomas de las enfermedades"*, uno de los mejores manuales clínicos de la antigüedad, donde describen con detalle los síntomas y métodos diagnósticos conocidos para muchas enfermedades, considerándosele el primer médico en describir la celiaquía. A él le debemos el nombre "Koliacos" en griego significa "aquellos que sufren del intestino".

Samuel Gee (1839-1911) (6) médico británico, cuyo conocimiento del griego le permitió estudiar los textos de Areteo de Capadocia, publicó la primera referencia a una descripción clínica totalmente detallada de una enteropatía provocada por trastornos en la alimentación, describiendo la celiaquía como un síndrome de malabsorción intestinal que se desencadena al ingerir algún alimento, e insistió en la importancia de la dieta para su curación, conservando el término "celiaca" en honor de Areteo.

William Karel Dicke (pediatra holandés) estableció la relación entre el consumo de gluten y la aparición de los síntomas de la enfermedad. Dicke, en su Tesis Doctoral presentada en 1950 en la universidad de Utrecht, basándose en la observación de la ausencia de EC en Holanda durante la II guerra mundial, coincidiendo con la hambruna debida a la carencia de harina de trigo, describió magistralmente y demostró por primera vez la relación entre la ingesta de determinados cereales y la presentación de la enfermedad. Él comprobó que la EC se desencadenaba al ingerir harinas de trigo y centeno en sujetos predispuestos y, poco después, el mismo, junto con Weijers (pediatra) y Van de Kamer (bioquímico), demostraron que la acción tóxica de la harina estaba ligada al gluten, y más concretamente a la gliadina que es la fracción proteica de los cereales (7).

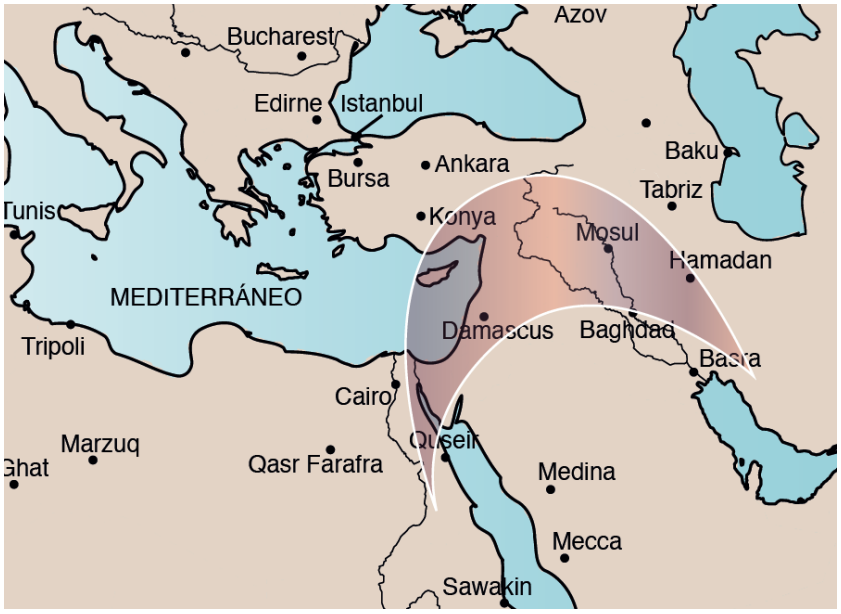


Figura 1. Creciente fértil. Adaptación por la autora de esta Tesis Doctoral. Imagen de libre acceso disponible en https://ar.pinterest.com/pin/829154981369260765/

En 1954 se comenzaron a realizar biopsias perorales de intestino delgado y su introducción, fue fundamental en la confirmación del diagnóstico de la EC ya que permitió tanto revelar el aplanamiento característico de la mucosa expuesta al gluten, conocer las alteraciones morfológicas y los cambios histológicos que se producían en ella como la recuperación de la mucosa después de la DLG; aportando al mismo tiempo un método de diagnóstico rápido y eficaz (8).

Un hito en el diagnóstico de enfermedad y en la consideración de su carácter autoinmune fue la identificación de los anticuerpos antigliadina (AGA) (1964) y antireticulina (Ac RTC) (1971), aunque pronto disminuyó su relevancia debido a su falta de especificidad.

Otra fecha clave corresponde a 1972 cuando se sospechó la influencia genética de la enfermedad y se descubrió la asociación de la EC con los HLA de manera simultánea por Stokes (9) en Gran Bretaña y por Falchuck en EE. UU (10).

Un gran cambio y un gran avance en el diagnóstico fue el descubrimiento en 1983 de los anticuerpos antiendomisio (EMA), determinados mediante inmunofluorescencia (IFI) y de gran especificidad, que se identifican a través de su relación con la dermatitis herpetiforme (11). Los IgA-EMA, con una sensibilidad y especificidad superior al 95%, revolucionan la detección serológica de la EC; facilitando estudios epidemiológicos que demuestran la alta prevalencia de la EC en población general y la diversidad de sus formas de presentación clínica.

Sin embargo, el verdadero avance para el diagnóstico de la EC tiene lugar en 1997, cuando Dieterich aísla el antígeno principal frente al que reaccionan los EMA: la enzima transglutaminasa tisular tipo 2 (TG2) (12) cuya determinación era mucho más sencilla y económica mediante ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)*.

Los últimos anticuerpos en aparecer, tras el descubrimiento de la desaminación de la gliadina producida por la TG2, son los Anticuerpos anti antipéptidos desaminados de gliadina (DGP)(13).

En la Figura 2 se esquematizan las fechas y acontecimientos más relevantes en la historia de la enfermedad.

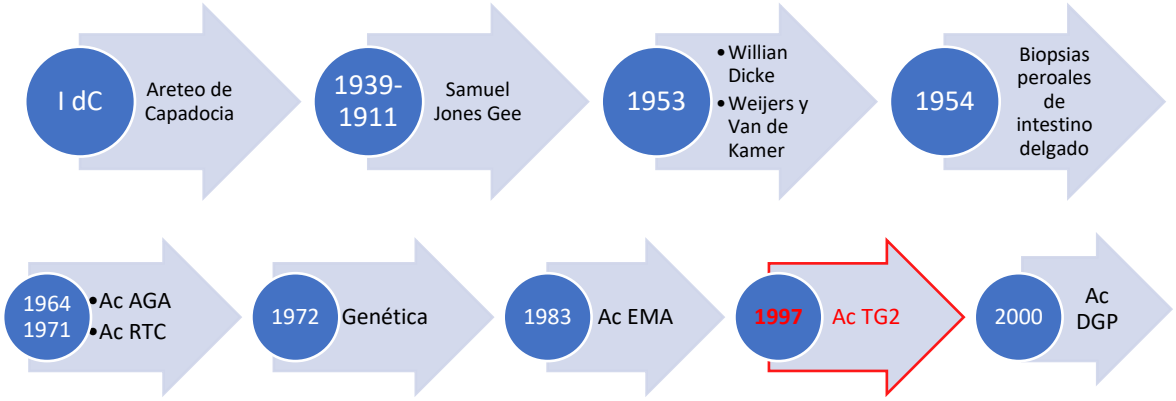


Figura 2. Principales hitos históricos en el diagnóstico de la EC. En rojo se destaca el principal avance en el diagnóstico de la EC. Elaboración propia. Abreviaturas: AGA, anticuerpos antigliadina; Ac DGP, anticuerpos antigliadina desaminada; Ac EMA, anticuerpos antiendomisio; Ac RTC, anticuerpos antireticulina; Ac TG2, anticuerpos antitransglutaminasa; EC, Enfermedad Celíaca.

Aunque las fechas y nombres anteriores se consideran los principales hitos históricos en el diagnóstico de la enfermedad, queremos considerar otros autores españoles y otras fechas que también contribuyeron al conocimiento de la EC. La primera referencia española acerca de la EC corresponde al libro "Método y orden de curar las enfermedades de los niños: Tratado de Jerónimo Soriano" publicado en 1600 por el médico turolense Jerónimo Soriano, casi tres siglos antes del trabajo de Samuel Gee. En dicho libro se recogen las "cámaras (diarreas) celiacas"(14) y cómo tratarlas. El pediatra español Santiago Cavengt Gutiérrez, publicó los primeros casos de EC en España.(15). Fue presidente y uno de los fundadores de la Asociación Española de Pediatría (1949-1952).

1.1.2 Enfermedades relacionadas con la intolerancia al trigo

La EC fue la primera patología en la que se estableció la relación causal con estas proteínas alimentarias. Recientemente se han descrito la alergia al trigo (AT) y la intolerancia al gluten/trigo no celiaca, también llamada sensibilidad al gluten no celiaca (SGNC). Aunque sus formas de presentación clínica y su relación con la dieta pueden ser similares, los mecanismos patogénicos, forma de diagnóstico y tratamiento difieren. Por ello, es necesario establecer el diagnóstico diferencial y conocer los principales aspectos de estas 3 condiciones.

En la Figura 3 se presenta una clasificación actual de los trastornos relacionados con el gluten.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

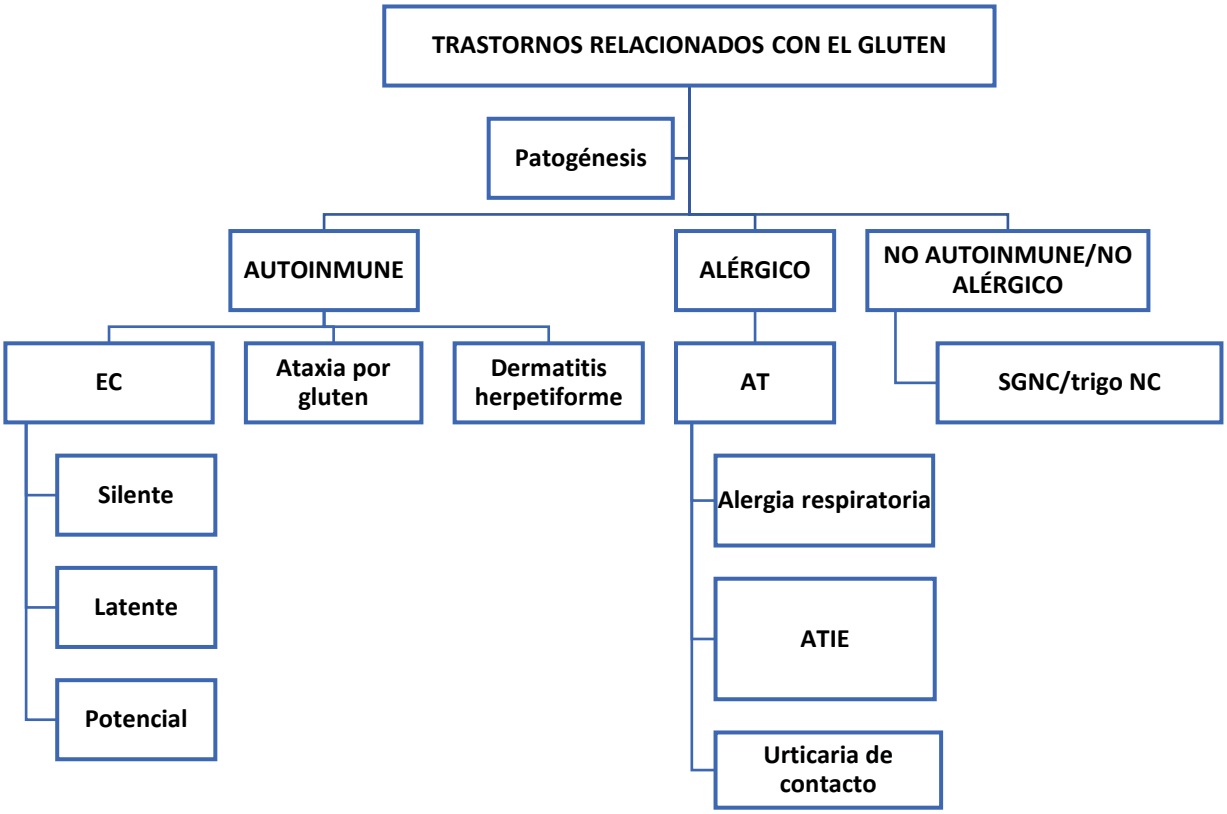


Figura 3. Nomenclatura de los trastornos relacionados con el gluten. Elaboración propia, adaptada de Sapone et al (16). Abreviaturas: AT, Alergia al trigo; ATIE, Alergia al trigo por intolerancia al ejercicio; EC, Enfermedad Celíaca; NC, No celíaca; SGNC, Sensibilidad al gluten no celíaca

1.1.2.1 Alergia al Trigo

La AT se define como un tipo 2 adverso inmunológico de células T auxiliares en reacción a las proteínas del trigo y generalmente se presenta poco después de la ingestión del trigo, con signos de anafilaxia como hinchazón o picor en la boca, la garganta y la piel; congestión nasal, lagrimeo y dificultad para respirar. La AT es más común en los niños, con prevalencia entre 2% y 9% en niños y entre 0,5% y 3% en adultos (16).

1.1.2.2. Intolerancia al gluten/trigo no celiaca o SGNC

Es un término utilizado para describir a las personas que tienen signos o síntomas intestinales relacionados con la ingestión de alimentos que contienen gluten y que presentan mejoría cuando estos se retiran de la dieta. La frecuencia de la SGNC se desconoce debido a la falta de biomarcadores validados, pero se cree que es más común que la EC (17).

La SGNC representa un desafío clínico porque comparte con la EC patrones de presentación clínica como dolor y distensión abdominal postprandial, cambios en el ritmo intestinal, síntomas del síndrome del intestino irritable (SII), intolerancia a azúcares y la disbiosis (SBI). En ocasiones el problema se agrava porque el paciente ha tomado la decisión de retirar el gluten de su dieta sin haber sido diagnosticado mediante una

evaluación clínica y serológica. En estos casos existe la posibilidad de un falso negativo en los resultados serológicos y/o la presencia de lesiones histológicas atenuadas, que aumentan y agravan la dificultad del diagnóstico.

A diferencia de la EC no presenta alteraciones en la permeabilidad intestinal y el mecanismo predominante en su patogenia, es la activación de la inmunidad innata (18). Además del gluten, existirían otros antígenos desencadenantes, incluyendo los inhibidores de la Alfa-amilasa/tripsina (ATI) y algunos carbohidratos como los Oligosacáridos fermentables, disacáridos, monosacáridos y polioles (FODMAPs), que podrían contribuir a generar los síntomas propios de la SGNC.

Los marcadores serológicos específicos de la EC son negativos, aunque se han descrito la positividad de los Ac AGA nativa IgG en el 66% de los niños estudiados con SGNC (16). No se han descrito diferencias en otros marcadores inflamatorios, bioquímicos e inmunológicos.

Aunque ambas condiciones EC y SGNC se tratan con una DLG, es importante distinguirlas para la terapia a largo plazo. Los pacientes con EC deben ser seguidos de cerca por la adherencia a la dieta, las deficiencias nutricionales y el desarrollo de posibles comorbilidades (17). A diferencia de la EC, la SGNC no requiere una adherencia estricta a esta dieta porque no se han demostrado complicaciones a largo plazo.

En resumen, el diagnóstico de SGNC sólo puede alcanzarse excluyendo la EC y la AT. Su confirmación requiere la regresión de los síntomas tras un periodo de tiempo con DLG y su reaparición tras una prueba de provocación y una respuesta clínica inequívoca (19). Por otro lado, aunque no hay evidencia en la literatura actual que demuestre que la SGNC se presente exclusivamente con una anomalía leve o casi normal de la mucosa duodenal, los pacientes sensibles al gluten con serología negativa y cambios severos en las mucosas se denominan EC seronegativa (ECSN) (19).

Se ha descrito que podría haber al menos cierta superposición entre SGNC y ECSN. Las investigaciones futuras deberían tener como objetivo identificar biomarcadores fiables para el diagnóstico de SGNC y definir mejor los distintos subgrupos de ECSN (20).

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.2 EPIDEMIOLOGÍA

1.2.1 Prevalencia

La prevalencia de la EC ha experimentado un notable aumento en las tres últimas décadas, siendo una de las enfermedades de transmisión genética más frecuentes en los países de población caucásica.

Actualmente se considera que la prevalencia de la EC se sitúa en el 1% en los países occidentales. Incluso, podría ser más elevada debido a la mejora de los métodos diagnósticos; especialmente al desarrollo de test serológicos de alta sensibilidad y especificidad(21).

Sing et al (22) publicaron en el año 2018 un metaanálisis con los valores de prevalencia en los distintos países del mundo, estratificando la prevalencia en 4 grupos de percentiles, representado por los percentiles 0-25 (bajo grado) hasta los percentiles 76-100 (alto grado).

En el caso de los estudios de seroprevalencia el rango menor y el mayor son 0,2%-0,8% y 2,1%- 8,5%, respectivamente. En los estudios cuyos datos están basados en la BD, los ratios de prevalencia de los países en el rango de menor a mayor oscila desde 0,2% a 0,4% y desde 0,9% a 2,4%, respectivamente.

Según estos datos existe una amplia variación en la prevalencia según el área geográfica. Así, la EC es frecuente en Europa, América del Norte y del Sur, Australia, Asia sudoccidental y África del Norte, donde existe un alto consumo de trigo y donde más del 30% de la población porta el haplotipo DQ2 compatible con EC. Por el contrario, la EC es extremadamente rara en el Lejano Oriente y en África subsahariana, donde el trigo y otros cereales con gluten no son alimentos básicos (22).

En la Figura 4 se exponen las diferencias en la prevalencia entre los distintos países y continentes, y en función de los métodos de diagnóstico para calcularla.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

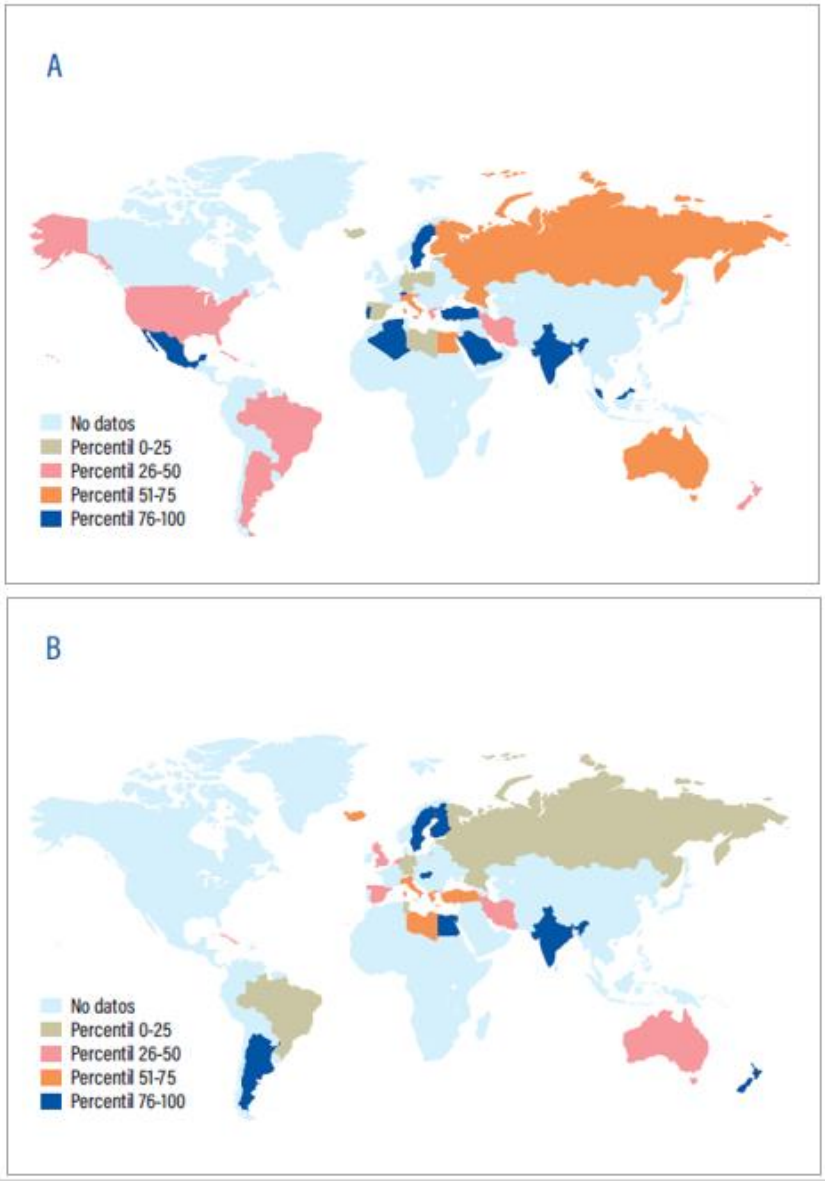


Figura 4. Prevalencia mundial de la EC. A: Seroprevalencia; B: Prevalencia basada en biopsia de intestino delgado. Elaboración propia, adaptado de Sing et al (22). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca.

La prevalencia de EC es más alta en los familiares de EC de primer grado (10-15%) y en otros grupos de riesgo, como pacientes con determinados síndromes genéticos (Down, Turner, Williams) y con otras enfermedades autoinmunes (EAI) como síndrome de Tiroiditis, Sjögren, Hepatitis autoinmune o Diabetes tipo 1 (DM1) (1).

A continuación, se describen los datos de prevalencia más destacables en España y en las distintas zonas continentales.

1.2.1.1. España

En España no se dispone de estudios de prevalencia poblacionales que incluyan todas las comunidades, hasta ahora han sido publicados 4 estudios epidemiológicos en diferentes comunidades autónomas, que nos podrían ofrecer una aproximación a la que puede ser la realidad de la prevalencia general en España: 0,45-0,85% en la población pediátrica y 0,26% en la población adulta.

A continuación se refieren los mismos: (a) Estudio realizado por Cilleruelo (23) en el área IX de Madrid en niños de 10-12 años, donde se detectó la EC en 1:220 niños; (b) estudio de Riestra et al en Asturias (2000) (24), fundamentalmente en adultos, donde se detectó EC en 1:389 personas; (c) estudio realizado por Castaño et al (25) en el País Vasco (2004), en niños en los que la prevalencia fue de 1:118; (d) Estudio de García et al (26) en donantes de sangre de la comunidad de Madrid, en el que se encontró una prevalencia de 1 cada 3700 personas, con una relación entre EC conocida/silente de 1/1. Este último estudio demostró que, si se incluían las formas leves del espectro de enteropatía (Marsh I), la prevalencia aumentaba a 1:222.

1.2.1.2. Europa

La prevalencia de la EC en poblaciones del oeste de Europa es cercana al 1%, pero existen importantes variaciones entre ellas por lo que no se deben extrapolar resultados de distintas áreas geográficas. Por ejemplo, la prevalencia en Finlandia e Irlanda es muy elevada (1:67, 1:81), mientras que en Alemania es baja (1:518). Estas diferencias se atribuyen a la variación de distintos factores ambientales (momento de introducción del gluten, infecciones gastrointestinales, etc.), que también podrían explicar las diferencias entre zonas geográficas próximas y los cambios de incidencia en una misma área geográfica, la llamada "epidemia sueca" (27). Este último estudio llevado a cabo por Ivarsson (27) en Suecia analiza las tendencias en la aparición de EC sintomática en niños entre los años 1985 a 1987. La tasa de incidencia anual en niños menores de 2 años se cuadruplicó hasta alcanzar 200-240 casos por 100.000 personas/año. Más tarde a partir de 1995 se produjo un fuerte descenso de la incidencia hasta el nivel de años anteriores de 50-60 casos por 100.000 personas/año. Este patrón epidemiológico parece tener relación con una interacción entre tres factores dentro del área de la alimentación infantil: la cantidad de gluten administrada, la edad en el momento de la introducción del gluten, y si la lactancia materna estaba en curso o no cuando se introdujo el gluten. Es posible que otros factores hayan contribuido, cuya búsqueda debería intensificarse. Este patrón epidémico para una enfermedad crónica de patogénesis inmunológica sugiere que la prevención podría ser posible.

1.2.1.3. América del norte

La EC es una enfermedad cada vez más común en la población de América del Norte. Fasano et al en 2003 (28) encontraron una prevalencia de 1:105 en la población general sin riesgo, por lo que dedujeron que la EC estaba infradiagnosticada. Catassi et al (29), en una cohorte seguida durante 15 años (1985 y 2000), observaron que la prevalencia de EC aumentó 5 veces en los EE. UU por razones que actualmente se desconocen.

Datos de prevalencia más actuales entre 2009 y 2014 del *National Health and Nutritivo Examination Survey* (NHANES) (30) estiman una prevalencia de la EC en Estados Unidos del 0,7% , en paralelo con las personas no celiacas que optan por una DLG que arrojan unas cifras entre 0,5 y el 1,7%. Otro estudio reciente en EE.UU. con más de 30.000 personas asintomáticas, establece una prevalencia de 1,1 sin distinción de prevalencia por sexo (31).

1.2.1.4. Latinoamérica

En Latinoamérica la revisión de estudios realizados en 7 países muestra una prevalencia entre 0,46 y 0,64 (22) (32).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.2.1.5. Asia

En Asia, en un metaanálisis (33) sobre datos de 7 países de un total de 50 estudiados muestra una prevalencia en la EC del 1,6% con estudios de seroprevalencia (47.873 personas) y prevalencia del 0,5 % en EC confirmada con lesión histológica (43.955 personas), con un rango que oscila entre 0,3% en Irán; 0,5% en Turquía, 0,6% en India y 0,7 % en Israel; por lo que la prevalencia combinada de EC fue significativamente más alta en Israel e India en comparación con Irán.

1.2.1.6. África

Los estudios recientes han demostrado que la EC es un trastorno común en el norte de África con una clara disparidad entre el norte y el sur. La mayor prevalencia de EC en el mundo se ha identificado en una población específica del Sahara Occidental, con un 5,6%, casi diez veces más que en la mayoría de los países europeos. La población también mostró una de las frecuencias más altas de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 y un consumo muy elevado de alimentos a base de cereales con gluten y un gran nivel de consanguinidad (34,35). Existen pocos estudios sobre la prevalencia de EC en el África subsahariana, existe algún estudio como el de la región de Djibouti (36), ubicada en el cuerno de África, que informa de 8 casos y confirma que en estas regiones la EC parece no existir debido probablemente al bajo índice de sospecha y la dificultad para llevar a cabo el diagnostico por la limitación de instalaciones.

1.2.2 Incidencia

1.2.2.1. Estudios poblacionales de incidencia

Los datos sobre la incidencia son mucho más escasos. En nuestro país existe un estudio multicéntrico de registro de nuevos casos (REPAC) promovido por la Sociedad española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica (SEGHNP) en la que participaron 24 hospitales con área asistencial definida y se registraron los nuevos casos en menores de 15 años diagnosticados en un año (1/6/2006-31/5/2007). La incidencia cruda al diagnóstico de EC (número de nuevos casos/1.000 nacidos vivos o nuevos casos/100.000 menores de 15 años/año) fue de 8 por cada 1000 recién nacidos vivos y 54 por cada 100.000 menores de 15 años (23).

Una revisión sistemática (37) sobre la variación mundial en la frecuencia y cambios de la EC en el tiempo, demuestra diferencias geográficas y raciales significativas entre países. Según esta revisión y teniendo en cuenta diversos períodos de tiempo, la tasa de incidencia para ambos sexos varió desde 0,9 hasta 12,9 por100 000 personas/año para todas las edades y 0-3,7/1.000 nacidos vivos para niños/as y 1,27-39 por100.000 personas/año para adultos/as. Estas diferencias son debidas a la interacción entre factores genéticos y medioambientales, pero también, a la mayor o menor disponibilidad de recursos.

1.2.2.2. Aumento de la incidencia de la EC a lo largo del tiempo

King et al publicaron en el año 2020 un metaanálisis que es el primero en analizar en profundidad las tendencias en la incidencia de la EC a lo largo del tiempo (Figura 5). Este estudio concluye que, en el siglo XXI, la incidencia combinada de EC en mujeres fue de 17,4 [Intervalo de confianza (IC 95%:13,7- 21,1)] por 100.000 personas/año, en comparación con 7,8 (IC 95%: 6,3, 9,2) en hombres. La incidencia específica para niños/as fue de 21,3 por 100 000 personas/año (IC 95%: 15,9-26,7) en comparación con 12,9 (IC 95%: 7,6-18,2) en adultos/as. En el promedio anual de agrupación los cambios porcentuales mostraron que la incidencia de EC aumentó en un 7,5 % (IC 95%: 5,8-9,3) por año durante las últimas décadas. (38)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

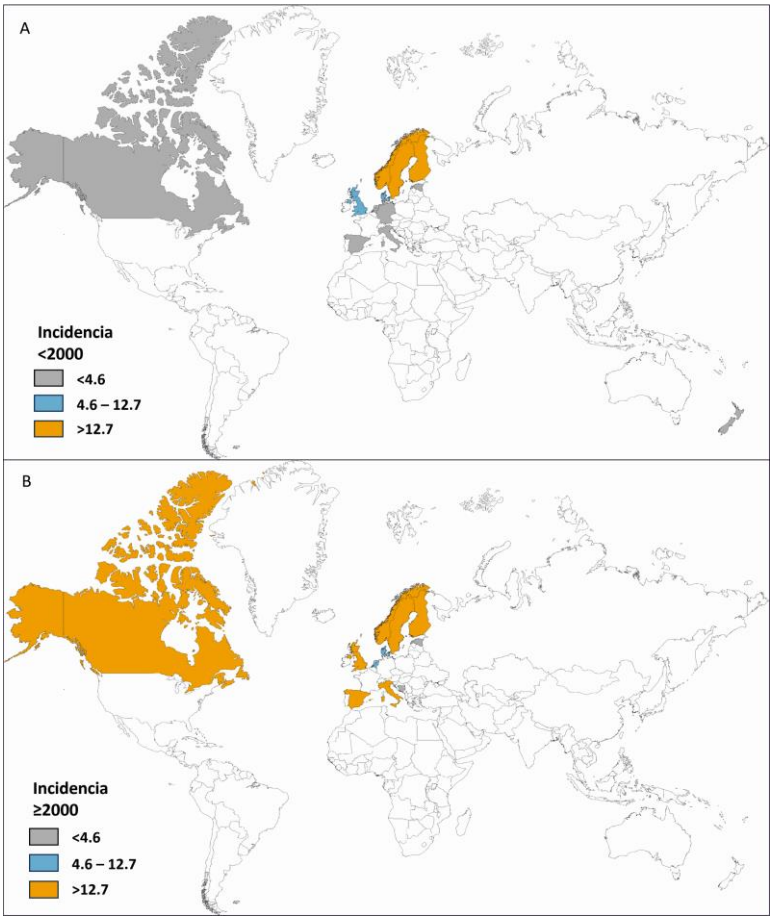


Figura 5. Diferencias geográficas en la incidencia de EC (100.000 personas/año) antes del año 2000 (A) y después del año 2000 (B). Elaboración propia, adaptado de King et al (38). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca.

En dicho metaanálisis, se recopilan estudios de incidencia en todas las edades, solo en niños/as o sólo en adultos/as. Únicamente hay 21 estudios en el mundo con datos en todas las edades, los más relevantes diferenciados por continentes son:

1.2.2.2.1 Estudios de incidencia en todas las edades

- Europa
  - Norte de Europa: Un estudio en Dinamarca (39) realizado durante 39 años (1977-2016), en el que se utilizaron los datos del registro Nacional de Pacientes (*Danish National Patient Register: Primary or Secondary Diagnosis*), estimó una incidencia media 5,9 por 100.000 personas/año. En este estudio danés las tasas de incidencia cambiaron de 1,6 (1980-1984) a 15,2 (2015-2016) con mayor aumento entre mujeres.

    Existen 2 estudios que comprenden varias regiones de Reino Unido (40-42). De ellos, el estudio de Stroud et al (40) se realizó durante 25 años (1993-2017), utilizando guías de la ESPGHAN y biopsia, se estimó que la incidencia de la EC se triplicaba en este periodo. Fowell et al (41) realizó un estudio de incidencia prospectivo en el Poole Hospital durante 9 años (1993-2002), detectando 159 casos totales de EC. La IC incidencia fue este periodo es de 8,2 por 100.000 personas/año.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Sur de Europa: solo se han publicado 3 estudios (45-47). En Italia Zingone et al (42) estudió la incidencia de EC en las 5 regiones de la provincia de Campania entre 2011-2013; estratificando la población en grupos de edad según el Instituto de Estadística Italiano (ISTAT). La incidencia fue 27,4 por 100.000 personas/año (95% CI 25,8–29,1) en niños y 7,3 por 100.000 personas/año (95% CI 6,8–7,8) en adultos. Lanzini et al (43), también en Italia (Brescia) estudió la incidencia entre 2001-2003, mostrando una incidencia 17 por 100.000 personas/año. Estos autores sugieren que los programas educativos que promueven la detección serológica de EC en grupos de alto riesgo son efectivos para la detectar casos en grandes comunidades, particularmente en adultos, y sugieren que los médicos de atención primaria deben ser el objetivo particular de la "concienciación sobre la celiaquía".

  En España los estudios de incidencia son en niños o adultos, no existe ningún estudio de incidencia que recoja datos en todas las edades aunque si se han proporcionado datos de clínica e histología relacionada con la edad en el hospital de León durante un periodo de tiempo de 6 años (200-2006), la IC en niños 2,48 y en adultos 28,4 por 100.000 personas/año (44). En esta Tesis Doctoral (véanse apartados de Justificación, Objetivos, Método, Resultados, Discusión y Concusiones) se incluye un estudio de incidencia que incluye desde niños/as a ancianos/as. Por lo que aporta nuevas evidencias en relación con la incidencia de la EC.
- Oeste de Europa: Existen dos estudios, en Alemania un estudio en Berlín (45) y un estudio holandés (46) realizado el Registro Holandés de Patología (PALGA) para identificar todos los casos de EC comprobados por biopsia en cinco años diferentes entre 1995 y 2010. Además, se estudiaron los perfiles demográficos y el nivel socioeconómico de los pacientes.

- Oceanía: No hay estudios recogidos en la literatura científica en el siglo XXI, solamente hay 2 estudios en Nueva Zelanda y ambos, antes del año 2000 (47,48). El estudio de Cook (48) es un estudio durante 30 años (1970-1999) en una región de 558.000 habitantes. La incidencia obtenida es de 3,7 por100.00 personas/año.
- Norteamérica: 1 estudio en Canadá y 2 en EE. UU. (52-54). Murray et al(49) estudiaron la incidencia de la EC en el condado de Olmsted (Rochester, Minnesota) durante 50 años (1950-2001) y constataron una incidencia 2,4 por100.000 personas/año. En la misma región de EEUU Ludvigson et al (50) estudia la incidencia de la EC en el periodo entre 2000 y 2010; verificando un incremento de incidencia en el siglo XXI hasta 17,4 por100.000 personas/año. Respecto a los estudios de incidencia diferenciados en niños y adultos King et al ofrecen una panorámica de los mismos (38). Se exponen a continuación los más relevantes por continentes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.2.2.2.2 Estudios de incidencia en niños

- Europa
  - Norte de Europa. Los que presentan mayor incidencia son los países nórdicos. Un estudio en Finlandia (Tampere) (51) durante 50 años (1966-2013) informa datos de incidencia en niños muy altos 44 por 100.000 personas/año, basados en elevación de marcadores IgA-TG2 e IgA-EMA. En Noruega Beitnes et al (52) en un estudio realizado durante 10 años (2000-2010) que incluye datos del hospital de Oslo y, utilizando como criterio diagnóstico la presencia de atrofia en la BD (Marsh 2 y 3) muestran una incidencia 31,4 por 100.000 personas/año. En Suecia Tapsas et al (53) realizan un estudio de incidencia de 40 años (1973-2013) con diagnóstico realizado por criterios ESPGHAN 1970 y 1990, con 9.107 casos nuevos de EC en niños, e constatan una incidencia 25,9 por100.000 personas/año. En el resto de los estudios de incidencia en el norte de Europa obtienen una incidencia mucho menor. Entre ellas destacamos un estudio realizado en Reino Unido al sureste de Escocia durante 28 años llevado a cabo por Whyte et al. (54) con criterios diagnósticos basados en las guías ESPGHAN 1990 muestra una incidencia en niños 5,6 por100.000 personas/año. Posteriormente Lister et al (55) realizan un seguimiento en la misma zona durante 7 años basándose en las guías ESPGHAN 2012 (presentada en el *Coeliac UK's Research Conference* 2018) obteniendo durante este periodo una incidencia 23,9 por 100.000 personas/año; confirmando el aumento de incidencia reportada en la mayoría de las áreas geográficas analizadas.
  - Sur de Europa: Hay estudios de incidencia solamente en dos países: Italia y España. El estudio de Italia (42) está realizado en la región de Campania y reporta una alta incidencia que varía en las distintas zonas de dicha región, siendo la más elevada en la región de Salerno con una incidencia global en niños de 34,5 por 100.000 personas/año. Las cifras más bajas se constatan en Benevento con una incidencia global en niños de 18,9 por100.000 personas/año.

    En España hay dos estudios en niños (56) (23). El estudio de López Rodríguez et al está realizado en Cáceres entre los años 1981-1999 y la incidencia reportada es de 10,6 por 100.000 personas/año. Obtienen 157 casos nuevos diagnosticados siguiendo criterios ESPGHAN 1990. El estudio español de más relevancia es un estudio nacional a través de la SESPGHAN (Sociedad Española de Gastroenterología, hepatología y Nutrición pediátrica) con contacto en las diferentes unidades de gastroenterología pediátrica y arroja la mayor incidencia de las registradas en niños en el mundo 54 por 100.000 habitantes/año.
  - Oeste de Europa: Un estudio en países bajos (57) utiliza criterios ESPGHAN y analiza las tasas de incidencia en niños durante 10 años para conocer mejor el espectro clínico de la EC pediátrica en un hospital universitario holandés obtiene una incidencia de 21,1 por 100.000 personas/año.
- Oceanía: Un estudio en Nueva Zelanda (48) de 30 años establece una incidencia en niños de 2,3 por100.000 personas/año.
- Norteamérica: De los estudios canadienses el que presenta la incidencia más alta es el de Stewart et al (58), que entre 2004-2008 reporta una incidencia 16,6 por

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

100.000 personas/año (59). En Canadá la incidencia varía según las distintas regiones. En un estudio en Calgary en el hospital pediátrico de Alberta, entre 1990-2006, en base a directrices NASPGHAN muestra una incidencia en niños 5,2 por 100.000 personas/año. Rajani et al. (60) constatan una incidencia similar entre 1998-2007 en el norte de Alberta, 6,5 por 100.000 personas/año. En EEUU sólo hay estudios de incidencia en niños en el condado de Olmsted (61). Es un estudio basado en códigos y bases de datos *(Rochester Epidemiology Project for ICD-9 code 579.0*) realizado en la Clínica Mayo.

1.2.2.2.3 Estudios de incidencia en adultos*:*

- Europa:
  - Norte de Europa. Del mismo modo que en niños, la mayor incidencia es la registrada en Finlandia. El estudio de Virta et al (62) estudia la incidencia basándose en el subsidio dietético que reciben los pacientes (*Dietary grants in the Social Insurance Institution using ICD code K90*), que debe estar aprobado por un médico y se basa en biopsia. Entre 2004-2006, se estudió toda la población mayor de 16 años y se identificaron 5020 personas (64% mujeres) que recibieron una nueva subvención dietética. La incidencia media anual de EC comprobada fue 39 por 100.000 personas/año. En total 23.553 personas recibieron el subsidio dietético. Estos autores concluyen que estas cifras de EC son las más altas observadas en el mundo para adultos. El mayor estado de alerta a la condición y la búsqueda activa de casos han hecho posible este diagnóstico eficiente. La incidencia registrada por estados es: Helsinki: 32,4 por 100.000 personas/año; Kuopio: 36,3 por 100.000 personas/año; Oulu: 48,5 por 100.000 personas/año; Tampere: 43,6 por100.000personas/año; Turku: 40,5 por100.000 personas/año.
  - Estos mismos autores en un artículo posterior (63) estudian la incidencia entre 2005-2014 obteniendo unos datos similares o inferiores por lo que concluyen que, aunque la conciencia sobre la EC ha aumentado durante las últimas décadas, la incidencia de diagnósticos verificados por biopsia no está aumentando y sugieren que la exposición a factores desencadenantes aún no identificados de la enfermedad se ha estancado entre la población adulta finlandesa mayor de 20 años.
  - En el estudio de Sher et al., en Leicestershire (Reino Unido), muestran que la incidencia anterior al año 2000 es baja para adultos (2,8 por 100.000 habitantes/año) (64). Otros estudios que recogen datos en el siglo XXI muestran incidencias más altas. Hurley et al (65) estudian el periodo entre 1996-2005 en Cardiff y Vale (Gales) y constatan una incidencia de EC en adultos 8,8 por100.000 personas/año. Así mismo, West et al (66) realizan un estudio de dos décadas y obtienen una incidencia en adultos de 14,6 por 100.000 personas/año.
- Sur de Europa: Hay pocos estudios de incidencia en adultos. Tosic et al (67) estudian la incidencia en Bosnia Herzegovina durante tres años (2007-2009) en el The University Clinical Center Tuzla, su diagnóstico se basa en confirmación histológica y reportan una incidencia de 2,6 por 100.000 personas/año. En Italia el estudio de Zingone (42), antes mencionado, realizado en la región de Campania muestra una incidencia global en adultos

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

de 7,3 por 100.000 personas/año (entre 3,8-9,3 por 100.000 personas/año de variación entre las diferentes regiones). En España, hasta la actualidad solo existía un estudio de incidencia en adultos (68) realizado en el Hospital Povisa de Vigo, con criterios histológicos, desde 1968-2008. Obtiene 68 nuevos casos que corresponden con una incidencia en adultos 2,0 por 100.000 personas/año. En esta Tesis Doctoral se incluye un estudio que abarca todos los rangos de edad y que se ha realizado en el Área Sanitaria de Lugo.

- Este de Europa y Oceanía los estudios de incidencia en adultos incluyen diferentes grupos de edad. En los Países Bajos, Buerger et al (46) muestran una incidencia en adultos de 4,1 por 100.000 personas/año; muy similar el estudio de Cook et al en Nueva Zelanda (48), que estima la incidencia en adultos en 4,5 por 100.000 personas/año.
- Norteamérica: en Canadá la incidencia en adultos se ha estudiado en Calgary entre 2004-2008 por Stewart et al (69) que obtiene una incidencia de 11.6 por 100.000personas/año algo menor que la que estos mismos autores informan en niños. En EEUU sólo hay 1 estudio de incidencia en adultos en el condado de Olmsted (50) en la clínica Mayo. Este estudio analiza un área geográfica en población muy similar al área sanitaria de Lugo. La incidencia en adultos en este estudio es de 18,3 por 100.000 personas/año.

Podemos afirmar que este metaanálisis (38), el primero en estudiar las tendencias en la IC de la EC entre el siglo XX y XXI, confirma que la tasa de diagnóstico de EC ha aumentado significativamente en muchos países industrializados. Sin embargo, sigue siendo difícil predecir cómo se desarrollarán estos patrones en los próximos años ya que algunas cohortes recientes están mostrando una estabilización de la incidencia.

Parece que en los últimos años la brecha entre la incidencia de casos diagnosticados e incidencia real de EC ha disminuido por el creciente reconocimiento del EC junto con la utilización generalizada de pruebas serológicas no invasivas que ha desenmascarado pacientes latentes y subclínicos.

Se deben realizar más investigaciones basadas en la población en África, Asia y América Latina para determinar la incidencia de EC en estas regiones, para que el estudio epidemiológico de esta enfermedad continúe surgen nuevas pistas sobre su etiología y se puedan desarrollar nuevas estrategias para ayudar a controlar y prevenir la EC a nivel mundial (38). Igualmente es necesario tener más estudios con criterios homogéneos para niños y adultos.

1.3 ETIOPATOGENIA

1.3.1 Factores ambientales

1.3.1.1 El gluten

El principal factor desencadenante en la EC es el gluten de trigo y sus variedades, así como las proteínas similares en otros cereales (cebada, centeno y avena) y tanto la cantidad como la frecuencia de la ingestión, se relacionan con el desarrollo de la enfermedad. Las personas no expuestas al gluten no desarrollan EC.

El gluten es una de las pocas proteínas resistentes a la digestión que se consume crónicamente en cantidades significativas y está constituido por varios péptidos inmunogénicos, de ellos las gliadinas, elementos clave del gluten, son proteínas complejas ricas en prolina y glutamina que no son completamente digeribles por las enzimas intestinales (70). Además, los granos que tienen gluten son una adicción reciente a la dieta humana (introducidos hace 10000 años), estas dos características podrían ayudar a romper la tolerancia a este antígeno

alimentario, cuando se activa el sistema inmunitario, por ejemplo durante una infección entérica, y como consecuencia se pueden desencadenar respuestas del huésped (mayor permeabilidad intestinal y respuesta inmune innata y adaptativa) que se parecen mucho a las instigadas por la exposición a microorganismos potencialmente dañinos (71).

1.3.1.2. Otros factores ambientales

Se han propuesto otros factores ambientales que pudieran contribuir al inicio de la enfermedad, aunque no existen suficientes evidencias, incluso los datos son muchas veces contradictorios. De ellos se pueden destacar los siguientes.

1.3.1.2.1. Tipo de parto (vaginal o cesárea)

Se ha postulado que el parto vaginal ejerce un efecto protector para la EC debido a que el parto por cesárea altera la composición del microbiota intestinal del recién nacido (72). Se necesitan más estudios para confirmar este efecto "protector".

1.3.1.2.2. Lactancia materna

Existen varios estudios sobre este aspecto y un metaanálisis reciente el cual concluye que la lactancia materna no reduce el riesgo de padecer EC y que, aunque se debe promover la lactancia materna por otros beneficios para la salud, ni la lactancia materna exclusiva o combinada con fórmulas reduce el riesgo de desarrollar la EC(73).

1.3.1.2.3. Momento y forma de introducción del gluten en la dieta del niño

Varios estudios prospectivos sugieren que el momento de introducción del gluten en la dieta no tiene efectos significativos sobre el riesgo de desarrollar la enfermedad (73). Por ello, la ESPGHAN modificó sus guías y en estos momentos recomienda introducir el gluten en la dieta del bebé en cualquier momento entre los 4 y los 12 meses completos de edad (74).

1.3.1.2.4. Infecciones

El aumento de infecciones víricas agudas sobre todo respiratorias, producidas por virus como rotavirus (75) adenovirus u otros, especialmente en menores de 18 meses podrían aumentar el riesgo de desarrollar EC en edades posteriores (76). Además, el empleo de antibióticos podría ser un factor añadido por alterar la barrera defensiva natural de la mucosa intestinal e inducir cambios en la microbiota, que alteraría la permeabilidad intestinal (77).

También en relación a las infecciones, se ha propuesto que existe un mayor riesgo de EC en niños que nacen en primavera-verano, debido a que la introducción del gluten se produce durante el otoño-invierno coincidiendo con exposición a infecciones virales agudas de patrón estacional (27).

1.3.1.2.5. Situación socioeconómica

Esta teoría, como la hipótesis de la higiene, argumenta que la creciente incidencia de muchas enfermedades autoinmunes se debe en parte a los cambios en el estilo de vida que han reducido nuestra exposición a los patógenos (78), o el papel de la microbiota intestinal (disbiosis) implicado en el equilibrio entre la tolerancia y la respuesta inmune que conduce a la autoinmunidad.

1.3.2 Factores genéticos

La EC tiene un fuerte componente hereditario como lo atestigua su alta recurrencia familiar (10-15% en familiares de primer grado) y la alta concordancia de la enfermedad entre gemelos monocigóticos (75-80%) (79).

El complejo HLA se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6. En la Figura 6 se muestra de forma gráfica como se forman los diferentes heterodímeros de riesgo y en la Tabla 1 los riesgos atribuidos a las distintas combinaciones de los haplotipos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Más del 90% de los pacientes con EC son portadores del heterodímero HLA DQ2 codificado por los alelos HLA DQB1*02 y DQA1*05, ya sea en homocigosis y asociados a DR3 (DQ2.5), o en heterocigosis, en individuos DR5/DR7 (DQ7.5/DQ2.2). El resto muestra un segundo heterodímero DQ8 (codificado por los alelos DQA1*03 y DQB1*0302), o son portadores de uno de los alelos del DQ2 por separado, DQB1*02 (como parte de la molécula DQ2.2) o DQA1*05 (en la molécula DQ7.5) (80).

Por el momento, los únicos marcadores genéticos de riesgo que tienen utilidad clínica son los alelos DQA1*0501 y HLA-DQB1*0201 de la molécula DQ2 y los alelos DQA1*0301 B1*0302 de la molécula DQ8, considerados siempre en el contexto de la expresión clínica de la EC y de la evolución histopatológica de la lesión intestinal (81).

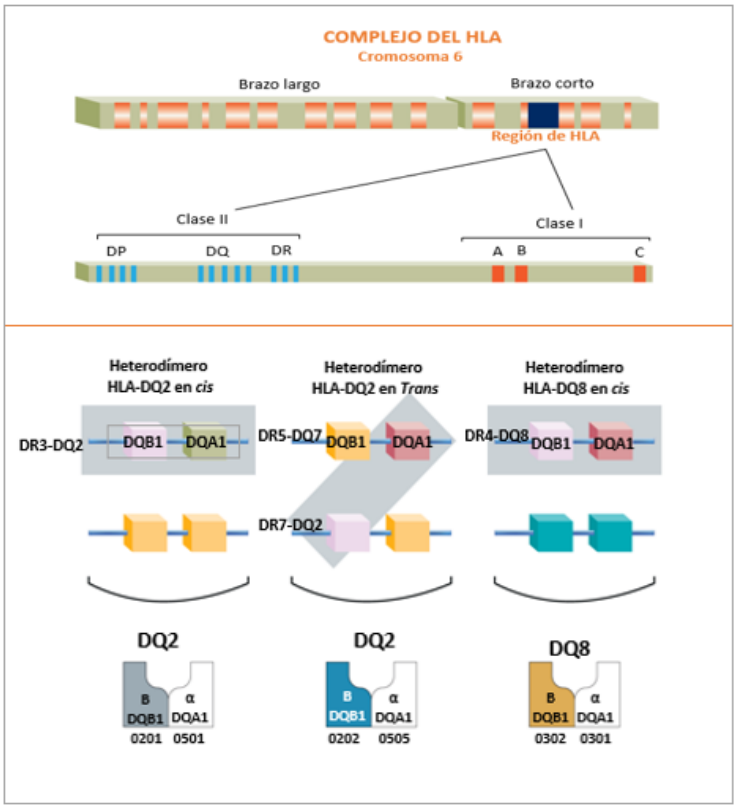


Figura 6. Complejo HLA. Elaboración propia, adaptada de Sollid et al (80) y de la SEGC (82). Abreviaturas: HLA, Antígeno Mayor de Histocompatibilidad, SEQC, Sociedad Española de Química Clínica.

La homocigosis de HLA-DQ2 confiere un riesgo mucho mayor (25%-30%) de desarrollar EC de inicio temprano en niños pequeños con un familiar de primer grado afectado por la enfermedad (83).

Dado que HLA-DQ2 / HLA-DQ8 son frecuentes entre la población general (25%–35%), y solo el 3% de estos individuos compatibles con HLA desarrollarán EC, el análisis de los HLA tiene un valor predictivo negativo (VPN). Es decir, las personas que no lo presentan tienen muy poca probabilidad de padecer la enfermedad. Además, resulta lógico que los estudios de asociación de todo el genoma hayan identificado más de 100 genes no relacionados con el HLA asociados con la EC (79). La relevancia de estos genes adicionales para conferir riesgo genético

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

en la EC es bastante limitada, pero pueden conducir al descubrimiento de vías clave, potencialmente involucradas en la patogénesis de la enfermedad.

Recientemente, se ha encontrado que el alelo 10 del gen MICB (MICB*10), un gen con estructura similar a los genes de la clase I, contribuye a la susceptibilidad para la EC. El MICB*10 codifica las moléculas MICB que se expresan en los enterocitos del intestino delgado y podría explicar el aumento significativo de los linfocitos en el epitelio intestinal (84).

Tabla 1. Riesgos atribuidos a las distintas combinaciones de haplotipos.

Haplotipos	DRB1*03-DQB1*0201-DQA1*0501 (DQ2.5)	DRB1*07-DQB1*0202-DQA1*0201 (DQ2.2)	DRB1*11-DQB1*03:01-DQA1*0505 (DQ7.5)	DRB1*04-DQB1*03:02-DQA1*03 (DQ8)	Otros
DRB1*03-DQB1*0201-DQA1*0501 **(DQ2.5)**	Muy alto	Muy alto	Alto	Alto-muy alto	Alto
DRB1*07-DQB1*0202-DQA1*0201 **(DQ2.2)**		Moderado-Alto	Alto	Moderado-Alto	Moderado
DRB1*11-DQB1*03:01-DQA1*0505 **(DQ7.5)**				Moderado	Bajo
DRB1*04-DQB1*03:02-DQA1*03 **(DQ8)**				Moderado-Alto	Moderado
Otros					Sin riesgo

Elaboración propia, adaptada de Núñez y Garrote (85).

Diferentes estudios en los que ha participado la autora de esta Tesis Doctoral han contribuido o contribuirán a conocer las características genéticas de los enfermos celiacos:

- "Estudio de incidencia de haplotipos HLA DQ2/DQ8 en el área sanitaria de Lugo", [estudio preliminar en Oviedo en el III Congreso de la SEEC y IV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC). Valencia. (2014)]. Se encuentra un aumento mayor de HLA DQ8 que lo reportado en estudios publicados (86).
- "Caracterización de la enfermedad celíaca no HLA-DQ2.5" ("Estudio nacional de Investigación Biomédica cuyo promotor es Laboratorio de investigación en Genética de enfermedades complejas del Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC) con CEIm, inicio 22/6/2016). Este estudio aun en curso pretende conocer: la frecuencia de los pacientes con genética HLA no DQ2.5 en individuos con EC en España y las características de los pacientes; la contribución al desarrollo de la EC en pacientes con genética HLA-DQ de bajo riesgo o incluso sin riesgo de variantes genéticas adicionales a HLA-DQ, tanto dentro como fuera de la región HLA; la microbiota intestinal y los principales tipos celulares implicados en la respuesta inmunitaria frente al gluten. Este proyecto obtuvo el XVIII premio de investigación concedido por La Asociación de Celíacos y Sensibles al Gluten dotado con 18.000 euros en el año 2021 (87).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- "Tipificación del HLA en niños celíacos del área de Lugo y porcentaje de familiares celíacos" (Cotutora en el TFG del título de Grado de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela; presentado en el año 2017 por Paloma Ferreiro-Mazón) (88).

1.3.3 Factores inmunológicos: Etiopatogenia

En la respuesta inapropiada a las proteínas del gluten que se observa en pacientes celiacos intervienen tanto la inmunidad innata como la adaptativa (Figura 7). La respuesta inmune tiene lugar a 2 niveles: una respuesta inflamatoria específica frente al gluten y mediada por linfocitos T CD4+ localizados en la lámina propia, y una activación innata de los linfocitos intraepiteliales (LIE) que causan la destrucción del epitelio. La lesión resultante es lo que llamamos enteropatía celíaca y hoy en día sigue siendo un reto diagnóstico.

El gluten pasa desde la luz intestinal a la lámina propia (paracelular y transcelular) y los fragmentos de gliadina parcialmente digeridos pueden causar un aumento inmediato y transitorio en la permeabilidad de la unión intercelular de las células epiteliales intestinales (*tight junctions*)(89). Este efecto se ha relacionado con la liberación de zonulina (familia de moléculas que aumenta la permeabilidad paracelular actuando sobre las *tight junctions*) que interactúa con el epitelio intestinal desencadenando una mayor permeabilidad intestinal.

Por otro lado, existen evidencias de que el gluten también puede atravesar la barrera intestinal a través de la vía transcelular una vez se ha roto la tolerancia al gluten (90).

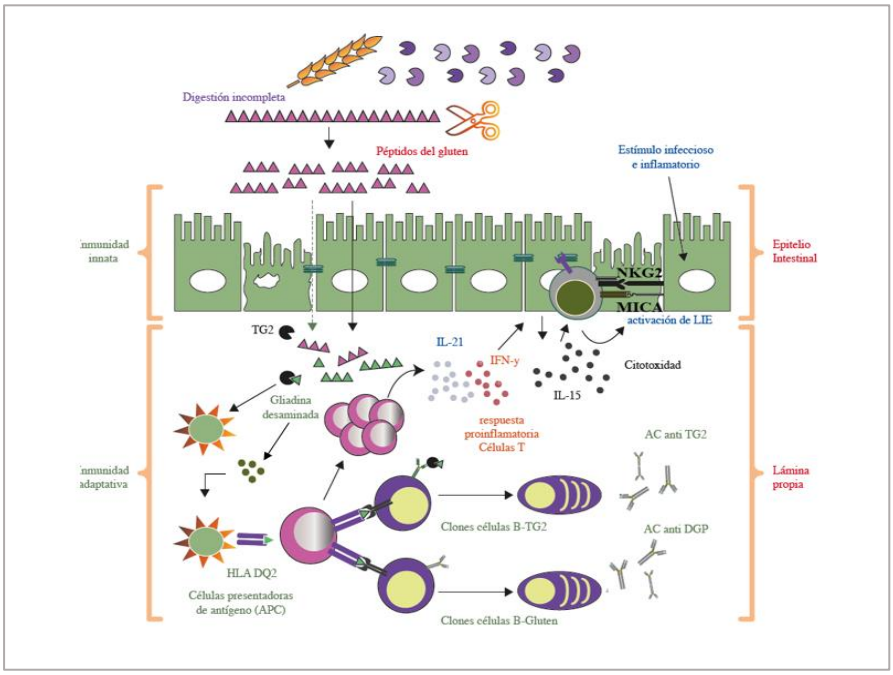


Figura 7. Fisiopatología de la EC. Interacción del gluten con factores ambientales, autoinmunes y genéticos. Elaboración propia, adaptado de Catasi (89). Abreviaturas: Ac TG2, anticuerpos antitransglutaminasa 2; Ac DGP, anticuerpos antipéptidos desaminados de la gliadina; EC, Enfermedad Celíaca; IL21, Interleucina 21; IL-15, interleucina 15; IFN-γ, interferón gamma; LIE, linfocitos intraepiteliales; MICA, marcadores de estrés proteína A; NKG2, receptor activador de superficie de las células NK; TCR, receptores de células T; TG2, transglutaminasa 2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.3.3.1 Inmunidad adaptativa

El péptido del gluten (p57-73), es desaminado por transglutaminasa tisular (TG2) y la gliadina desaminada es reconocida por HLA-DQ2/8+ en células dendríticas presentadoras de antígeno (APC) que más tarde se presentan a las células T CD4+. Estas células producen citocinas proinflamatorias que a su vez aumentan aún más la permeabilidad intestinal y, junto con las células T citotóxicas, inician la enteropatía. Por tanto, el elemento clave en la patogenia de la EC es esta activación de los linfocitos T CD4+ que inician una activación de citoquinas pro-inflamatorias de tipo Th1, con predominio de IFN-γ y otras como el factor de necrosis tumoral-α (TFN- α), la IL-18 y la IL -21, con una reducción proporcional de citoquinas reguladoras como la IL-10 (91).

Las células T CD4+ desencadenan la activación y maduración de las células B, produciendo anticuerpos IgM, IgG e IgA contra la transglutaminasa tisular.

Así, se genera una lesión en la mucosa del intestino delgado proximal, que puede causar malabsorción y/o una captación reducida de nutrientes. Los enterocitos dañados expresan en su lado apical el transportador CD71 que potencia el tráfico de gluten desde la luz intestinal hasta la lámina propia perpetuando la activación de este mecanismo inmunológico. Se produce hiperplasia de la cripta y pérdida de la estructura vellositaria secundaria a la muerte celular epitelial intestinal inducida por linfocitos intraepiteliales.

Simultáneamente, los inhibidores de la alfa-amilasa/tripsina activan el complejo receptor Toll like 4-MD2-CD14 con la posterior regulación positiva de los marcadores de maduración y la liberación de citocinas proinflamatorias.

1.3.3.2 Inmunidad innata

La pérdida funcional de la barrera intestinal facilita el paso de los péptidos de gliadina desde la luz intestinal hasta la lámina propia. Las secuencias tóxicas clave del gluten son resistentes a las proteasas intestinales. El péptido p31-43 puede inducir directamente la producción de IL-15 y regular positivamente el gen MICA (HLA clase A), una molécula de estrés en los enterocitos.

Los LIE tienen una situación estratégica localizándose entre los enterocitos y se encuentran en contacto con el lumen intestinal y la lámina propia. Son las primeras células inmunocompetentes en detectar antígenos de la vía oral, y probablemente de discernir entre antígenos inocuos de patógenos. Su función específica es controvertida aún, pero sí se sabe que participan activamente en la respuesta inmunológica innata intestinal siendo los responsables directos de la destrucción de los enterocitos y por ello en gran medida, de la atrofia de las vellosidades intestinales que caracteriza a la enteropatía celiaca. En el intestino delgado se han descrito tres poblaciones de LIE, dependiendo del tipo de receptor de célula T (TCR): αß CD8+CD4-, γδ CD8-CD4- y αß CD8-CD4+.

1.3.4 Microbiota

El estudio de la composición microbiana del intestino, su función y su influencia la EC está de actualidad. En niños se han observado alteraciones relacionadas con la composición de la microbiota duodenal y fecal consistentes en un desequilibrio entre las especies de Bacteroides (aumentadas) y de Bifidobacterium (disminuidas) y se ha demostrado que mejoran parcialmente con la DLG (92).

La microbiota intestinal no es estable. Los recién nacidos tienen un intestino casi libre de bacterias y durante los primeros 3 años de vida se va produciendo su colonización hasta alcanzar la composición definitiva. Los primeros en colonizar son grupos anaerobios facultativos de proteobacterias, que llegan a representar el 15% del total de bacterias en estos 3 primeros años

de vida (después se quedan en el 4%) y consumen el oxígeno residual generando un ambiente adecuado para que se establezcan los lactobacilos y las bifidobacterias. La lactancia materna favorece esta segunda etapa al proporcionar fructooligosacáridos como alimento para estas bacterias. Finalmente se instalan los firmicutes y bacteroidetes, principales representantes de la microbiota intestinal de los adultos (93).

Está demostrado que los pacientes celíacos tienen disbiosis intestinal, aunque aún no está claro si este desequilibrio microbiano precede a la enfermedad o es consecuencia de ella. Muchos de los factores antes comentados como el nacimiento por cesárea, el momento de introducción de gluten en la dieta del bebe etc. son factores que influyen en la composición microbiana del intestino y se asocian con un mayor riesgo de EC. En lactantes con esta enfermedad están disminuidas las bifidobacterias y aumentados tanto los bacteroides como las proteobacterias y ciertos patógenos; existen además desequilibrios entre los grupos de bacteroidetes. De ahí que desde hace años se investiga el uso de probióticos tanto para prevenir como para tratar la enfermedad celíaca (94).

El estudio TEDDY (95) llevado a cabo en Finlandia, Suecia, Alemania y Estados Unidos, es un ejemplo de la influencia de la microbiota en los procesos autoinmunes. Esta investigación demostró que la administración de probióticos durante los primeros 27 días de vida reduce la respuesta autoinmune frente a los islotes del páncreas en niños con riesgo de diabetes tipo 1.

Como resumen general de este apartado, se acepta que, los ingredientes clave en la etiopatogenia de la EC son la exposición al gluten y la predisposición genética y también, la pérdida de la función de barrera intestinal, una respuesta inmune innata proinflamatoria desencadenada por el gluten, una respuesta inmune adaptativa inadecuada y una microbiota intestinal desequilibrada. El resto de las teorías no han sido confirmadas.

1.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La EC es lo que se denomina un "camaleón clínico", y puede presentarse a cualquier edad y con múltiples manifestaciones.

Las formas de presentación de la EC han cambiado. Hace años solo se diagnosticaban enfermos con formas clásicas de la enfermedad (principalmente niños menores de 5 años) caracterizados por la triada de diarrea, pérdida de peso y fallo de crecimiento.

En las últimas décadas las formas clásicas han pasado a un segundo plano siendo más frecuentes las formas atípicas y oligosintomáticas que son mucho más frecuentes que las clásicas en la actualidad.

1.4.1 Fenotipos clínicos

Durante años se reconocieron 4 fenotipos clínicos para la EC: sintomática, silente, latente y potencial. (14)

La EC sintomática era la "clásica" con cuatro criterios positivos (clínicos, serológicos, histológicos y genéticos); clínicamente esta forma clásica fue descrita por Recalde en 1935 de este modo:

> "A primera vista el niño aparece con gran palidez… da la impresión de un globo sostenido por dos palillos" (96).

Es una definición muy gráfica del fenotipo celiaco clásico que además se acompañaba de diarrea, pérdida de peso y fallo de crecimiento.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Se denominaba EC silente a aquella que, a pesar de no tener síntomas, cumplía el resto de los criterios diagnósticos (serológicos, histológicos y genéticos).
- La EC latente correspondía a la EC en la que no consta de hallazgos histológicos, pero en el futuro acabaría presentando atrofia vellositaria.
- La EC potencial, aquella que solo presentaba algún marcador genético positivo propio de la EC.

Sin embargo, esta nomenclatura creaba mucha confusión ya que algunos definiciones se solapaban, por lo que Ludvigsson et al. establecieron los criterios de Oslo que son los vigentes en la actualidad (97).

1.4.1.1 Criterios de Oslo

La clasificación de Oslo identificó las siguientes presentaciones clínicas de EC: clásica, no clásica, subclínica, potencial y refractaria (97). Más recientemente se tiende a utilizar la terminología “intestinal/extraintestinal” en lugar de la categorización "clásica/no clásica", ya que representan mejor los principales fenotipos clínicos de EC que pueden ocurrir individualmente (es decir, intestinal versus extraintestinal) o en combinación a gran variedad de formas clínicas (Figura 8), ha condicionado que sea una enfermedad infradiagnosticada. Por ello se conoce como iceberg celiaco (98) la representación gráfica de la incidencia de la celiaquía a nivel mundial (Figura 9); considerándose que sobre la línea de agua, en la parte visible, se encuentran los casos diagnosticados que se corresponden con una pequeña parte y bajo el agua, la parte que no se ve y mucho más grande, están los casos que aún quedan por diagnosticar, la inmensa mayoría.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

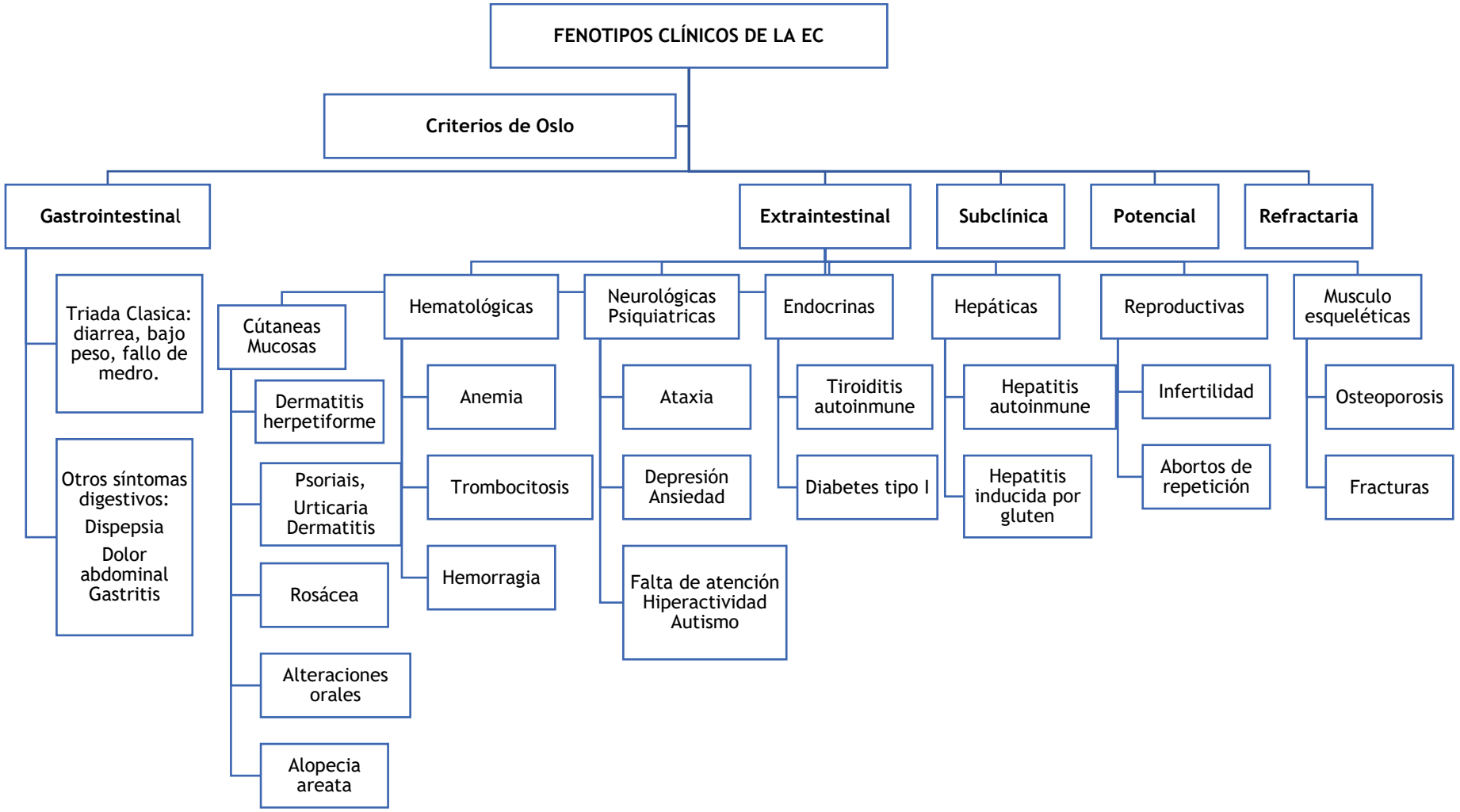


Figura 8. Fenotipos clínicos de la EC según los criterios de Oslo. Elaboración propia. Fuente (97,99). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca.

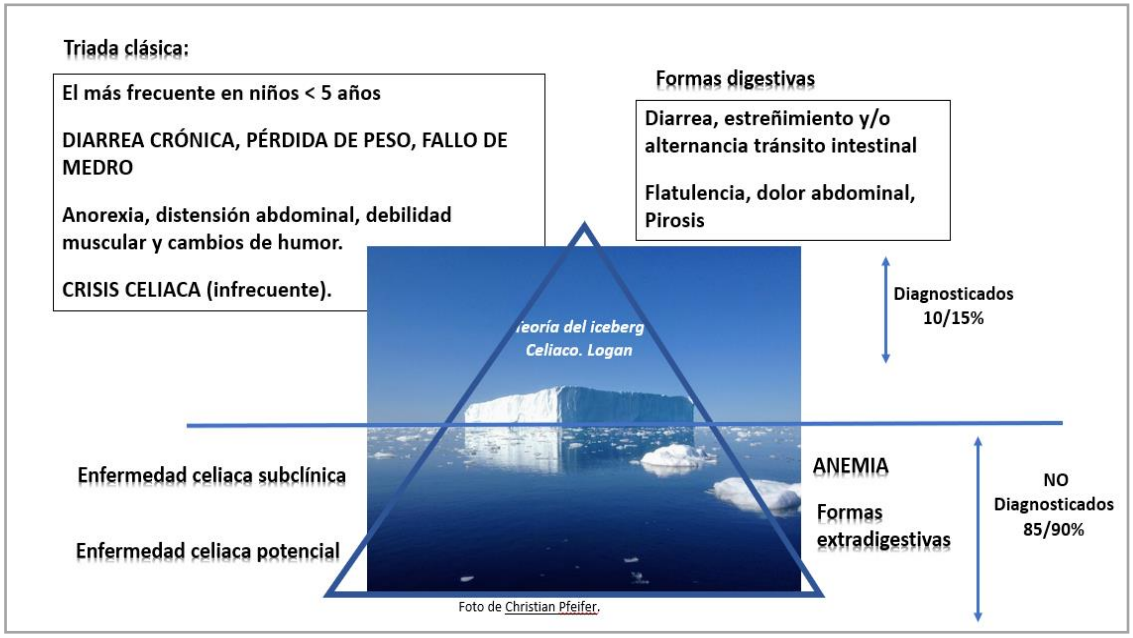


Figura 9. Teoría del Iceberg celiaco (98). Elaboración propia. Imagen de iceberg de libre acceso (Disponible en: https://unsplash.com/es/fotos/l6OraG-v0d8).

1.4.2 Forma intestinal: manifestaciones clínicas digestivas

La forma intestinal de EC detectada con mayor frecuencia en la población pediátrica y en niños menores de 5 años y se caracteriza por diarrea, distensión abdominal, fallo de crecimiento y anorexia (44). En niños mayores y en adulto es más frecuente una presentación parecida al SII con estreñimiento o alternancia de diarrea/estreñimiento y/o dispepsia, náuseas y, a veces, vómitos (4).

En adultos, las manifestaciones digestivas se caracterizan por un conjunto de síntomas gastrointestinales inespecíficos, incluyendo pirosis que mejora notablemente con la DLG, más incluso que con la administración de inhibidores de la bomba de protones (IBP); dispepsia, manifestada como plenitud postprandial o como dolor epigástrico; sensación de malestar abdominal pobremente definido; flatulencia; meteorismo; distensión abdominal y cambios frecuentes en el ritmo intestinal. Simulando, por tanto, las características de un trastorno funcional digestivo. Aspecto que puede explicar el retraso en el diagnóstico de muchos pacientes, especialmente los seronegativos (100).

También se ha observado una fuerte asociación con la colitis microscópica. Un estudio canadiense durante 5 años (2004/2008) (69) encontró que esta condición era 50 veces más común en pacientes con EC que en la población general.

El síndrome de malabsorción con diarrea crónica, pérdida de peso y astenia significativa es inusual. Cuando aparece puede causar hospitalización debido a caquexia, sarcopenia, hipoalbuminemia significativa y anomalías electrolíticas.

1.4.3 Forma extraintestinal: manifestaciones clínicas extradigestivas

Esta forma de presentación es más frecuente en adultos, en estos casos la EC se descubre generalmente entre la cuarta y sexta década de la vida, con una edad media de 40-45 años (28). En muchos casos la EC ha evolucionado de forma subclínica durante años o bien, los síntomas presentados durante la infancia no fueron investigados o no se relacionaron con la enfermedad.

USC DE COMPOSTELA

El conjunto de síntomas y signos extradigestivos son derivados en gran medida de la malabsorción de micronutrientes (vitaminas, minerales y oligoelementos) y/o de condiciones autoinmunes relacionadas o no con la enfermedad. Estos síntomas conducen al paciente a consultar con diversas especialidades médicas no directamente relacionadas con la gastroenterología y ante las cuales, los especialistas correspondientes deberían mantener un alto índice de sospecha clínica para orientar el diagnóstico.

Otras veces, la enfermedad ha permanecido latente sin ningún tipo de manifestación clínica hasta que, sin razón aparente o tras un factor ambiental precipitante (cambios en el patrón de alimentación, estrés, infección gastrointestinal o disbiosis), aparecen los primeros síntomas. Datos recientes sugieren que hasta un 25% de los nuevos diagnósticos de EC se producen en personas mayores de 65 años (101). Es importante reconocerlos porque si bien el tratamiento para la EC es relativamente sencillo, los pacientes con esta patología que son de edad avanzada presentan desafíos específicos en el manejo de su enfermedad, particularmente por tener que realizar cambios radicales en la dieta y hacer frente a las complicaciones de la malabsorción de larga duración. Las peculiaridades en ancianos/as, que se deben conocer para llevarnos al diagnóstico de esta enfermedad, son la anemia (60-80%), la osteopenia (70%) y la malabsorción (50-80%) (101,102). También, están más representadas en este grupo de edad las manifestaciones neuropsiquiátricas y las complicaciones de la EC no tratada como el linfoma de células T (4%) (90).

El bajo índice de sospecha de EC en las personas de edad avanzada lleva a un retraso promedio en el diagnóstico de 17 años. Por ello es importante la búsqueda activa de EC en ancianos para disminuir el gran retraso en el diagnóstico y comorbilidades asociadas (103).

Esta autora ha tenido siempre un especial interés por la presentación de la EC en la tercera edad. He reconocido varios casos clínicos muy llamativos por sus manifestaciones extraintestinales en pacientes de edad muy avanzada, que se comentaran en los apartados correspondientes de esta tesis. Además, en el año 2019 presenté en el Congreso Nacional de Enfermedad celiaca celebrado en Huesca la comunicación oral: *"Presentación tardía de la enfermedad celíaca: particularidades clínicas y bioquímicas"* donde se repasaron todos los aspectos clínicos, bioquímicos y hematológicos de los enfermos celiacos mayores de 60 años. (104). En ella se concluye que 16 % de todos los casos diagnosticados durante el período 2012-2020 eran mayores de 60 años, que la presentación más característica fue la presencia de anemia en más 50% de los casos al diagnóstico y un dato importante a considerar y es la asociación muy frecuente con trastornos depresivos e inmunológicos.

La recomendación de considerar EC en los ancianos con anemia como primera sospecha tras descartar las primeras causas en este grupo etario, también fue motivo de una comunicación del Congreso Europeo de Química Clínica celebrado en Munich 2021 (105) por tanto, diagnosticar la enfermedad en el adulto requiere un profundo conocimiento de sus diferentes patrones de presentación y de los procedimientos que permiten asegurar el diagnóstico.

1.4.3.1 Manifestaciones cutáneas y mucosas

En la Figura 10 se detallan esquemáticamente las principales manifestaciones cutáneas y mucosas y en los siguientes apartados se describen los principales aspectos de estas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.4.3.1.1 Dermatitis herpetiforme

La dermatitis herpetiforme (DH), también llamada enfermedad de Duhring es la manifestación extraintestinal cutánea más común. Se caracteriza por pequeñas vesículas y pápulas distribuidas simétricamente en las superficies extensoras de las extremidades, hombros, parte alta de la espalda, glúteos, cuero cabelludo y cara, acompañadas con frecuencia de excoriaciones. El adjetivo "herpetiforme" se debe a que las lesiones se asemejan a las causadas por el virus herpes simple. La afectación de manos y pies es rara (106).

Para confirmar el diagnóstico es necesaria una biopsia de piel sana próxima a una lesión activa, y el hallazgo histopatológico consiste en vesículas subepidérmicas con microabscesos de neutrófilos. La inmunofluorescencia revela depósitos granulares o fibrilares de IgA (y C3) en la unión dermoepidérmica (106,107). La hipótesis más aceptada en la actualidad es la patogénesis inmune de la DH, que comienza en el intestino en forma de EC oculta, iniciándose la producción de Ac TG2. Posteriormente, se activa la TG3 y se producen anticuerpos anti TG3 que es antígeno epidérmico, desarrollando los depósitos de complejos inmunes en la dermis papilar. Tras la DLG los Ac TG2 y Ac TG3 desaparecen en sangre. Sin embargo, en la piel desaparecen más lentamente (106).

En el 75 % de los pacientes con DH se observa una grado variable de atrofia de las vellosidades intestinales predominando el grado de leve a moderado, en el 25% restante se observa enteritis linfocítica, sin atrofia (100).

El tratamiento de elección es la DLG rigurosa y de por vida independientemente de los hallazgos duodenales ya que tiene una excelente respuesta a largo plazo. En ocasiones, esta respuesta puede ser lenta por lo que la mayoría de los pacientes al inicio del tratamiento requieren Dapsona, que suele suspenderse a los dos años de seguimiento estricto de la DLG (108).

1.4.3.1.2. Urticaria

La urticaria cursa con ronchas, angioedema o ambos, cuando su duración es superior a 6 semanas se define como urticaria "crónica" (UC). La UC está asociada a enfermedades autoinmunes, como la tiroiditis de Hashimoto, vitíligo, diabetes mellitus tipo 1 y también, la EC. (107) La urticaria crónica en la EC se ha asociado con la presencia de alelos HLA-DQ8 (109).

Como en otras manifestaciones extraintestinales de la EC, la DLG es capaz de controlar las erupciones cutáneas, lo que demuestra que la UC es una expresión cutánea de la EC y no una asociación ocasional solamente (107).

1.4.3.1.3. Dermatitis atópica

Según algunos estudios, la dermatitis atópica es 4 veces más frecuente en los enfermos celiacos que en la población general y especialmente en niños menores de 5 años. (110) Se caracteriza por una erupción a menudo simétrica, con picor intenso, sarpullido con ampollas, probablemente poco reconocido (111).

1.4.3.1.4. Psoriasis

La asociación de la EC con la psoriasis ha sido investigada recientemente por Bhatia et al. Dichos autores encuentran riesgo (Odds ratio (OR) = 2,36) de IgA-AGA en relación con controles (112). También se ha demostrado la correlación entre el título de Ac de EC y la severidad de las lesiones en piel (109).

Se han formulado varias hipótesis para explicar la asociación de las dos enfermedades:

- Ambas enfermedades comparten haplotipos HLA.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- La proliferación de queratinocitos que caracteriza a la psoriasis puede producir un exceso de IL-1 y IL-8 que activa la respuesta Th1 considerada la responsable de la inflamación mucosa de la EC.
- El aumento de la permeabilidad de la mucosa intestinal en la EC puede facilitar el paso de antígenos que desencadenen una activación autoinmune.
- Déficit de vitamina D está relacionada con la malabsorción en EC y predispone a estos pacientes a la psoriasis.(108)

Respecto al tratamiento, recientes estudios sugieren que ambas enfermedades puede mejorar con la DLG especialmente en pacientes con títulos altos de anticuerpos (109).

1.4.3.1.5. Rosácea

Esta enfermedad inflamatoria consiste en un eritema persistente en la zona de mejillas y nariz y afecta sobre todo a mujeres alterando seriamente la calidad de vida. Muestra un aumento de prevalencia en EC y otras enfermedades como enfermedad inflamatoria intestinal, SII o sobrecrecimiento bacteriano por infección por Helicobacter Pylori (108). Parece ser que existe una desregulación autoinmune, aunque la fisiopatología no es completamente conocida.

1.4.3.1.6. Manifestaciones orales

La cavidad oral es una de las más afectadas en la EC (Figura 10). En ella se observan hipoplasia del esmalte, retrasos en la erupción dental y aftas recurrentes (99). Las dos primeras son más frecuentes en pacientes con síntomas gastrointestinales, mientras que la presencia de aftas y ulceras aparecen con más frecuencia en formas subclínicas o asintomáticas.

La hipoplasia en el esmalte puede ser clasificada de acuerdo con los criterios de Aine (Tabla 2) en 4 grados, que incluyen desde imperfecciones en la coloración del esmalte (grado I) hasta defectos estructurales severos en los dientes (Grado IV) (113).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

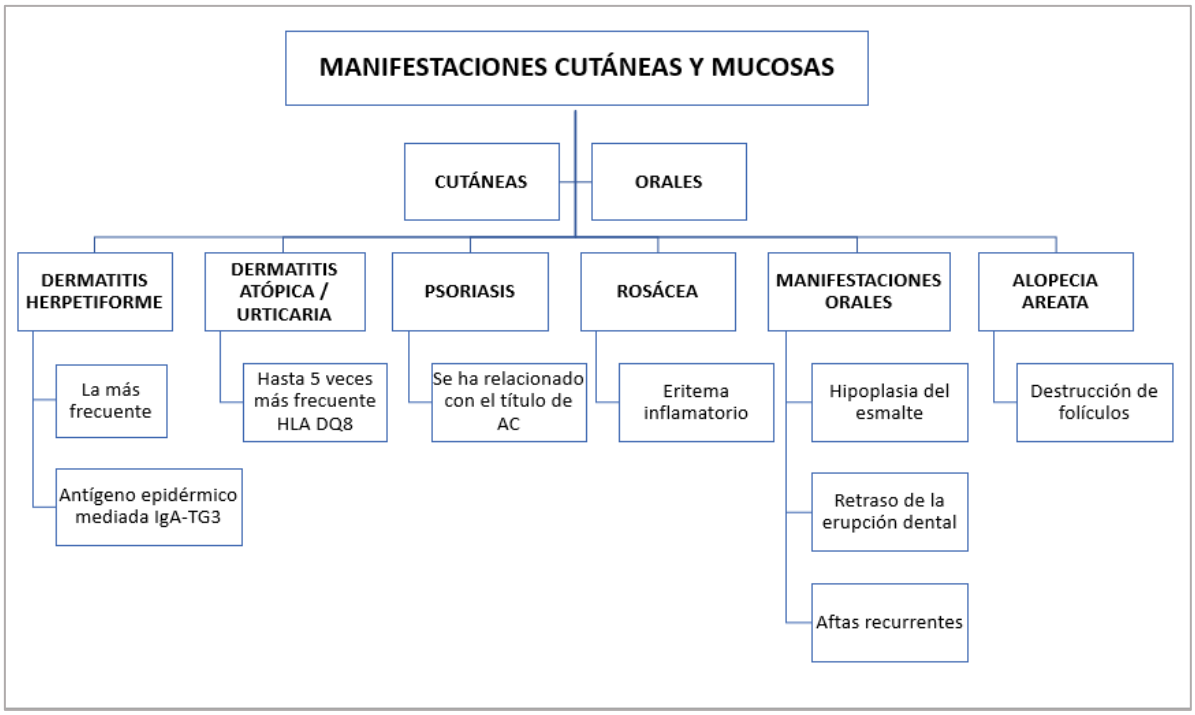


Figura 10. Manifestaciones cutáneas y mucosas. Elaboración propia. Fuente, Durazzo et al (99). Abreviaturas: AC anticuerpos; IgA-TG3, antitransglutaminasa 3.

Tabla 2: Grados de alteraciones orales

Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado III	Grado IV
Ausencia de defectos	Defecto en el color del esmalte (amarillo o marcas marrones)	Defectos leves en la estructura del esmalte (superficie)	Defectos evidentes en la estructura del esmalte (grandes opacidades)	Lesiones severas estructurales.

Clasificación de Aine. Elaboración propia. Adaptada de Macho et al (114)**.**

También, como se ha mencionado dentro de las manifestaciones orales, los pacientes presentan aftas orales recurrentes, dolorosas, quemantes que suelen aparecer en zonas no queratinizadas. Son más frecuentes en niños y adolescentes. La prevalencia aproximada de la estomatitis con respecto a la población general es 3 veces superior en la EC (prevalencia aproximada en EC 50%) (114,115).

Los mecanismos responsables son consecuencia de la malabsorción con deficiencias en hierro, fólico y vitaminas (A-D-B12). Además, la enteropatía celiaca induce a la alteración del metabolismo fosfocálcico causando hipocalcemia y desmineralización dental (113).

1.4.3.1.7. Alopecia areata

La alopecia areata está considerada como un trastorno autoinmune y que evoluciona hacia la destrucción de los folículos. Su presentación clínica variable y va, desde áreas delimitadas de escaso cabello, hasta parches en el cuero cabelludo con ausencia completa de cabello (108).

Se ha demostrado la asociación de alopecia areata y EC mediante un aumento de anticuerpos especialmente en formas severas, además con los beneficios de la DLG que induce a una reducción de la severidad y la recurrencia de la alopecia. (116).

1.4.2.1.8. Otras manifestaciones cutáneas

Otra manifestación cutánea característica de la EC es la vasculitis cutánea, especialmente la vasculitis leucocitoclástica o vasculitis por hipersensibilidad, caracterizada por el depósito de inmunocomplejos circulantes en las paredes de pequeños vasos con la activación del complemento. Se manifiesta como púrpura palpable, ampollas hemorrágicas y se acompaña de elevación de anticuerpos específicos (109).

Otras manifestaciones cutáneas son: edema angioneurótico, vitíligo, liquen plano oral, porfiria, dermatomiositis o neoplasias malignas en piel (109).

1.4.3.2 Manifestaciones hematológicas

1.4.3.2.1. Anemia

La anemia es la manifestación extraintestinal más frecuente en la población adulta con una prevalencia entre el 12% y el 82% (117); existiendo gran retraso en su diagnóstico de asociación con la EC. También está presente en el 15% de la población pediátrica. La anemia se correlaciona con la gravedad de la EC y es de etiología multifactorial (118). Se ha descrito que los celiacos que debutan con anemia tendrán una evolución más severa que aquellos que lo hacen con diarrea (119). En un metaanálisis reciente, (120) Mahadev et al., observaron que la anemia por deficiencia de hierro es frecuente en la EC independientemente de la demografía del paciente (edad y sexo). La absorción de hierro se produce principalmente en la mucosa duodenal, de ahí que el daño del intestino delgado típico de la EC activa pueda conducir a su malabsorción. Sin embargo, la observación de que la anemia podría encontrarse también en niños con EC potencial parece sugerir una patogénesis multifactorial. Deficiencias de vitamina B12 y folato también pueden ser responsables. Hasta el 84% de los niños con EC que presentan anemia leve y que siguen la DLG estrictamente y con tratamientos de hierro muestran una recuperación completa de sus almacenamientos de hierro a los 12-24 meses (121).

A pesar de que la EC está infradiagnosticada y de que la anemia ferropénica es una presentación común no existen directrices en la literatura para el cribado de la EC entre los pacientes con anemia ferropénica. Un estudio americano a partir de encuestas (122) analiza cuantos hematólogos en ejercicio realizan un cribado de EC en anemia ferropénica. Estos autores concluyen que el cribado de EC se realiza con poca frecuencia, sólo el 8,6% creía que todos los pacientes con anemia ferropénica debían someterse a este cribado. Por ello, queda todavía mucho camino de concienciación y de búsqueda activa de casos, y a este respecto el analizar pacientes con anemia resulta imprescindible a nuestra opinión.

Esta autora desde el laboratorio del Hospital Universitario Lucus Augusti (HULA) ha realizado varios estudios, incluidos casos clínicos de anemia relacionada con la EC. Todavía existe un gran desconocimiento y los pacientes con anemia, especialmente adultos, que son sometidos a numerosas pruebas cruentas y caras y han consultado a numerosos especialistas antes de que se solicite una simple prueba serológica que confirma el diagnóstico y cambia la vida del paciente. En este sentido esta autora presento en el año 2008 en el I Congreso Nacional del Laboratorio Clínico, celebrado en A Coruña, una comunicación titulada: *"Bicitopenia en la enfermedad celiaca del adulto. A propósito de un caso"*. Un paciente con anemia y leucopenia fue sometido a 2 biopsias de médula ósea y más de 40 hemogramas, transfusiones etc. hasta que, en una interconsulta con digestivo, se le solicitaron los anticuerpos IgA-TG2 confirmándose el diagnóstico de EC y, tras la DLG, normalizó los

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

niveles de hemoglobina y el número de leucocitos, no siendo necesario ningún tratamiento, ni consulta, ni pruebas diagnósticas posteriormente.

También he dirigido dos comunicaciones presentadas en los certámenes del premio Ulises Romero en el que participan los residentes y posteriormente presentadas como comunicaciones en el Congreso Nacional de Laboratorio Clínico y en el Congreso Europeo:
"Ferropenia en el debut de enfermedad celiaca del adulto" 2016. Se estudia un caso con anemia, ferropenia y ferritinemia con diagnóstico tardío de EC tras varias pruebas de imagen y la recuperación de todos los marcadores bioquímicos
Anemia of the elderly: Let´s always think about celiac disease. Presentada en el Congreso Europeo de Química clínica, en la que se reflexiona sobre la sospecha de EC y posterior estudio en casos con anemia en edades avanzadas, por el gran rendimiento clínico que tiene el diagnóstico (105).

Por otro lado, hay parámetros hematológicos poco estudiados. Uno de ellos es el Ancho de distribución eritroide ADE o RDW (*Red Blood Cell Distribution Width*). Es un parámetro simple y económico que refleja el grado de heterogeneidad de los eritrocitos (anisocitosis) y es utilizado en el diagnóstico diferencial de las anemias. En la última revisión de EC en Lancet señala la anemia ferropénica como la primera manifestación extradigestiva y habla de utilizar parámetros como hipocromía, anisocitosis mediante la ADE y ferritinemia (89). Estos dos parámetros se consideran especialmente relevantes para buscar los casos silentes y oligosintomáticas especialmente en adultos para conseguir un diagnóstico precoz. En esta tesis doctoral se incluye el estudio de este parámetro para contribuir al diagnóstico de la EC (véanse apartados de Objetivos, Justificación, Método, Resultados, Discusión y Conclusiones).

1.4.3.2.2. Otras enfermedades hematológicas

La hemorragia gastrointestinal tiene también un rol patogénico. En un estudio con 17 pacientes, se detectó la presencia de sangrado gastrointestinal oculto en deposiciones en 25% de los adultos con EC con atrofia vellositaria parcial y en 54% de los pacientes con atrofia total (123). La hemorragia en la EC se debe a una deficiencia de vitamina K. Otras manifestaciones hematológicas son la leucopenia o alteraciones en las plaquetas como trombopenia por déficit de vitamina K y trombocitosis por hipoesplenismo (124).

1.4.3.3 Manifestaciones neuromusculares

En la Figura 11 se recogen las principales manifestaciones neuromusculares.

La asociación entre EC y trastornos neurológicos fue descrita en el año 1966 por Cooke and Smith (125) que evidenciaron la presencia de ataxia cerebelosa y neuropatías periféricas en enfermos con EC.

Si bien la ataxia cerebelosa también llamada "gluten ataxia" (GA) sigue siendo la manifestación más común (126), la EC se asocia a otras manifestaciones neurológicas como dolor de cabeza, epilepsia y deterioro cognitivo (127).

Varios estudios muestran una importante prevalencia de enfermedades neurológicas relacionadas con la EC: Laurikka et al. (128) estiman que 1 de cada 5 pacientes con EC presentan manifestaciones neurológicas. Hadjivassiliou observa que el 67% de los pacientes tiene signos de disfunción neurológica (129).

La fisiopatología de la alteración neurológica en la EC todavía no está aclarada totalmente. Se sabe que el sistema nervioso presenta mecanismos mediados por el gluten que incluyen depósitos de inmunocomplejos, reactividad con autoanticuerpos, toxicidad directa o alteración de la microbiota que puede alterar el sistema nervioso. Recientemente también se ha relacionado la alteración neurológica con una hipoperfusión cerebral.(127).

USC DE COMPOSTELA

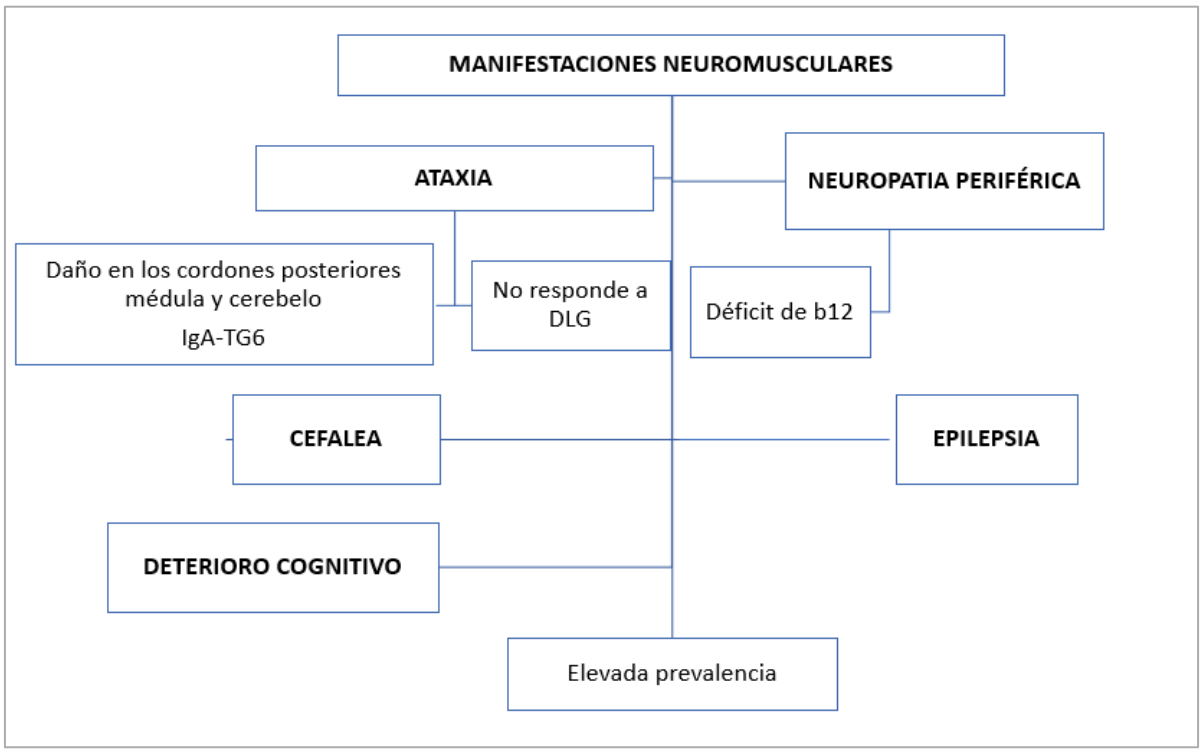


Figura 11. Manifestaciones neuromusculares. Elaboración propia. Fuente, Durazzo et al (99).Abreviaturas: DLG, Dieta Libre de Gluten.

A continuación, presentamos las manifestaciones neuromusculares de forma detallada:

1.4.3.3.1. Ataxia

Se presenta con mayor frecuencia en adultos (127) y puede ser la primera y la única manifestación de EC. Los síntomas incluyen alteración en el control de brazos y piernas, alteración de los movimientos de los ojos y falta de coordinación. Desde el punto de vista histológico los pacientes con GA muestran un tipo neurológico característico que consiste en bajas células de Purkinje, que se ha atribuido a déficit de vitaminas del grupo B (B1, B3, B6 y B12) (130). Este mismo estudio demuestra que los anticuerpos antigliadina y antitransglutaminasa (especialmente antitransglutaminasa 6) tienen reactividad con núcleos cerebelosos y neuronas corticales que producen daño en las células de Purkinje. La DLG estricta puede mejorar la función cerebelosa y las manifestaciones clínicas (130). Sin embargo, la DLG ha sido probada solo en adultos con GA, por lo que su utilidad no está clara en niños (126).

1.4.3.3.2. Neuropatía periférica

Es la segunda manifestación neurológica se presenta en pacientes celiacos, su prevalencia es del 2 al 23% y afecta con mayor frecuente a mujeres adultas (106). Su presencia se descubre generalmente por manifestaciones subclínicas leves, como menor sensibilidad al umbral del dolor, calor, hormigueo, sensación de entumecimiento y dificultad para escribir Suele describirse como una neuropatía simétrica que afecta a brazos y piernas y puede conducir a una progresiva inestabilidad en la marcha (131). El efecto de una DLG en la neuropatía periférica aún no está claro, la adherencia correcta a la dieta no parece prevenir el desarrollo de neuropatía ni la gravedad de la enfermedad (132).

1.4.3.3.3. Dolor de cabeza, epilepsia y deterioro cognitivo

Cicarelli et al., a principios del 2000, observaron una mayor prevalencia de dolor de cabeza entre los pacientes con EC y utilizaron, por primera vez, el término "encefalopatía por gluten" (133)**,** caracterizada por ataques de dolor de cabeza episódicos, similares a la migraña, que afectan a alrededor del 26% de la población celíaca. En la resonancia magnética nuclear pueden aparecer lesiones de desmielinización e inflamación vascular (131) (134). Otras manifestaciones neurológicas correlacionadas con la EC la epilepsia y el deterioro cognitivo o la neuro mielitis óptica (127,134).

1.4.3.4 Manifestaciones neuropsiquiátricas

Es conocida la relación entre la EC y los trastornos psiquiátricos, pero los mecanismos fisiopatológicos no se comprenden por completo. Depresión, ansiedad, trastorno por déficit de atención/hiperactividad (TDAH) y autismo son las manifestaciones neuropsiquiátricas más frecuentes en los pacientes celíacos (135) (Figura 12). Se sugiere que en niños la variabilidad de los trastornos neurológicos que ocurren en la EC es más amplia de lo que se consideraba anteriormente e incluye trastornos neurológicos "más leves" y más comunes, como dolor de cabeza crónico, retraso en el desarrollo, hipotonía y trastornos del aprendizaje o TDAH (136).

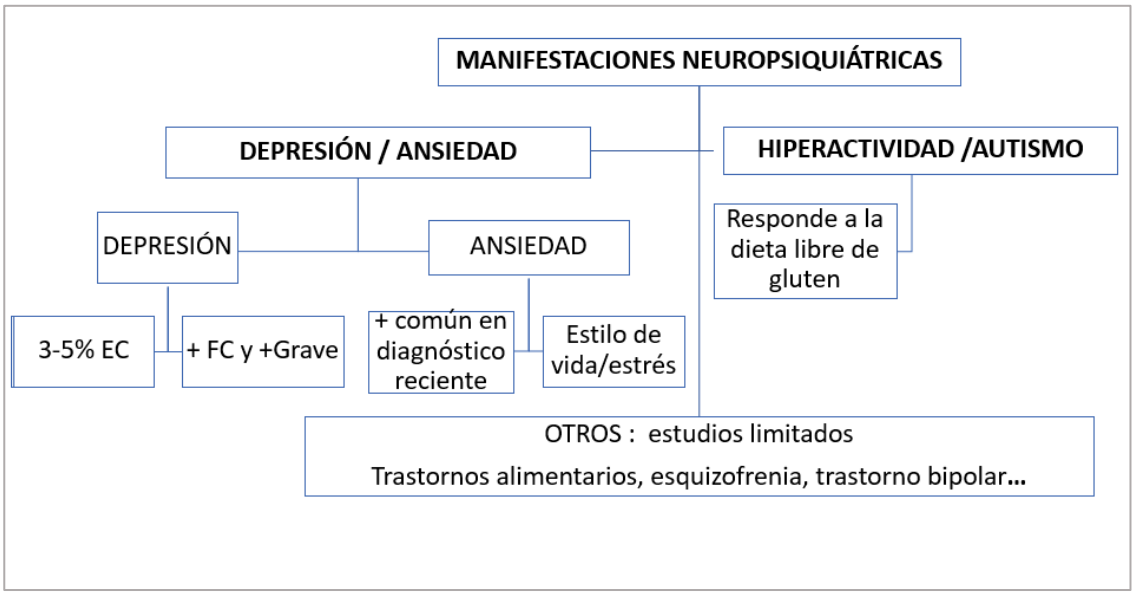


Figura 12. Manifestaciones neuropsiquiátricas. Elaboración propia. Fuente, Durazzo et al (99). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; FC, frecuente.

En estas manifestaciones pueden estar involucrados tanto factores biológicos como sociales. Los factores biológicos incluyen procesos de inflamación, actividad autoinmune, composición de la microbiota y la relación del eje intestino-cerebro, aunque existe poca evidencia, debido al pequeño tamaño de las muestras en estos estudios. Las implicaciones sociales incluyen todas las posibles consecuencias negativas de la introducción de la DLG, como por ejemplo el aislamiento social o evitar salir debido a la difícil gestión de las comidas y el temor al riesgo de contaminación (135)

Respecto a la mejora de estas alteraciones con la DLG son necesarios estudios prospectivos longitudinales para poder definir la gama completa de estos trastornos neurológicos y su respuesta clínica a una DLG.

1.4.3.4.1. Depresión y ansiedad

Según una revisión sistemática reciente (135), el riesgo de desarrollar depresión es mayor en cohorte, con una prevalencia media del 3,5 % y trastorno depresivo era más común y grave entre los sujetos adultos con EC

Existen hipótesis biológicas que intentan explicar este aumento de riesgo como la existencia de niveles bajos de serotonina por la malabsorción de triptófano, el aumento de la actividad del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal o la presencia concomitante de hipotiroidismo (135) (137).

Por otro lado, también hay condiciones psicosociales que pueden explicar este aumento de riesgo, por ejemplo, el hecho de que la adherencia a un régimen dietético estricto puede inducir a evitar situaciones sociales que involucren alimentos y, a tener mayores niveles de estrés debido a las dificultades y preocupaciones relacionadas con las comidas. Todas estas condiciones psicosociales ciertamente contribuyen a la aparición y progresión de la depresión (138)

Algunos estudios observaron una mejora con la adherencia a la DLG, especialmente después de la administración a largo plazo (139), mientras que otros, muestran el empeoramiento de los síntomas depresivos (135).

Los estados de ansiedad son más comunes entre los pacientes con EC de diagnóstico reciente. De nuevo, la introducción de una DLG conlleva gran cantidad de cambios en los hábitos alimentarios y en el estilo de vida del enfermo, lo que puede provocar agitación y sentimientos de estrés (138). Sin embargo, esta condición generalmente mejora después de 1 año de DLG. (139)

1.4.3.4.2. Síndrome de hiperactividad y autismo

El TDAH afecta aproximadamente al 1,4% de los pacientes con EC, cuyo riesgo es mayor en comparación con la población general (138). Un estudio preliminar de Niederhofer et al. mostró una “sobreexpresión” de los síntomas del TDAH en un grupo de celíacos, que mejoró en la mayoría de ellos (74%) después de 6 meses de una DLG (140).

También se ha observado un aumento significativo en el desarrollo de riesgo para los trastornos del espectro autista, en los que un cumplimiento adecuado de una DLG parece mejorar los síntomas conductuales (138).

1.4.3.4.3. Otros

El conocimiento sobre la correlación entre la EC y otros trastornos psiquiátricos es muy limitado y los estudios están publicados como casos clínicos fundamentalmente. Se ha planteado recientemente la hipótesis de que los pacientes con EC tienen un mayor riesgo de tener trastornos alimentarios. Sin embargo, solo unos pocos estudios han investigado el impacto de una DLG en ellos (135).

También se ha investigado la posible asociación entre la EC y la esquizofrenia por la evidencia de una mejoría de los síntomas de sujetos esquizofrénicos después de la introducción de una DLG (8). Sin embargo, otros estudios recientes no mostraron correlaciones significativas con la esquizofrenia y en estos mismos estudios tampoco se han observado diferencias significativas en la prevalencia y el riesgo para el trastorno bipolar (135).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.4.3.5 Manifestaciones hepáticas

En la Figura 13 se esquematizan las alteraciones hepáticas asociadas a la EC.

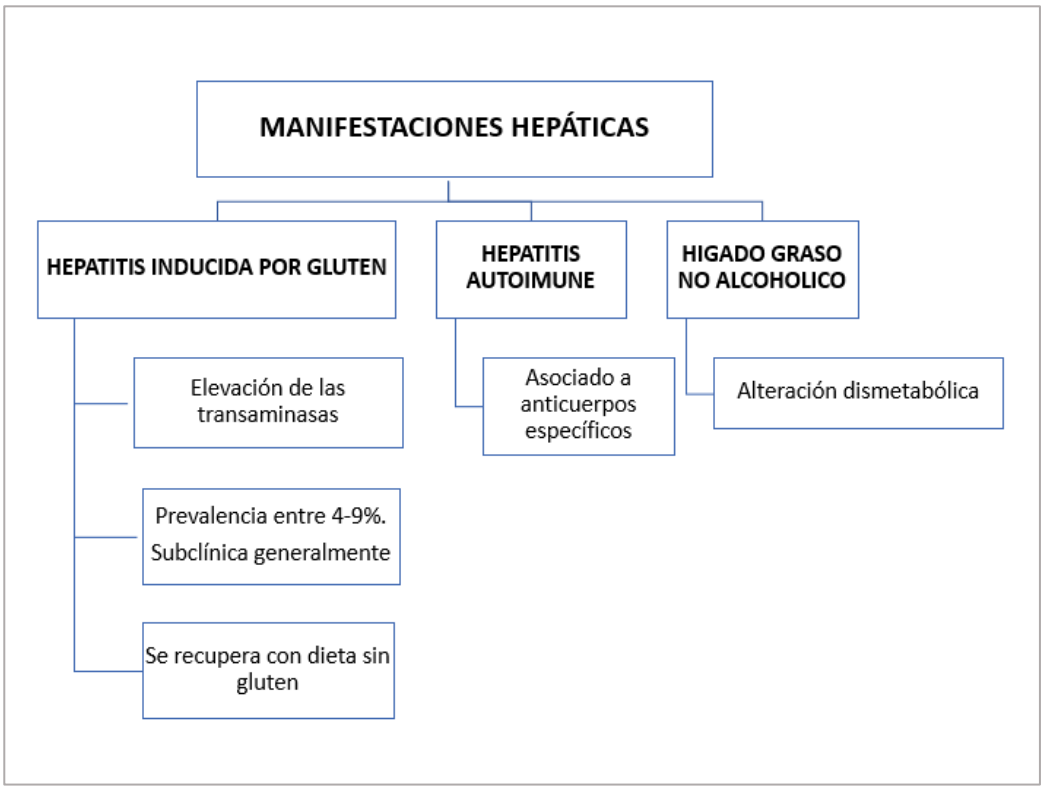


Figura 13. Manifestaciones Hepáticas. Elaboración propia. Fuente, Durazzo et al 2022 (99).

A continuación, se describen los principales aspectos de las manifestaciones hepáticas de la EC.

1.4.3.5.1. Hepatitis autoinmune y hepatitis inducida por gluten

En la historia de la EC se incluyen con frecuencia signos de daño hepático, que pueden deberse a una alteración dismetabólica, como la enfermedad de hígado graso no alcohólico, o a una enfermedad autoinmune asociada, como la hepatitis autoinmune (141).

Los pacientes celiacos presentan en ocasiones niveles elevados de aminotransferasa sin causas conocidas de enfermedad hepática (99); esta condición ha sido denominada "hepatitis inducida por gluten", con una prevalencia de 4-9% (142)**.** Por lo general, la lesión hepática es leve y fácilmente reversible con la DLG y solo evolucionará a insuficiencia hepática en raras ocasiones. Sólo o cuando la EC no se reconoce o no se trata y la afectación hepática es subclínica, se debe temer la progresión de la afectación hepática.

El mecanismo fisiopatológico de la hepatotoxicidad se debe a:

- Alteración de la permeabilidad intestinal que conduce a una mayor exposición a hepatotoxinas en la circulación portal (13)
- Daño hepatocelular directo por depósitos de autoanticuerpos TG2 en el tejido hepático (como puede evidenciarse en las biopsias de hígado de estos pacientes) (128)

La gravedad de la hipertransaminasemia se ha asociado con la presencia de malabsorción, títulos elevados de autoanticuerpos celíacos y lesiones duodenales graves (143). Como la EC puede presentarse como una hipertransaminasemia aislada en ausencia de otros síntomas gastrointestinales, debe incluirse en el diagnóstico diferencial de hepatitis (56).

Por lo tanto, la búsqueda de EC debe realizarse en sujetos que presenten niveles elevados de transaminasas sin otros síntomas de enfermedad hepática crónica u otras causas (13).

La alteración hepática suele ser benigna y reversible y la DLG suele provocar la resolución de la lesión y la normalización de las transaminasas en un plazo de 6 a 12 meses (142).

Sorprendentemente, la DLG permite una mejoría clínica incluso en estas condiciones más graves como han demostrado algunos estudios. Por todo ello, la EC debe investigarse exhaustivamente en todos los pacientes que presenten hepatitis de etiología desconocida, porque la detección y el tratamiento tempranos mediante DLG pueden prevenir la progresión a una enfermedad hepática grave (13).

1.4.3.6 Manifestaciones reproductivas

La EC silente en la mujer puede ser considerada como una causa de esterilidad de origen desconocido, que puede afectar al 5,6 % de los pacientes, teniendo en cuenta que la esterilidad de origen desconocido afecta al 10%-15% de las parejas, la EC constituye un importante problema de esterilidad. Estudios recientes han propuesto que la infertilidad en la EC puede ser de causa autoinmune sugiriendo que los anticuerpos TG2 pueden ser los responsables de la inhibición de la angiogénesis endometrial (144) .

En la Figura 14 se resumen las alteraciones y características de las manifestaciones reproductivas.

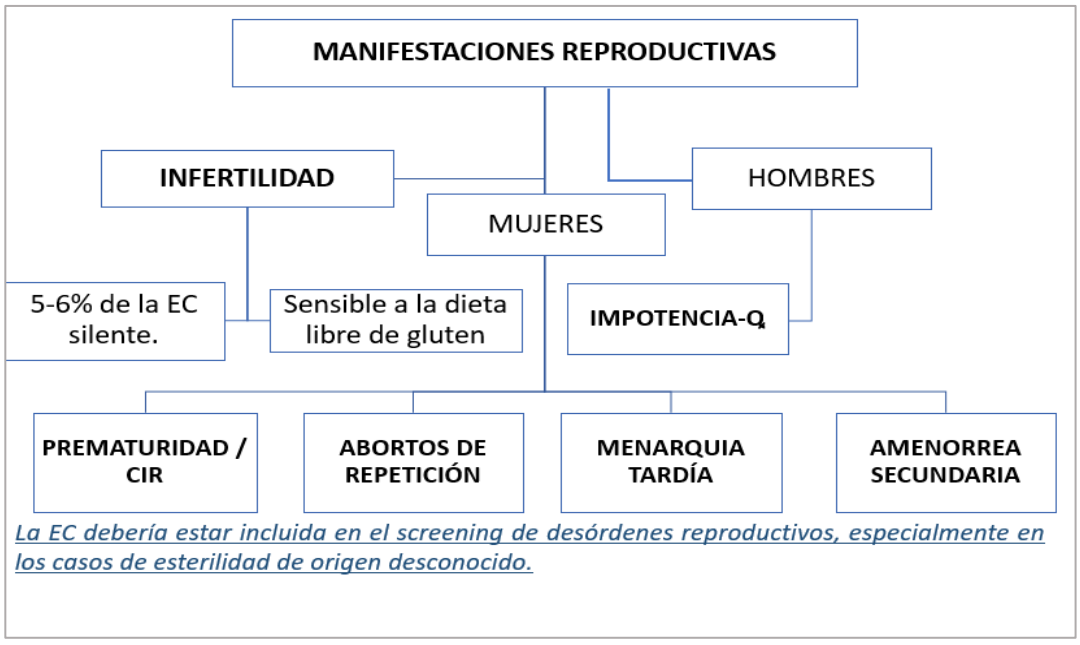


Figura 14. Manifestaciones reproductivas en la EC. Elaboración propia. Fuente, Durazzo et al (99). Abreviaturas: CIR: Crecimiento intrauterino retardado; EC: Enfermedad Celíaca.

1.4.3.6.1. Infertilidad, abortos y prematuridad

Las mujeres con bajo rendimiento reproductivo presentaban enfermedad celíaca subclínica. Su causa es la inflamación, la malabsorción y la malnutrición con el consiguiente déficit de hierro, zinc y folatos que pueden afectar a secreción de gonadotrofinas hipofisarias, produciendo infertilidad tanto en mujeres como en hombres. La DLG es efectiva y retornará a unos niveles basales de fertilidad en ambos sexos; mientras que las mujeres que no siguen DSG manifiestan procesos como menarquia tardía, amenorrea secundaria, menopausia precoz, abortos de repetición, prematuridad o recién nacidos de bajo peso (145).

La EC silente en la mujer puede ser considerada como una causa de esterilidad de origen desconocido, que puede afectar al 5,6 % de los pacientes y, teniendo en cuenta que la esterilidad de origen desconocido afecta al 10-15% de las parejas, la EC constituye un importante problema de esterilidad (146). Kumar et al., constatan que la seroprevalencia de IgA-TG2 y detectan el 6,70% en el grupo con aborto recurrente, del 5,70% en el grupo con mortinatos, del 5,65% en el grupo con infertilidad, 9,33% en el grupo con crecimiento intrauterino retardado en comparación del 1,30% en el grupo de control. Las tasas de partos prematuros previos, de recién nacidos con bajo peso al nacer y de cesáreas fueron más elevadas en las mujeres seropositivas que en las seronegativas. Por lo que se concluye que la serología de la EC debería estar incluida en el cribado de desórdenes reproductivos, sobre todo en los casos de esterilidad en casos idiopáticos (146).

1.4.3.7 Manifestaciones endocrinas

En la Figura 15 se resumen las alteraciones endocrinas. La DM1 y la tiroiditis autoinmune (TAI) son los trastornos endocrinos más comunes encontrados en enfermos celiacos. Estas manifestaciones no suelen revertir con la DLG, pero si existe una mejoría clínica.

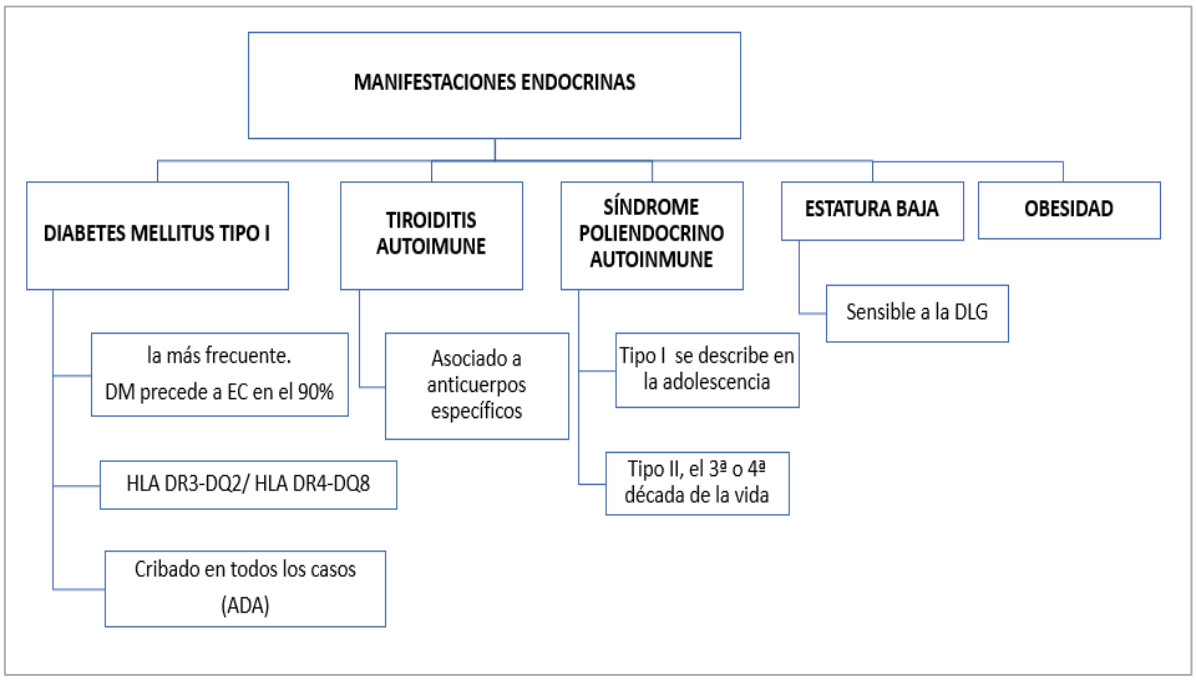


Figura 15. Tipos de manifestaciones endocrinas más frecuentes. Elaboración propia. Fuente, Durazzo et al (99). Abreviaturas: ADA, *American Association of Diabetes*; DM, diabetes mellitus; DLG, dieta libre de gluten; EC, Enfermedad Celiaca.

1.4.3.7.1. Diabetes Mellitus tipo 1

Es la manifestación más frecuente, siendo el diagnóstico de DM1 previo en el 90% de los casos. La susceptibilidad a la DM1 se asocia a la presencia de los haplotipos HLA DR3-DQ2 y HLA DR4-DQ8, de forma similar a la EC. La coexistencia de ambas enfermedades está basada en la respuesta autoinmune y puede explicarse por el mimetismo molecular a través de la transglutaminasa o la gliadina que activan linfocitos T que tienen reacción cruzada con otros autoantígenos. La respuesta inflamatoria desencadenada puede persistir en personas susceptibles y conlleva a enfermedades autoinmunes órgano específicas (147). Afecta más frecuentemente a niños y adolescentes.

USC DE COMPOSTELA

Esta asociación se considera suficientemente prevalente y, los beneficios del diagnóstico y del tratamiento de la DLG suficientemente relevantes para recomendar evaluar a todos los pacientes con DM1 para esta enfermedad (148) La *American Association of Diabetes* (ADA) recomienda realizar cribado de EC en presencia de historia familiar de EC, fallo del crecimiento y episodios de hipoglucemia de causa desconocida (149).

1.4.3.7.2. Alteraciones Tiroideas

Se estima que hay una prevalencia de enfermedades vinculadas al tiroides de hasta un 14% en las personas que padecen EC. De ella la manifestación y asociación más frecuente es la TAI que llega a representar el 9,3% más de prevalencia en personas con EC (150) que en la población general. Por ello, se recomienda hacer un cribado a todos los pacientes con tiroiditis autoinmune debido a su elevada prevalencia (150). En general, entre los desórdenes tiroideos cabe destacar que es más frecuente el hipotiroidismo que el hipertiroidismo.

1.4.3.7.3. Síndrome poliendocrino

En algunos pacientes con EC se ha observado un síndrome poliendocrino autoinmune (SPM) (151). Estos pueden ser SPM tipo I que se presenta en la adolescencia (como candidiasis mucocutánea, distrofia cutánea y diversos trastornos endocrinos) y SPM tipo II, que se desarrolla en la tercera o cuarta década y es más común en mujeres; caracterizándose por TAI, DM1 y enfermedad de Addison (152).

1.4.3.7.4. Estatura baja

La talla baja, a diferencia de otras alteraciones endocrinológicas, es sensible a una DLG (143). Por este motivo, es importante que en niños se realice un diagnóstico y un tratamiento precoz, ya que se asocia con una recuperación temprana del crecimiento (durante los primeros 2 a 3 años de la DLG) y existe la posibilidad de alcanzar la estatura que cabría esperar en la edad adulta (153).

Su causa más probable es la malabsorción secundaria a la atrofia de las vellosidades, pero no se puede excluir que el proceso inflamatorio, especialmente la elevación de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF-α e IL-1), puedan conducir a un mal funcionamiento en la secreción de la hormona del crecimiento (154).

La EC también se ha asociado con una estatura más baja en la edad adulta comparadas con la población sin EC. Una reciente revisión sistemática, que incluyó 3759 pacientes con EC confirmada por biopsia, la prevalencia de EC osciló entre el 7,4% y el 11,6% para todas las causas de baja estatura idiopática (22) Por lo tanto, es importante realizar el cribaje de EC todos los pacientes con estatura baja, tanto en niños como adultos.

1.4.3.7.5 Obesidad

La EC se manifiesta generalmente con bajo peso corporal y en un bajo índice de masa corporal (IMC). Una pobre absorción produce deterioro del peso corporal y dificultad en la ganancia de peso. Sin embargo, cada vez se documentan más casos de sobrepeso y obesidad en el debut de la enfermedad. Totora et al. demostraron que en pacientes adultos celiacos con diagnóstico reciente de EC, el 12,2% presentaban sobrepeso y el 8,1%, obesidad (155). En este mismo aspecto, Kabbani et al. encontraron que la prevalencia de sobrepeso y obesidad era del 32% en pacientes celiacos adultos (156).

Se han buscado diferentes hipótesis que expliquen esta situación, una de ellas ha sido un aumento en la expresión de interleucinas Th17 específica para gluten (IL-Th17), la cual podría

generar una mayor extensión del daño intestinal. (157). Sin embargo, las diferencias no llegaron a ser significativas. Es necesario realizar estudios que evalúen la masa intestinal y la capacidad de absorción del intestino que permitan explicar la alta prevalencia de sobrepeso en los enfermos celiacos. En algunos casos, la EC se detecta durante las pruebas diagnósticas previas a la cirugía bariátrica. Con relación a este aspecto, nuestra experiencia ha sido presentada en el V Congreso Nacional de Enfermedad Celiaca "Enfermedad Celiaca asociada a Obesidad Mórbida", basada en el caso de una mujer de 40 años en la que se detectó EC en la endoscopia previa a la cirugía bariátrica. Posteriormente se publicó en un número especial de la revista Gastroenterología y Hepatología 2016 (158).

1.4.3.8 Manifestaciones esqueléticas

1.4.3.8.1. Osteopenia y Osteoporosis

La osteoporosis aparece en un 7% de las formas de debut de EC con manifestaciones extraintestinales, como consecuencia de una disminución de la absorción intestinal de calcio y vitamina D. El mecanismo etiopatogénico varía según se trate de una forma grave o leve.

En las formas graves de malabsorción se produce un descenso de los niveles de calcio y vitamina D, que produce un aumento de la concentración de parathormona (PTH) que incrementa el remodelado óseo a través del sistema RANK/RANKL provocando un descenso de masa ósea relacionado con la liberación de citoquinas IL-6, IL18, interferón γ y TFN- α. Otros factores que pueden contribuir a la disminución de masa ósea serían: el hipogonadismo hipogonadotrófico y la malabsorción de zinc que inhibe el factor de estimulación de la formación ósea (IGF-1) (148).

En la siguiente Figura (Figura 16) se resume la fisiopatología de la osteoporosis en la EC.

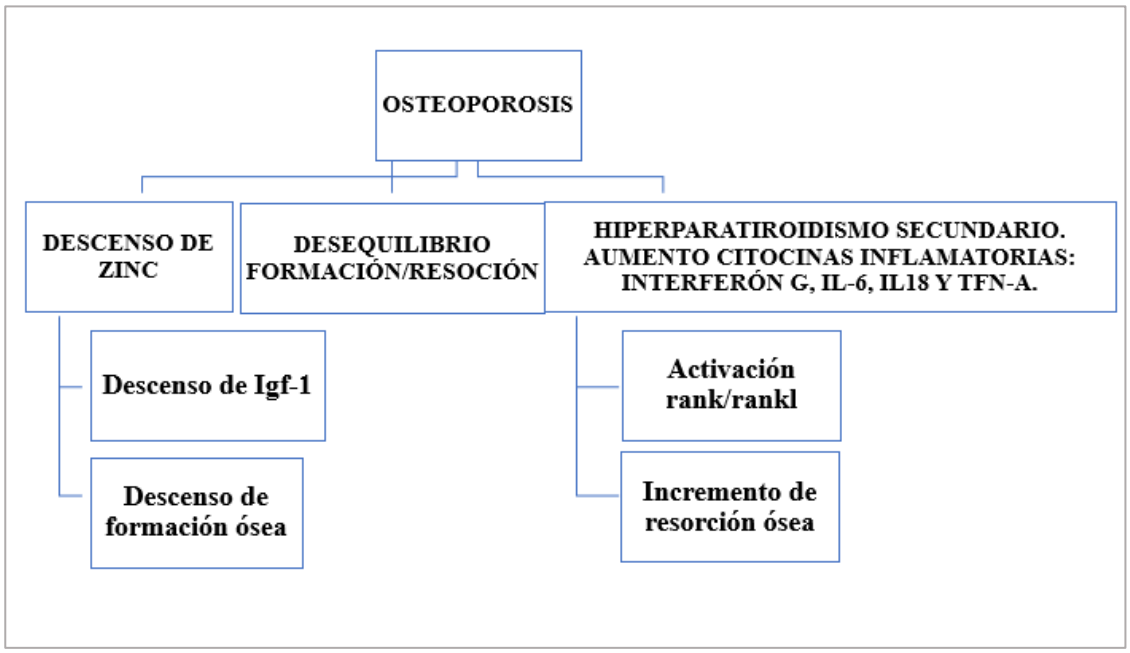


Figura 16. Fisiopatología de la osteoporosis en la EC. Elaboración propia. Fuente, Pérez Castrillón et al (148). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celiaca; IGF-1, Factor de crecimiento similar a la insulina 1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.4.3.8.2 Fracturas

En la EC hay un aumento de fracturas y fundamentalmente fracturas osteoporóticas (vertebrales, cadera etc.) (148).

Una DLG aumenta la masa ósea a niveles casi normales en estos pacientes, cuando existe alto riesgo de fractura osteoporótica se requiere un tratamiento específico. No hay estudios que analicen la eficacia de fármacos anabolizantes y anti catabólicos en pacientes celíacos. (148). Es importante la sospecha de EC en osteoporosis precoz y fracturas de repetición inexplicables, especialmente en las formas de presentación tardía.

El diagnóstico de la EC en ancianos ha puesto en evidencia la prevalencia de las manifestaciones esqueléticas y otros trastornos más atípicos y la falta de conciencia respecto a estos síntomas conduce a retrasos significativos en el diagnóstico.

Esta autora detectó un caso muy interesante dentro de su estudio de marcadores serológicos que fue galardonado con el premio al mejor caso clínico en el certamen Ulises Romero al mejor caso clínico para residentes y posteriormente presentado en el XII congreso Nacional del Laboratorio Clínico. Se presentó el caso de una paciente de 83 años con una importante osteopenia con aplastamientos vertebrales, hipocalcemia y déficit de vitamina D. Después de descartar un proceso maligno se estudió para malabsorción y se confirmó un diagnóstico de EC con atrofia vellositaria total y biomarcadores positivos (159).

1.4.4 Forma subclínica

Incluye pacientes con síntomas y signos por debajo del umbral de identificación clínica y que, con frecuencia, solo son reconocibles después de la apreciación de los efectos beneficiosos inducidos por la DLG. Un ejemplo típico de casos subclínicos son los familiares de primer grado de enfermos celiacos que se someten a pruebas de detección de anticuerpos o casos identificados como resultado de una estrategia de detección en la población general.

1.4.5 Forma potencial

Caracteriza por marcadores serológicos y genéticos positivos, pero sin lesión histológica o signos mínimos de inflamación, como un aumento de los LIE (97). Los pacientes que presentan la forma potencial de EC pueden presentar síntomas intestinales, extraintestinales o ser completamente asintomáticos. Todavía existe consenso si en estos casos se debe prescribir o no una DLG, aunque en la mayoría de los casos solo se realiza seguimiento. En una revisión del 2019 Popp et al. destacan que los pacientes con enfermedad celiaca potencial pueden sufrir las mismas complicaciones extraintestinales inducidas por el gluten antes de que la enfermedad se manifieste a nivel intestinal (160). Según la autora de esta Tesis Doctoral estos pacientes potenciales, que están "excluidos" por EC, pueden beneficiarse de la DLG. Por otra parte, formulo la pregunta ¿por qué esperar a que ocurra una enfermedad terminal cuando se puede prevenir? Las manifestaciones extraintestinales que ocurren en la EC también se encuentran en la etapa de enfermedad latente. Por esto, esta autora recomienda que los pacientes con rasgos celíacos deban de ser identificados y tratados.

La Figura 17 muestra un resumen de las manifestaciones extraintestinales inducidas por el gluten.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

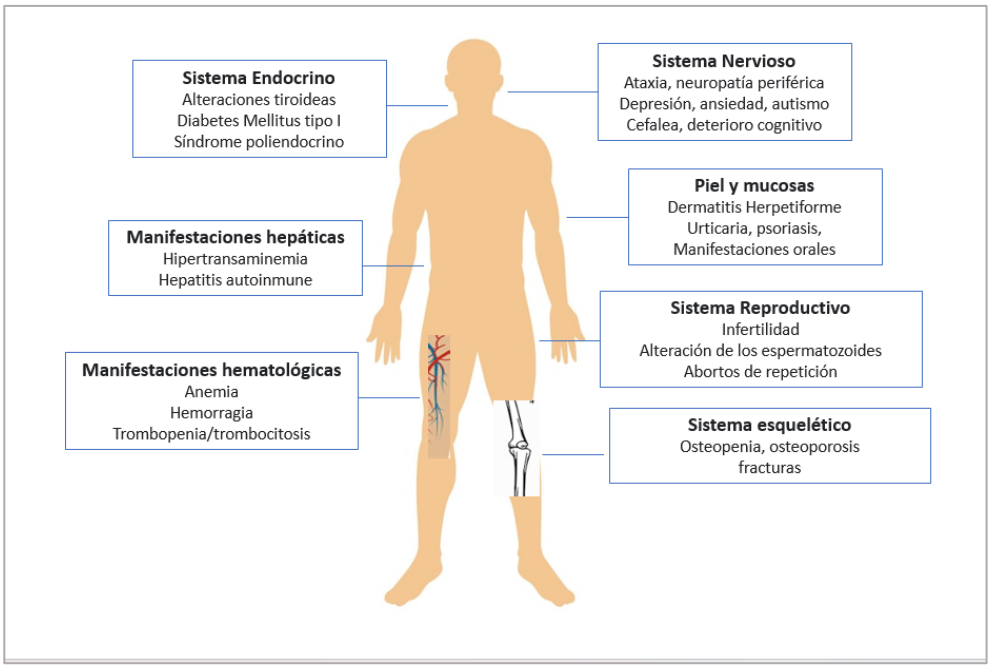


Figura 17. Manifestaciones extraintestinales de la EC. Elaboración propia. Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca.

Como se puede observar la EC constituye un auténtico reto clínico, conocida como el camaleón de las enfermedades, porque se adapta a la persona afectada y sus síntomas varían mucho. Por estas razones se ha observado en todo el mundo un modelo creciente de nuevos casos de EC y, como la mayoría de los casos en la actualidad escapan al diagnóstico, se deberían hacer esfuerzos para aumentar el conocimiento del polimorfismo de la EC.

1.4.6 Grupos de riesgo y enfermedades asociadas a la EC

Se indican en la Tabla 3. Es importante considerar especialmente las formas subclínicas y las enfermedades asociadas las patologías autoinmunes. Disponemos de biomarcadores de enfermedades autoinmunes sistémicas que pueden ayudar al diagnóstico precoz de esta enfermedad. Es necesario hacer un cribado en pacientes con autoinmunidad alterada, ya que ambas situaciones pueden coincidir, se asocian a una morbimortalidad asociada y la DLG beneficiaria al curso clínico de la enfermedad autoinmune.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 3. Grupos de riesgo y enfermedades asociadas de la EC.

Familiares asintomáticos con un miembro de la familia de primer grado (padres, hijos y hermanos) con diagnóstico confirmado de enfermedad celiaca.		
Pacientes con enfermedades asociadas		
Enfermedades autoinmunes y otras inmunopatías:	**Trastornos neurológicos:**	**Otras asociaciones:**
DM I	Encefalopatía progresiva	Síndrome de Down
TI	Síndromes cerebelosos	Síndrome de Williams
Déficit selectivo de IgA	Demencia con atrofia cerebral	Síndrome de Turner
Síndrome de Sjögren	Leucoencefalopatía	Fibrosis Quística
Lupus Eritematoso Sistémico	Epilepsia con calcificaciones	Enfermedad de Hartnup
Artritis reumatoide	Esquizofrenia	Cistinuria
Hepatitis Cónica Autoinmune	Neuropatía periférica o ataxia	Colitis microscópica
Cirrosis Biliar primaria		Cardiomiopatía
Nefropatía por IgA		Fibromialgia
Enfermedad de Addison		
Enfermedad Inflamatoria intestinal		
Psoriasis, vitíligo y alopecia areata		

Elaboración propia, adaptada del Protocolo para el diagnóstico precoz de la EC (124). Abreviaturas: DM I, Diabetes Mellitus tipo I; EC, Enfermedad Celíaca; IgA, Inmunoglobulina A; TI, Tiroiditis autoinmune.

En relación con los factores de riesgo, en el año 2012 la autora de esta Tesis Doctoral público en el libro *"Laboratorio y enfermedad",* de la Asociación Española de Biopatología Médica, un caso clínico de una mujer de 69 años con lesiones cutáneas y portadora de autoanticuerpos anticélulas parietales gástricas. La búsqueda activa de casos de EC confirmó la presencia de IgA-TG2 a títulos altos y se certificó el diagnóstico mediante biopsia (161).

Igualmente se presentó en el VII Congreso Nacional de Enfermedad Celíaca celebrado en Huesca un caso clínico de asociación familiar de EC en un niño con clínica clásica y padre asintomático y presencia de obesidad, que fue diagnosticado por cribado familiar. Con este caso se quiso destacar la importancia del estudio familiar en los nuevos diagnósticos de la EC para detectar casos asintomáticos, la obesidad como posible manifestación de la EC que se corrige con la DLG, así como que, en adultos, la adherencia a la DLG suele ser de más difícil cumplimiento, por lo que es importante el correcto seguimiento de esta (162).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico correcto requiere resolver un rompecabezas médico y se lleva a cabo mediante la conjunción de datos clínicos, serológicos, genéticos e histopatológicos.

El diagnóstico de confirmación se basa en la combinación de la BD y los biomarcadores serológicos.

El siguiente esquema (Figura 18) representa los pilares del diagnóstico de la EC.

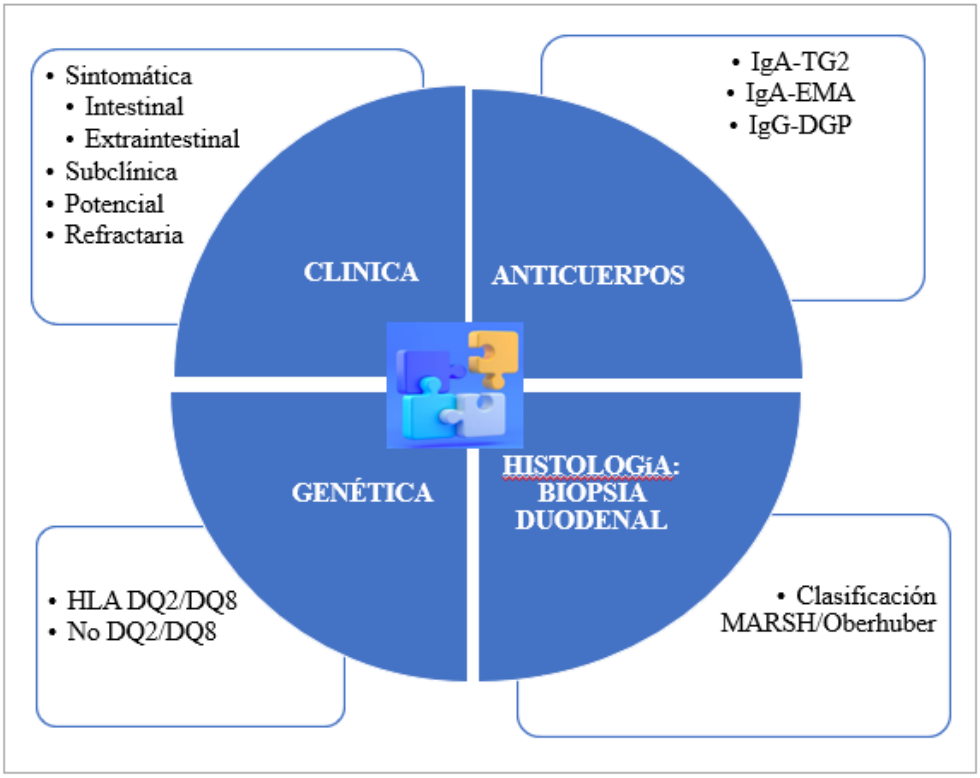


Figura 18. Pilares del diagnóstico de la EC. Elaboración propia. Abreviaturas: IgA-TG2, antitransglutaminasa IgA; IgA-EMA, antiendomisio IgA; IgG-DGP antigliadina desaminada; HLA, Antígeno Mayor de Histocompatibilidad.

1.5.1 Diagnóstico serológico: autoanticuerpos específicos

El desarrollo de la EC se caracteriza por la aparición de autoanticuerpos séricos, que hoy en día tienen un papel central en el proceso de diagnóstico. Los marcadores serológicos han sido de gran utilidad para poner de manifiesto la heterogeneidad de las formas de presentación clínica y, como se hemos visto, han sido la base de los estudios de prevalencia en la población general. Además, han permitido identificar las poblaciones de riesgo y las enfermedades asociadas a la EC.

Actualmente, el diagnóstico serológico de la EC se basa en pruebas altamente predictivas y ampliamente validadas, que incluyen tres tipos de anticuerpos: EMA, TG2 y DGP. Los anticuerpos relacionados con EC pertenecen a las clases IgA e IgG, pero solo los de la clase IgA pueden considerarse altamente sensibles y específicos para EC, con la excepción de los DGP que son más específicos los del tipo IgG.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5.1.1 Ac TG2

Los Ac TG2 surgen en el año 1997 (12) cuando Dieterich identifica la TG2 como el autoantígeno reconocido por los EMA. La TG2 es una proteína enzimática que modifica los péptidos no digeribles del gluten de la dieta en la lámina propia intestinal, de forma que son reconocidos por la molécula HLA-DQ2 y presentados a la célula T CD4+; activando una respuesta infamatoria y humoral, con la producción de autoanticuerpos específicos en pacientes con EC. Con el anticuerpo anti TG2 disponible, se puede utilizar una técnica automatizable, resolviendo con ello los problemas técnicos de la IFI.

Los IgA-TG2 son los más utilizados y recomendados para el despistaje de la EC. En las personas con dieta que contiene gluten, estos anticuerpos presentan una alta sensibilidad (>95%) y especificidad (>90%) (163,164) aunque a títulos bajos pueden aparecer en enfermedades autoinmunes, enfermedades hepáticas e infecciones. Su determinación se realiza mediante ELISA que es una técnica objetiva y cuantitativa y automatizable.

Cuando hay un déficit selectivo de IgA (IgA < 0,07mg/dL), tiene utilidad la isoforma IgG de anticuerpos antitransglutaminasa. Los anticuerpos frente a otras isoformas de transglutaminasa carecen de utilidad clínica (165).

1.5.1.2 Ac EMA

Los IgA-EMA se identifican a través de su relación con la dermatitis herpetiforme. Los IgA-EMA, con una sensibilidad y especificidad superior al 95%, revolucionan la detección serológica de la EC, facilitando estudios epidemiológicos que demuestran la alta prevalencia de la EC en población general y la diversidad de sus formas de presentación clínica. Los IgA-EMA se determinan por IFI. Técnica utilizada para determinar anticuerpos de los que se desconoce el antígeno (Figura 19). La reacción inmunológica tiene lugar sobre una porta que tiene fijados cortes de tejido que contiene el antígeno. El tejido más usado es el esófago distal de mono, también se han usado cortes de cordón umbilical humano, de yeyuno (AYA, anticuerpos antiyeyuno), o de riñón de rata (ARA, antecuerpos antireticulina). La IFI es una técnica cualitativa o semicuantitativa con diluciones progresivas del suero, de procesamiento manual o semiautomatizado, con una lectura final al microscopio de fluorescencia, y está sujeto a la variabilidad interobservador.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

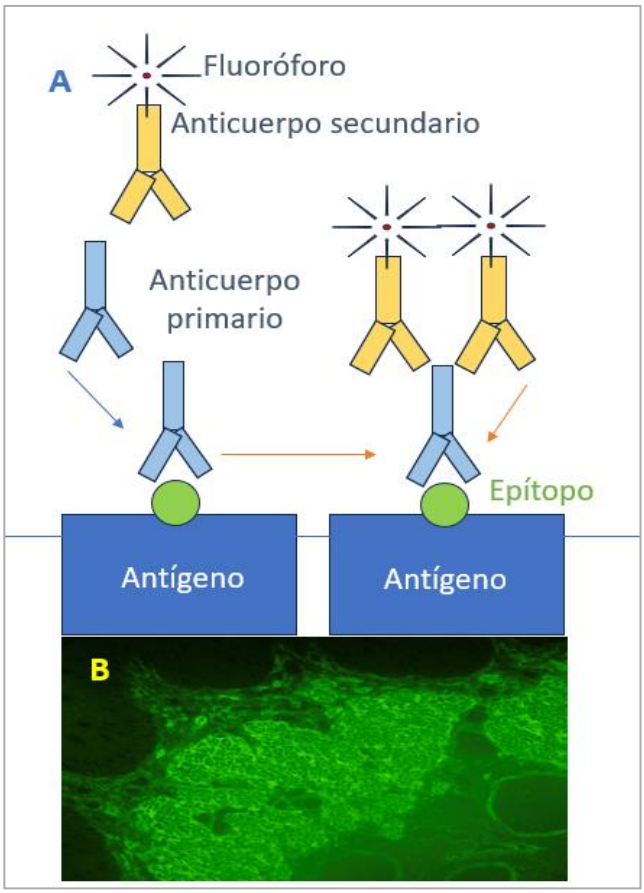


Figura 19. A, fundamento de Inmunofluorescencia indirecta. Elaboración propia. B, Sustrato esófago distal de mono. Mecanismo e imagen 40X. Autorizado por Grifols®

Los portas de esófago distal de mono tienen un coste económico y ecológico considerable, además, su naturaleza subjetiva y cualitativa, limita su aplicabilidad en el diagnóstico de rutina de la EC. Existe otra opción que es utilizar portas de cordón umbilical humano como sustrato comercial o preparados en el mismo laboratorio, pero presentan un patrón más difícil de visualizar, y también tienen consideraciones éticas. En pacientes con déficit de IgA, se puede determinar los Ac EMA de clase IgG, pero su imagen en IFI suele presentar fluorescencia inespecífica, difícil de interpretar, en este caso se recomienda utilizar como pruebas IgG los anticuerpos antigliadina desaminada (primera elección en los déficits de IgA) o la IgG-TG2.

A pesar de estas limitaciones, la especificidad de estos anticuerpos en laboratorios de tercer nivel con operadores expertos se aproxima al 100% (166). Por este motivo son considerados los anticuerpos de referencia.

1.5.1.3 Ac DGP

Se utilizan los del serotipo IgG (Tabla 4). La sensibilidad es mayor que la de los anticuerpos IgA-EMA o IgA-TG2 en pacientes menores de dos o tres años (167). Por encima de esta edad, su baja especificidad no mejora el diagnóstico, por lo que no son recomendables en niños mayores de 3 años o adultos (168). Se ha visto que pueden encontrarse falsos positivos en menores de dos años, que posteriormente se negativizan sin la realización de una DLG (169)

USAL

A pesar del gran progreso de los marcadores serológicos no disponemos de ningún marcador con una sensibilidad y especificidad del 100%, por esto se requiere la biopsia duodenal como Gold estándar para establecer un correcto diagnóstico.

Tabla 4. Sensibilidad y especificidad de marcadores serológicos de EC.

AC	Sensibilidad (rango)	Especificidad %	VPP %	VPN %	Exactitud diagnóstica
IgA-TG2	96,8	91	91,2	96,8	97,7
IgA-EMA	93,7	100	100	94,4	96,9
IgG-DGP	84,4	98,5	98,2	86,8	91,6

Elaboración propia, adaptado de Caio et al.(164). Abreviaturas: AC, anticuerpos; EC, Enfermedad Celíaca; IgA-TG2, Antitransglutaminasa IgA; IgA-EMA, Antiendomisio IgA; IgA-DGP, Antigliadina IgG; VPN, Valor predictivo negativo; VPP, Valor predictivo positivo.

1.5.1.4 Criterios para la elección de un reactivo comercial y control de calidad

La oferta de test comerciales para determinar los marcadores serológicos de la EC es amplia y variada, tanto por el anticuerpo analizado (EMA, TG2, DGP, Gliadina, mixto TG2/DGP, etc.), por el isótopo de cada anticuerpo (IgA, IgG, polivalente IgA/IgG), como por la tecnología utilizada (IFI, ELISA, Fluoroenzimoinmunoensayo, Quimioluminiscencia, etc.).

La elección de la prueba debe ser coherente con las recomendaciones internacionales y con las publicaciones recientes basadas en evidencia científica. Cada laboratorio debe elegir el test más eficaz en función de su contexto asistencial y con un coste razonable, instaurando protocolos que consigan el diagnostico con garantía con el número correcto de marcadores, evitando razones puramente presupuestarias, pero consiguiendo una adecuada gestión de la demanda.

El laboratorio debe consensuar con los clínicos cualquier mejora en el protocolo serológico en la EC; en este sentido, cualquier cambio en la prueba diagnóstica o la incorporación de un nuevo reactivo debe estar justificado, ya que supone un tiempo de adaptación y en la mayoría de los casos el cambio de valores de referencia (VR).

La concentración de anticuerpos en suero se determina mediante técnicas de inmunoanálisis cuantitativas o cualitativas, manuales o automatizadas, en analizadores generalmente conectados on-line al sistema informático del laboratorio (SIL). Son técnicas de ELISA con lectura final espectrofotométrica y/o a las que se han adaptado sistemas de amplificación de señal para aumentar la sensibilidad: fundamentalmente Fluorescencia (Fluoroenzimoinmunoensayo, ThermoFisher®), utilizada en nuestro área y luminiscencia (quimioluminiscencia Bioflash®) (Figura 20).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5.1.4.1 Criterios para elegir una prueba diagnóstica

Técnicamente, para la elección de una prueba o test diagnóstico es importante conocer:

- La naturaleza del antígeno del inmunoensayo y el tipo de calibración (a 2, 3 o 6 puntos).
- Los VR establecidos por el fabricante (*cut-off*). Se considera recomendable que cada laboratorio en función de su población de referencia establezca un VR que consiga el diagnóstico con el máximo de eficiencia.
- La zona de indeterminación o concentraciones dudosas, si las tiene definidas.
- El límite de linealidad y el de detección, así como las posibles interferencias o limitaciones del test. En este sentido, cuando se obtenga un resultado superior al límite de detección, es recomendable obtener un valor exacto dentro de la curva de calibración utilizando diluciones seriadas.
- La sensibilidad y la especificidad de la prueba respecto a la histología y en población general,
- La imprecisión de la técnica a distintas concentraciones. Coeficiente de variación (CV) % intraserie e interserie, sobre todo, a bajas concentraciones.
- El tipo de presentación del test y la estabilidad de los reactivos, estos deben ser coherentes con la carga asistencial, ya que el laboratorio debe ofrecer un tempo de respuesta razonable con un coste asumible. Si es posible, es mejor elegir una técnica que permita el almacenamiento de la calibración en la memoria del analizador que permite determinar muestras aisladas sin coste adicional.

Figura 20. Equipos utilizados en la determinación de marcadores serológicos específicos de EC en el área sanitaria de Lugo (Hospital Universitario Lucus Augusti). Autorizada la reproducción de las imágenes en esta Tesis Doctoral por ThermoFisher® y Grifols®. Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5.1.4.2 Controles de calidad internos y externos

Para comprobar la fiabilidad de los resultados se dispone de controles de calidad internos y externos.

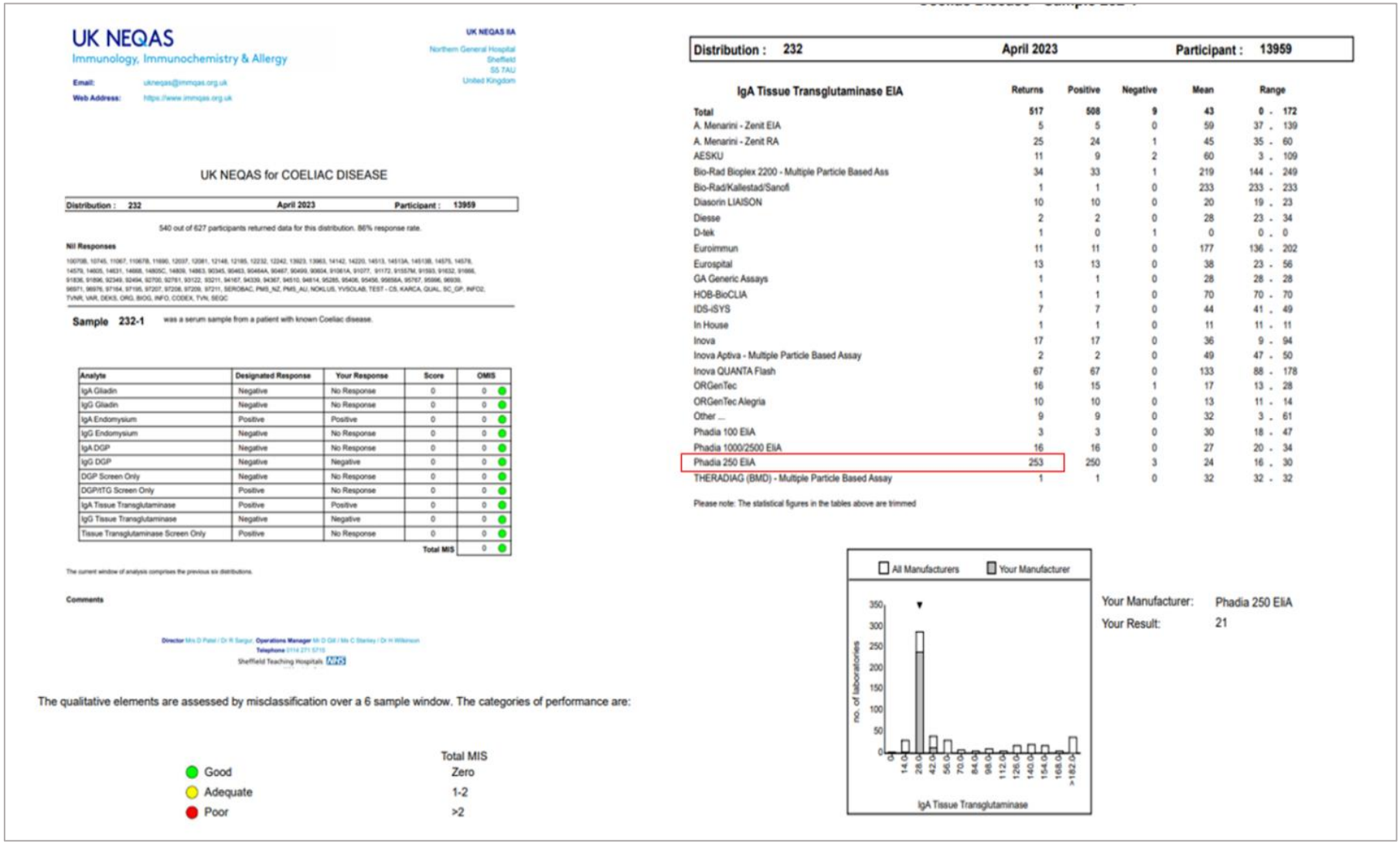
- Los controles de calidad internos deben estar incluidos en la rutina de cada serie analítica y comprenden el análisis de varios rangos para límites de control específicos del método. La curva de calibración almacenada es válida para el número de lote de conjugado específico mientras el control de curva se encuentre dentro de los límites o durante un tiempo máximo de 28 días. Además, se valora el control de curva (CC), determinado por duplicado, para verificar que la curva maestra guardada es válida para el ensayo realizado. Si el control de curva está fuera de los límites especificados (definidos en el software del instrumento) se deberá realizar una nueva calibración.
- Los controles de calidad externos se utilizan para la intercomparación entre laboratorios que utilizan las mismas técnicas. Para ello los laboratorios se inscriben en programas de control externo según sus necesidades. Los programas de control externos disponibles para las pruebas específicas de EC en el HULA son: UK-NEKAS y QUALITY CLUB. Nuestro laboratorio utiliza ambos programas, el primero con periodicidad bimensual y el segundo con periodicidad mensual. Con el control de calidad externo los resultados son comparados con otros laboratorios españoles y europeos que utilicen la misma técnica y son valorados con criterios estrictos dentro de unos márgenes de desviación estándar estrechos. Además, como el laboratorio está acreditado con la norma de la Organización Internacional del Normalización (UNE-EN-ISO15189) y de la Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR), estos controles se auditan cada año no permitiendo que se supere el 15% de coeficiente de variación (CV).

A continuación (Figura 21) se muestra un informe evaluado del control UK-NEKAS para la IgA-TG2. Se puede observar que el fluoroinmunoensayo, realizado con el equipo Phadia 250 (ThermoFisher) es el mas utilizado entre los participantes.

También es muy importante la acreditación de las pipetas utilizadas para las diluciones, que deben seguir una política de trazabilidad metrológica para asegurar la validez de los resultados. En nuestro estudio siguen la trazabilidad de ENAC, y fueron verificadas y calibradas por un laboratorio acreditado por AENOR y ENAC según la norma ISO 17025.

Con la política de calidad se asegura la competencia técnica del personal y los resultados obtenidos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



UK NEQAS
Immunology, Immunochemistry & Allergy

UK NEQAS for COELIAC DISEASE

Distribution : 232 April 2023 Participant : 13959

540 out of 627 participants returned data for this distribution. 86% response rate.

Sample 232-1 was a serum sample from a patient with known Coeliac disease.

Analyte	Designated Response	Your Response	Score	OMIS
IgA Gliadin	Negative	No Response	0	0
IgG Gliadin	Negative	No Response	0	0
IgA Endomysium	Positive	Positive	0	0
IgG Endomysium	Negative	No Response	0	0
IgA DGP	Negative	No Response	0	0
IgG DGP	Negative	Negative	0	0
DGP Screen Only	Negative	No Response	0	0
DGP/tTG Screen Only	Positive	No Response	0	0
IgA Tissue Transglutaminase	Positive	Positive	0	0
IgG Tissue Transglutaminase	Negative	Negative	0	0
Tissue Transglutaminase Screen Only	Positive	No Response	0	0
			Total MIS	0

The qualitative elements are assessed by misclassification over a 6 sample window. The categories of performance are:

	Total MIS
Good	Zero
Adequate	1-2
Poor	>2

Distribution : 232 April 2023 Participant : 13959

IgA Tissue Transglutaminase EIA	Returns	Positive	Negative	Mean	Range
Total	517	508	9	43	0 - 172
A. Menarini - Zenit EIA	5	5	0	59	37 - 139
A. Menarini - Zenit RA	25	24	1	45	35 - 60
AESKU	11	9	2	60	3 - 109
Bio-Rad Bioplex 2200 - Multiple Particle Based Ass	34	33	1	219	144 - 249
Bio-Rad/Kallestad/Sanofi	1	1	0	233	233 - 233
Diasorin LIAISON	10	10	0	20	19 - 23
Diesse	2	2	0	28	23 - 34
D-tek	1	0	1	0	0 - 0
Euroimmun	11	11	0	177	136 - 202
Eurospital	13	13	0	38	23 - 56
GA Generic Assays	1	1	0	28	28 - 28
HOB-BioCLIA	1	1	0	70	70 - 70
IDS-iSYS	7	7	0	44	41 - 49
In House	1	1	0	11	11 - 11
Inova	17	17	0	36	9 - 94
Inova Aptiva - Multiple Particle Based Assay	2	2	0	49	47 - 50
Inova QUANTA Flash	67	67	0	133	88 - 178
ORGenTec	16	15	1	17	13 - 28
ORGenTec Alegria	10	10	0	13	11 - 14
Other ...	9	9	0	32	3 - 61
Phadia 100 EIA	3	3	0	30	18 - 47
Phadia 1000/2500 EIA	16	16	0	27	20 - 34
Phadia 250 EIA	253	250	3	24	16 - 30
THERADIAG (BMD) - Multiple Particle Based Assay	1	1	0	32	32 - 32

Please note: The statistical figures in the tables above are trimmed

All Manufacturers Your Manufacturer

no. of laboratories

IgA Tissue Transglutaminase

Your Manufacturer: Phadia 250 EIA
Your Result: 21

Figura 21. Ejemplo del informe de control externo UK-NEKAS Autorizado el uso de la imagen por la responsable de calidad del Hospital Universitario Lucus Augusti.

1.5.2 Diagnóstico histológico: BD

La realización de biopsias duodenales es parte fundamental del proceso diagnóstico de la EC, siendo imprescindible la recogida, transporte e interpretación correcta de las muestras. La biopsia de confirmación, ante una clínica y serología sugestivas de EC, asegura un diagnóstico correcto de EC antes de iniciar una DLG para toda la vida.

Es importante estandarizar los criterios de biopsia, ya que los cambios histológicos asociados a la EC son parcheados, por lo que se recomienda tomar biopsias duodenales múltiples para realizar el diagnóstico de EC. Las recomendaciones actuales son: cuatro biopsias en la segunda porción duodenal y dos biopsias en el bulbo (170).

Un principio fundamental para la evaluación correcta es la orientación de las muestras de biopsia con filtros Millipore de acetato de celulosa. Si las biopsias se realizan con cápsula es necesario disponer de un estudio de coagulación previo, ya que algunos pacientes pueden tener un déficit de protrombina secundario a la malabsorción de vitamina K.

En cualquier caso, la biopsia para el diagnóstico histológico de la EC debe de realizarse mientras el paciente sigue una dieta con gluten, si el paciente ha iniciado una DLG, debe reintroducirse el gluten antes de realizar la biopsia intestinal (124). El resultado del estudio anatomopatológico permite confirmar la existencia de lesiones compatibles y establecer el estadio de la lesión.

1.5.2.1 Clasificación de Marsh-Oberhuer

Actualmente en todos los centros de referencia para el diagnóstico de EC se utiliza la clasificación de Marsh modificada por Oberhuber (171). Según ella los diferentes tipos de lesiones de la mucosa intestinal relacionadas con la EC pueden clasificarse en 5 estadios (Figura 22):

- Marsh 0: Lesión pre infiltrativa. Histológicamente no se diferencia de una mucosa normal, si bien presenta altos títulos de anticuerpos antigliadina clases IgA e IgG en las secreciones intestinales (lesión propia de pacientes con dermatitis herpetiforme).
- March 1: Infiltrativa: Epitelio velloso normal >30 LIE por 100 enterocitos aumento de linfocitos intraepiteliales (LIE) con arquitectura vellositaria conservada. En el estudio inmunofenotípico de los LIE de los pacientes con EC se describe un patrón característico con aumento de la subpoblación CD3γδ y disminución de células NK-like mediante citometría de flujo que luego se estudiará en el apartado 1.5.3.1.
- Marsh 2: Hiperplásica: Criptas agrandadas y afluencia de células inflamatorias
- Marsh 3**:** atrofia vellositaria con hiperplasia críptica. Existe una subdivisión, establecida por Oberhuber, en función del grado de atrofia vellositaria:
    - Marsh 3a: Atrofia parcial de vellosidades: vellosidades acortadas, infiltración LIE y criptas hiperplásicas.
    - Marsh 3b: Atrofia subtotal de vellosidades: Vellosidad atrófica reconocible, células inflamatorias y criptas ampliadas.
    - Marsh 3c: Atrofia total de vellosidades, lesión atrófica grave, hiperplásica e infiltrativa.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

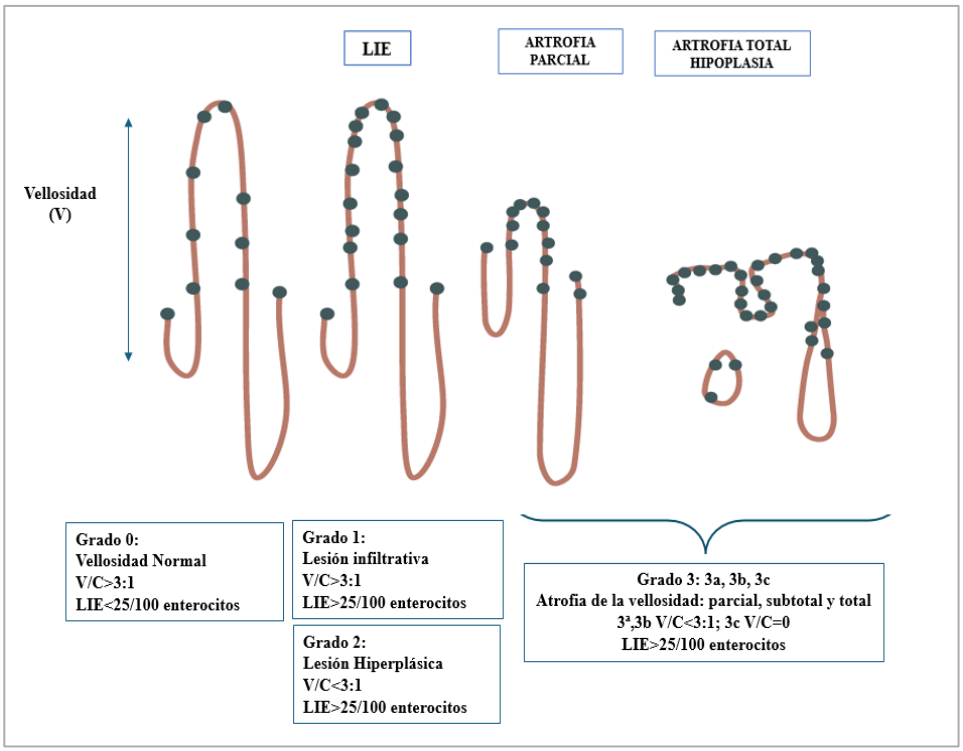


Figura 22 Clasificación de Marsh modificada por OberHuber 1999. Elaboración propia, adaptado de Ludvigson et al (163).

Aunque la clasificación de Marsh-Oberhuber es la más utilizada y generalizada a nivel mundial existen otras clasificaciones como la de Corazza (164) cuyas características diferenciales se resumen en la Tabla 5.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 5. Clasificaciones de grado atrofia vellositaria.

Marsh	Marsh modificada (Oberhuber)	Corazza	Aumento de LIE*	Hiperplasia de criptas	Atrofia vellositaria Si/no	Atrofia vellositaria Grado
Tipo 0	Tipo 0	Grado A	NO	NO	NO	
Tipo 1	Tipo 1		Si	NO	NO	
Tipo 2	Tipo 2		Si	Si	NO	
Tipo 3	Tipo 3a	Grado B1 Relación V/C <3.1	Si	Si	Si	Parcial
	Tipo 3b		Si	Si	Si	Subtotal
	Tipo 3c	Grado B2 Si vellosidad detectable	Si	Si	Si	Total

*** >40 linfocitos intraepiteliales por cada 100 células epiteliales en la clasificación de Marsh y >25 linfocitos intraepiteliales por cada 100 células epiteliales en la clasificación De Corazza. Elaboración propia, adaptada de Rubio-Tapia et al (173). Abreviaturas: LIE, linfocitos intraepiteliales; V/C, cociente vellosidad cripta.**

Aunque las lesiones Marsh 1, 2, 3 se consideran compatibles con el diagnóstico, ningún tipo de lesión histológica descrito para la EC patognomónico de EC por ello existe el riesgo de diagnosticar erróneamente a un paciente si no se realiza diagnóstico diferencial correcto. Este riesgo es especialmente elevado en pacientes con lesiones clasificadas como tipo Marsh 1 que, si bien pueden observarse en algunos pacientes celíacos, también pueden corresponder a algunas de las siguientes patologías: infección por Helicobacter pylori, consumo frecuente de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), estados de sobrecrecimiento bacteriano intestinal (SBI), gastroenteritis por virus, infestación por Giardia Lamblia o enfermedad de Crohn.

En el apartado 1.5.2.2 se muestran (Tabla 6) las enfermedades que deben considerarse en el diagnóstico diferencial según el grado de biopsia.

Sin embargo, en pacientes sintomáticos con lesión tipo Marsh 1, en los que se demuestre depósitos subepiteliales de TG2 o presencia de un linfograma intraepitelial con un patrón inmunofenotípico característico en la citometría de flujo (ver apartado 1.5.3), hay que mantener un alto índice de sospecha de EC. La respuesta clínica y serológica tras la supresión del gluten de la dieta, permitirá confirmar el diagnóstico.

De acuerdo con las recomendaciones establecidas por la ESPGHAN las biopsias intestinales únicamente pueden omitirse en niños y adolescentes que cumplan estrictamente los criterios expuestos en la guía 2020. En adultos la biopsia sigue siendo imprescindible, puesto que las formas de presentación clínica son en la mayoría de los casos extradigestivas. Por otro lado, las alteraciones histológicas en el bulbo son frecuentes en otras condiciones (duodenitis péptica crónica, heteropía gástrica, hiperplasia de glándulas de Brunner) que pueden ser causa de error para el patólogo no experimentado.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5.2.2 Diagnóstico diferencial de la enfermedad celiaca según el grado de biopsia

En la Tabla 6 se indica el diagnóstico diferencial de la EC según el resultado de la biopsia. Además, la biopsia se utiliza como seguimiento contribuyendo a esclarecer el diagnóstico en pacientes seronegativos que responden bien a la retirada del gluten y proporciona una referencia basal cuando no se produce una buena respuesta a la dieta (174). La biopsia también es necesaria ante una fuerte sospecha clínica para diagnosticar la ECSN y en el diagnóstico de la SGNC (que requiere descartar con seguridad la EC).

Tabla 6. Enfermedades a considerar en el diagnóstico diferencial de la EC según resultado de la biopsia.

Resultados de la biopsia	Entidades diagnósticas
Biopsia duodenal normal (Marsh 0)	Insuficiencia pancreática Intolerancia a disacáridos Sobrecrecimiento bacteriano Patología funcional Colitis microscópica Malabsorción de ácidos biliares Anemia ferropénica por pérdidas
Enteritis linfocítica (Marsh 1-2)	Infección por *Helicobacter Pylori* Lesión por AINES Parasitosis por Giardia Lamblia Enfermedad de Wipple Enfermedad de Crohn Enteropatía por SIDA Sobrecrecimiento bacteriano Enteritis eosinofílica Linfoma intestinal Hipo o agammaglobulinemia Amiloidosis Linfagiectasia intestinal Enteritis por radiación Hipertiroidismo Gastroenteritis infecciosa
Atrofia Vellositaria (Marsh 3)	Esprúe tropical Enteropatía autoinmune Linfoma intestinal Parasitosis por Giardia Lamblia Déficit de IgA Intolerancias alimentarias en niños. Enfermedad de injerto contra huésped Isquemia crónica del intestino delgado

Elaboración propia, adaptada del Protocolo para el diagnóstico precoz de la EC (119). Abreviaturas, EC, Enfermedad Celíaca.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5.3 Otras herramientas diagnósticas

En los siguientes apartados se recogen diferentes herramientas diagnósticas.

1.5.3.1 Inmunofenotipo de linfocitos intraepiteliales

Los pacientes con EC tienen un patrón específico de infiltrado linfocitario en el epitelio de superficie de la mucosa duodenal. La citometría de flujo es una herramienta complementaria para el diagnóstico de la EC, que permite la cuantificación y caracterización de LIE.

El estudio de LIE por citometría de flujo tras la toma de biopsias de duodeno es una técnica que se incorpora para el diagnóstico de la enfermedad celíaca en casos dudosos tras la publicación de nuevo Protocolo para el Diagnóstico Precoz de la EC del Ministerio de Sanidad y que complementa el estudio anatomopatológico clásico aumentando su especificidad (175).

Consiste en estudiar dos subpoblaciones de linfocitos intraepiteliales:

- Los linfocitos gamma-delta (LIE TCRγδ) los cuales están aumentados.
- Los linfocitos CD3-negativo (LIE NK-like) que disminuyen hasta casi desaparecer.

Estas subpoblaciones se estudian dentro del cómputo total de LIE, que aumentan en su conjunto durante la fase activa de la enfermedad (mientras se consume gluten). Si estudiamos estos parámetros combinados, la técnica tiene una excelente sensibilidad y especificidad pudiendo alcanzar una sensibilidad del 96% (si nos fijamos sólo en el aumento de los primeros) y una especificidad del 97% si tenemos en cuenta ambos (176). Sin embargo, es necesario establecer puntos de corte fiables para determinar la significancia del aumento o disminución de las subpoblaciones mencionadas.

Un estudio realizado en el hospital de Badajoz por Melero Ruiz et al (177) establecieron valores de corte en la población infantil y adulta para los tres parámetros analizados de los LIE: LIE totales, LIE TCRγδ y LIE NK-like. Basándose en curvas ROC, se establecen los siguientes puntos de corte:

- Población infantil: %LIE > 14,2%; %LIE TCRγδ > 16,5% y %LIE NK-like < 10,1%.
- Población adulta; %LIE > 14,2%, %LIE TCRγδ > 16,1% y %LIE NK-like < 4,4%.
- En ambas poblaciones se obtienen una especificidad y valor predictivo positivo (VPP) cercano o igual al 100% y podrían reducir las bajas tasas de diagnóstico de EC y el retraso diagnóstico común.

También se considera un linfograma sanguíneo basado en el análisis de células T CD8 + activadas que se dirigen al intestino combinado con una prueba de provocación rápida con ingesta de gluten durante 3 días, ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad para diagnosticar EC de grado Marsh 1 y Marsh 3 seropositivas en individuos después de una DLG.

Además, la citometría de flujo puede ser de gran utilidad en casos de EC tipo II refractaria para identificar células aberrantes. Esos enfoques representan métodos altamente precisos para el diagnóstico de EC, siendo simples, rápidos, altamente reproducibles y de fácil implementación en la práctica clínica(178). El Hospital Clínico San Carlos de Madrid utiliza como límite el 10% para ambos parámetros, de forma que consideran positiva una biopsia que muestre más de un 10% de linfocitos TCRγδ y menos de un 10% de linfocitos CD3-negativo.

En la Figura 23 se resumen los cambios característicos de LIE y las aplicaciones clínicas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

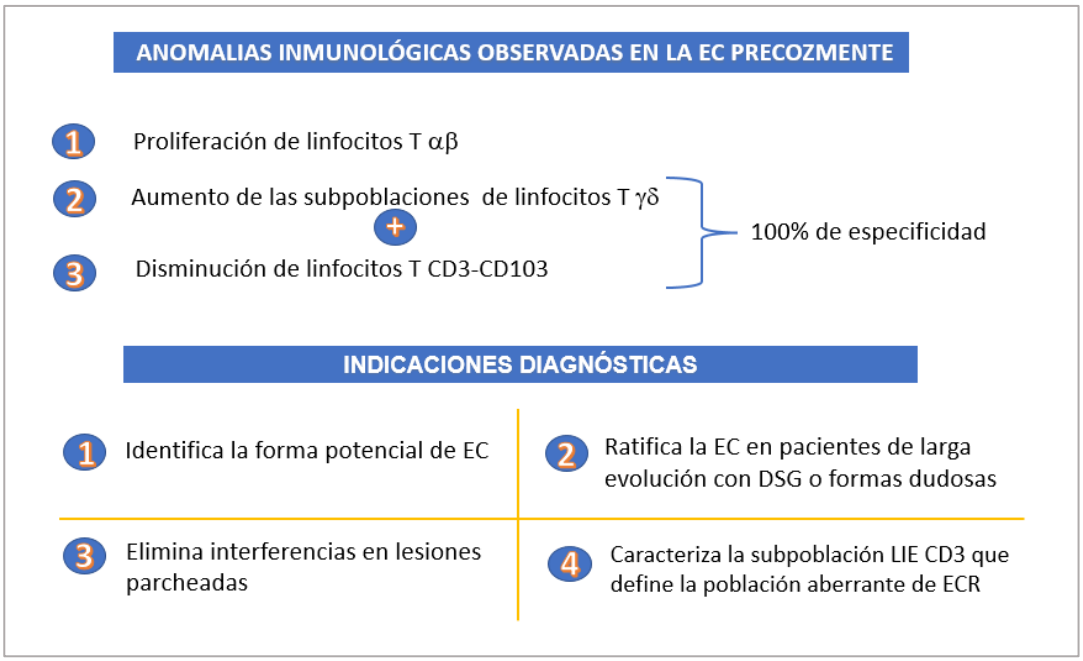


Figura 23. Anomalías inmunológicas específicas detectadas en los LIE por citometría de flujo en EC. Indicaciones diagnósticas. Elaboración propia. Abreviaturas: DLG, Dieta libre de gluten; EC. Enfermedad Celíaca; LIE, linfocitos intraepiteliales.

1.5.3.2 Depósito subepiteliales de IgA-TG2

Los depósitos subepiteliales de IgA-TG2 se detectan alrededor de los vasos en la lámina propia en pacientes con EC no tratada. La sensibilidad de esta prueba es del 100% y su especificidad del 82%. la detección de estos puede ser útil para el diagnóstico de la EC potencial y la ECSN ya que pueden detectarse tanto en pacientes con serología positiva y sin atrofia de vellosidades (EC potencial), incluso en pacientes con serología negativa y lesiones tipo Marsh 1 a 3 (ECSN) (179).

1.5.3.3 Test del interferón gamma (INF-γ) ELISPOT y test de tetrámeros HLA DQ2.5-gliadina

La ventaja de estas dos técnicas es que permiten diagnosticar EC en pacientes que ya han iniciado una DLG, tras una provocación con gluten durante 3 días. El IFN-γ ELISPOT posee una sensibilidad del 85% y una especificidad del 100% para detectar EC en estos casos. Se extrae la sangre de forma basal para citocinas y después de 6 días de la provocación con gluten (180). El test de tetrámeros permite detectar células T DQ2.5 positivo epítopo-específicas en sangre periférica, tres días después de la provocación con gluten. Se ha descrito una sensibilidad del 85% y una especificidad del 100% para diagnosticar la EC con HLA DQ2.5 positivo (181)

Todos estos test son prometedores, pero deben de ser corroborados por más investigaciones antes de ser aplicados de forma rutinaria en la práctica clínica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5.3.4 Situaciones de difícil diagnóstico

El diagnóstico preciso de la EC sigue siendo un desafío para algunos pacientes o circunstancias específicas, son fundamentalmente tres: la enteropatía seronegativa, EC de bajo grado histológico y, las personas que siguen una DLG previamente al diagnóstico.

Para estos casos el linfograma celíaco anteriormente expuesto ha demostrado que puede ser discriminativo especialmente en: EC seronegativa, EC potencial, Personas que siguen dieta sin gluten previo al diagnóstico.

Por último, mencionar 2 pruebas que han demostrado utilidad en situaciones de difícil diagnóstico:

- La primera de ellas es una prueba radiológica: la entero-resonancia magnética, eficaz para diferenciar los dos tipos de enfermedad celiaca refractaria (ECR tipo 1 y ECR tipo 2) y que ha mostrado una precisión diagnóstica del 95% en la detección de neoplasias de intestino delgado y en el diagnóstico de la EC complicada (182).
- La segunda es la cápsula endoscópica cuyo valor en el diagnóstico de la EC se circunscribe a los pacientes que rechazan la endoscopia alta con toma de biopsias intestinales, sobre todo si tienen una serología positiva (173). También debería ser considerada en la evaluación de pacientes con EC complicada (salvo en casos de sospecha de estenosis). En este sentido, la *European Society of Endoscopic Gastroenterology* (ESGE) recomienda la evaluación inicial con cápsula endoscópica seguida de enteroscopia por doble-balón cuando existe sospecha de EC complicada (183)

1.6 GUÍAS CLÍNICAS Y ALGORITMOS DIAGNÓSTICOS

La BD, considerada el "Gold estándar" en el diagnóstico ha sido recientemente cuestionada.

Generalmente los criterios que se siguen para el diagnóstico son los establecidos por la ESPGHAN. Estos criterios han ido evolucionando, desde 1969, desde la obligatoriedad de la realización de varias biopsias intestinales para el diagnóstico, a considerar la enteropatía como un elemento más en este diagnóstico y posibilitar que, en determinadas circunstancias, el diagnóstico se pueda realizar sin necesidad de BD. Esta evolución se ha debido al desarrollo de pruebas serológicas de alta sensibilidad y especificidad.

La revisión actualizada en 2020 de los criterios 2012 aporta nueva evidencia sobre algunos aspectos, como el papel del HLA, el diagnóstico de los pacientes asintomáticos y la eficacia de los marcadores serológicos. Esto ha llevado a la aplicación de los nuevos criterios 2020 de una forma racional en todos los niveles asistenciales. En este nuevo marco de actuación, el pediatra de AP es fundamental para la búsqueda activa de casos y realizar un primer estudio serológico, recomendándose que el diagnóstico sea siempre establecido por un pediatra gastroenterólogo.

En la Figura 24 se resume la evolución de los criterios en las de estas guías a lo largo del tiempo. Puede observarse como el diagnóstico se ha simplificado en función de la instauración y generalización en la utilización de marcadores serológicos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

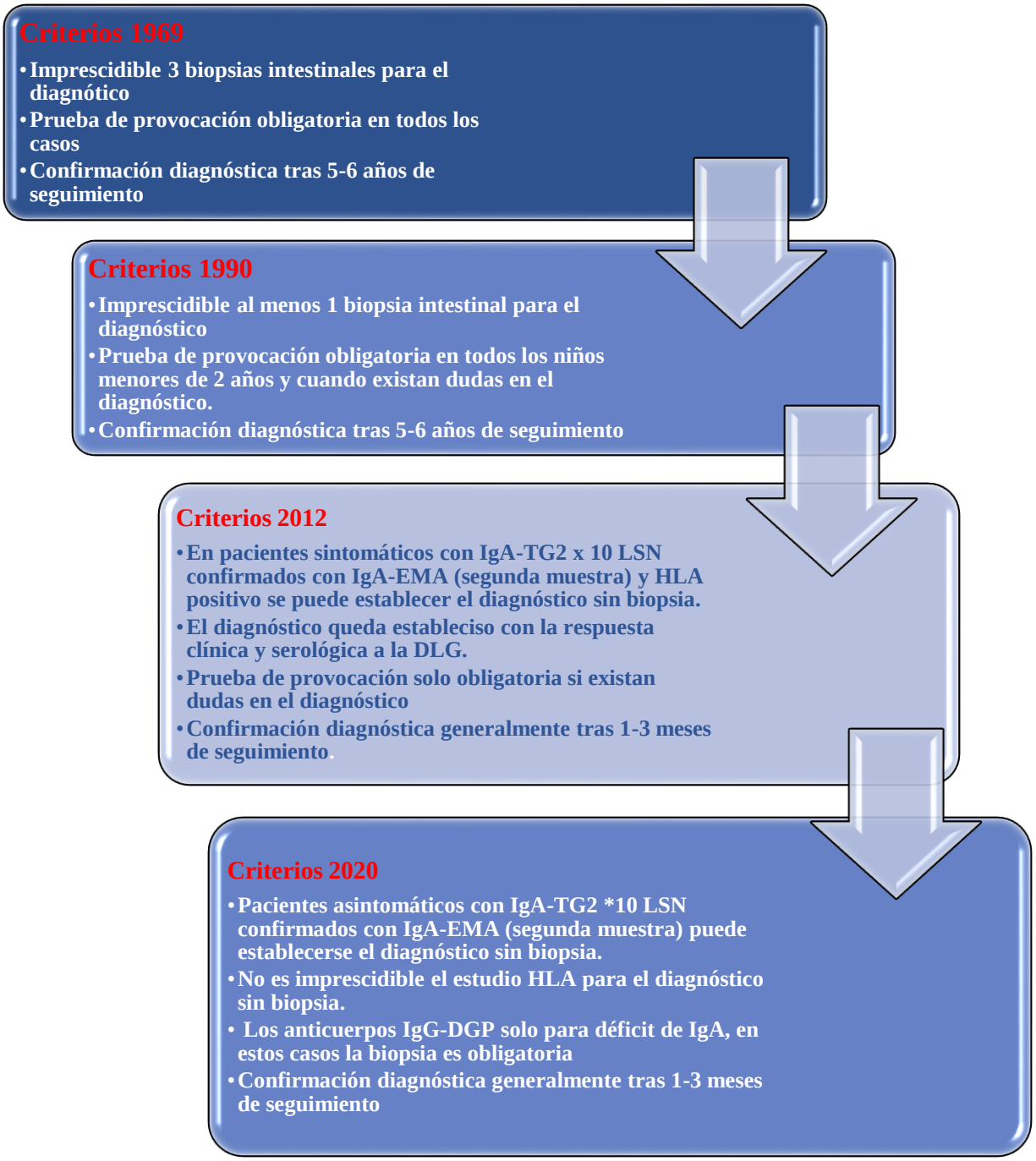


Figura 24. Evolución de los criterios ESPGHAN para el diagnóstico de la EC en niños. Elaboración propia. Fuente, Riechmann et al.(184). Abreviaturas: DLG, Dieta libre de gluten; ESPGHAN, *European Society for Paediatric Gastroenteroly, Hepatology and Nutrition*; IgA-TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa tisular IgA; IgA-EMA, Anticuerpos antiendomisio; LSN, Límite superior de normalidad.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.6.1 Guías de la ESPGHAN

1.6.1.1 Guía ESPGHAN 2012 (185)

En primer término esta guía recomienda ofrecer la prueba de EC a niños y adolescentes con los siguientes signos y síntomas inexplicables: dolor abdominal crónico, calambres o hinchazón, diarrea crónica o intermitente, falta de crecimiento, anemia por deficiencia de hierro, náuseas o vómitos, estreñimiento crónico que no responden al tratamiento habitual, pérdida de peso, fatiga crónica, baja estatura, retraso de la pubertad, amenorrea, estomatitis aftosa recurrente (úlceras bucales), dermatitis herpetiforme (cualquier tipo de erupción), fracturas repetitivas / osteopenia / osteoporosis, y una bioquímica hepática anormal sin explicación.

La ESPGHAN expone que pacientes pediátricos (niños y adolescentes) que cumplan estrictamente estas condiciones pueden evitar la biopsia duodenal:

- Signos/síntomas sugestivos de la enfermedad.
- Presencia de títulos de IgA-TG2 con valores de superiores a x10 límite superior de la normalidad (LSN), confirmado con IgA-EMA en una segunda extracción
- Presencia de HLA DQ2 (DQ2.5 y/o DQ2.2) y/o DQ8.

Todos los casos con valores de IgA-TG2 bajos o medios requieren estudio histológico.

La autora de esta Tesis Doctoral adaptó estos criterios en enero del 2012 y comenzó a hacer un registro clínico prospectivo de carácter asistencial y autorizado por la gerencia del HULA. En este algoritmo se fundamentan los objetivos formulados en esta Tesis Doctoral. Para ello esta autora implementó en el laboratorio de Bioquímica Especial del HULA la determinación de IgA-EMA, que se enviaba a un laboratorio externo (Referens®, Barcelona). Se estableció un algoritmo estandarizado basado en las guías, adaptado a nuestra metodología y a nuestra población infantil y consensuada con la unidad de gastroenterología pediátrica. Se incluyó el perfil de estudio en el petitorio electrónico y se oferto a todos los médicos peticionarios, tanto de AP como hospitalaria.

El primer niño diagnosticado sin biopsia, cumpliendo estrictamente la guía ESPGHAN 2012 fue en 12/1/2012 y, en los 18 meses desde la instauración del protocolo 29 niños se habían diagnosticado sin biopsia con los beneficios tanto técnicos y sociales como económicos. En niños, hacer una biopsia requiere hospitalización, sedación que supone un gran gasto económico para la Sanidad Pública e implica a los familiares tienen que pedir permiso en el trabajo y les supone gran ansiedad (186).

En los apartados restantes de esta Tesis Doctoral se recoge la información relativa uno de los estudios incluidos en esta Tesis Doctoral. Se presentó un estudio con resultados preliminares en el Congreso Nacional de Enfermedad Celiaca (SEEC) mediante comunicación oral (SEEC Barcelona 2018) (187) y posteriormente se realizó la publicación “Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population” en abril de 2022 (Anexo 10.1).

Con la aplicación de estas guías el diagnóstico se efectúa en un menor tiempo y el ahorro de recursos ha sido notable.

Aunque existen estudios multicéntricos que demuestran la exactitud de la identificación de los niños, basándose en criterios ESPGHAN(188), estos criterios no se aplican en todo el mundo. Por ejemplo, en USA no están recomendados debido a la escasa reproductibilidad de los inmunoensayos para la IgA-TG2 (189).

En relación con adultos en un reciente estudio (190) muestra que le utilización de los mismos criterios en adultos establece una buena exactitud en las probabilidades pre-test para pacientes adultos con EC. A pesar de ello la biopsia es obligatoria en el diagnóstico de adultos con sospecha de EC.

1.6.1.2 Guías ESPGHAN 2020

La ESPGHAN en el año 2020 desarrolló una nueva guía clínica actualizada basada en la evidencia para el diagnóstico de la EC tras la revisión de los criterios 2012.Estas guías se realizaron en base a la formulación de 10 preguntas clínicas focalizadas según el formato PICO: Población, Indicador, Comparador y Resultado y que reflejan la guía *The National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) del año 2016 (191). Para cada pregunta, se realizó una búsqueda bibliográfica y los estudios se incluyeron en base a la evidencia, los resultados de los estudios meta-analizados se resumieron y calificaron por la certeza de la evidencia; las implicaciones para la práctica clínica fueron discutidas y las recomendaciones formuladas y calificadas por su fuerza.

A continuación, en la Figura 25 se resumen las 10 preguntas formuladas en esta guía y las recomendaciones de los expertos.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

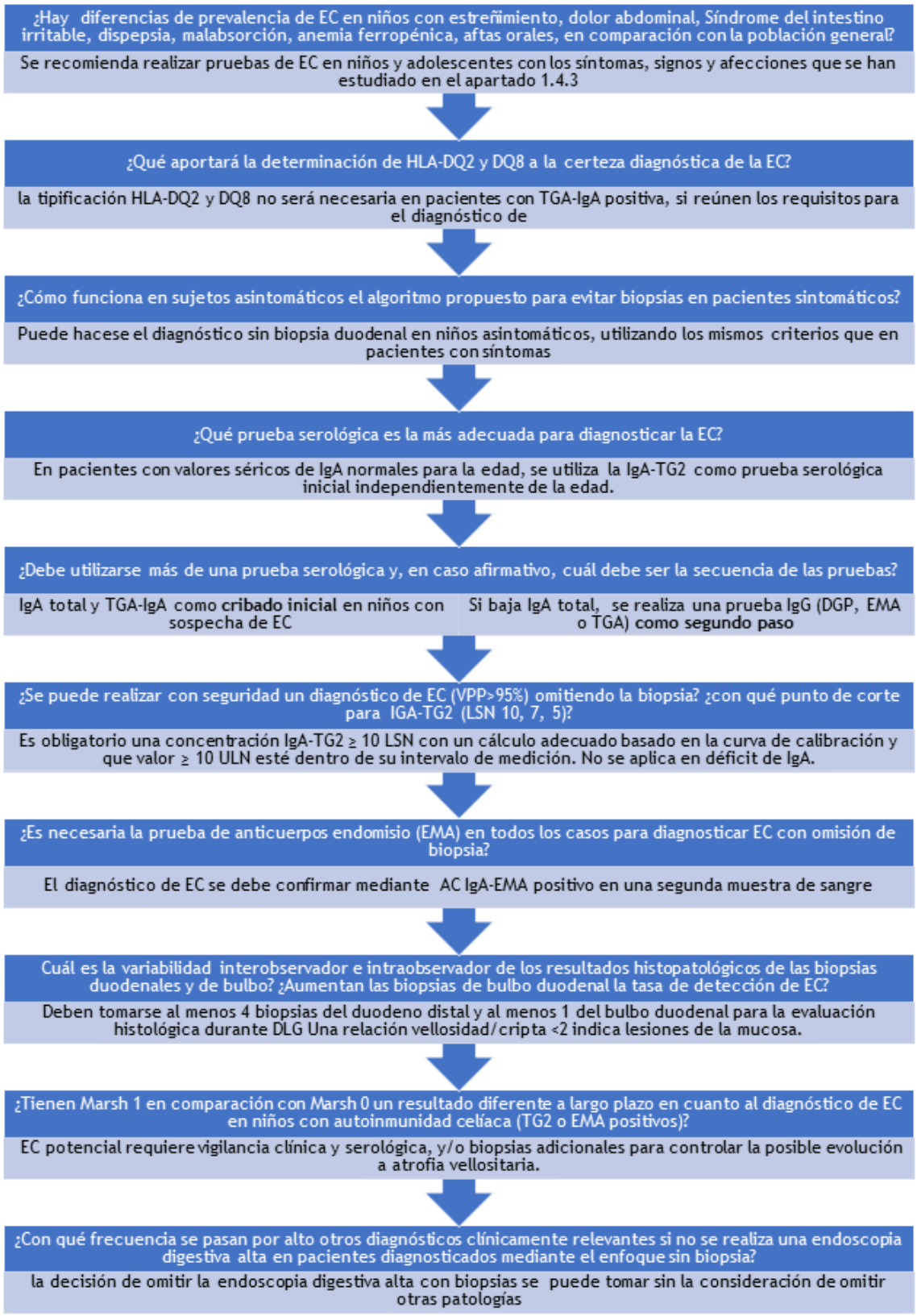


Figura 25. Preguntas formuladas y recomendaciones de la guía ESPGHAN 2020. Elaboración propia. Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*; IgA-EMA anticuerpos antiendomisio IgA, IgA-TG2 Anticuerpos antitransglutaminasa IgA; LSN, Límite superior de normalidad.

USC DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Resumiendo, las principales recomendaciones de las guías ESPGHAN 2020, que se utilizaron en esta Tesis Doctoral a partir de su publicación son:

1. Los IgA-TG2 deben determinarse en primer lugar para estudio de la EC siempre junto con la cuantificación de IgA sérica. Si existe déficit de IgA, en un segundo paso hay que estudiar los anticuerpos isotipo IgG, de elección IgG-DGP.
2. El valor de los anticuerpos IgA-TG2 para establecer el diagnóstico de EC sin BD continúa siendo x10LSN y, se requiere la confirmación con IgA-EMA positivo en una segunda determinación.
3. En cuanto a la presencia de síntomas (criterio obligatorio en las guías 2012) se plantea la posibilidad de realizar el diagnóstico de EC en pacientes asintomáticos sin necesidad de realizar una BI, siguiendo los mismos pasos que en los casos sintomáticos. Sin embargo, considerando que el valor predictivo positivo de los niveles altos de IgA-TG2 es menor, la decisión de no realizar la BI debe ser evaluada de forma individualizada y consensuada con los padres y/o el paciente, si tiene la edad adecuada.
4. En los pacientes con DM1 asintomáticos, las guías no consideran la posibilidad de diagnóstico de EC sin BD, puesto que la evidencia científica para este grupo de pacientes no es suficiente.
5. Igualmente, en los casos de déficit de IgA, se mantiene la obligación del diagnóstico con BD debido a la falta de datos sobre el valor predictivo de lesión intestinal de los anticuerpos IgG.

No se considera obligatorio el estudio de HLA en aquellos pacientes en los que hay que realizar biopsia o los IgA-TG2 son más de 10 veces el LSN. Las pruebas genéticas estarían indicadas solamente para el cribado de población de riesgo y, en casos dudosos.

A continuación, se muestran los algoritmos recomendados en 2020 considerando las posibles situaciones (Figuras 26-29).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

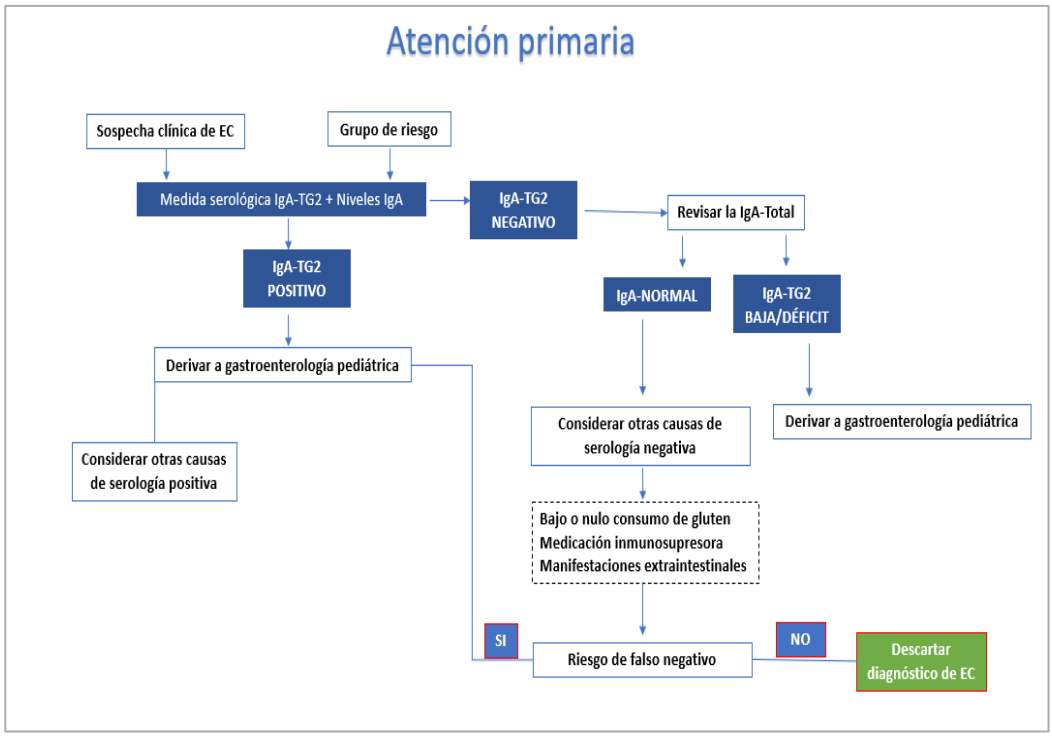


Figura 26. Algoritmo de actuación en AP. Elaboración propia, adaptado de Guías ESPGHAN 2020 (170). Abreviaturas: IgA-TG2 anticuerpos antitransglutaminasa IgA; IgA-EMA anticuerpos antiendomisio IgA; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*.

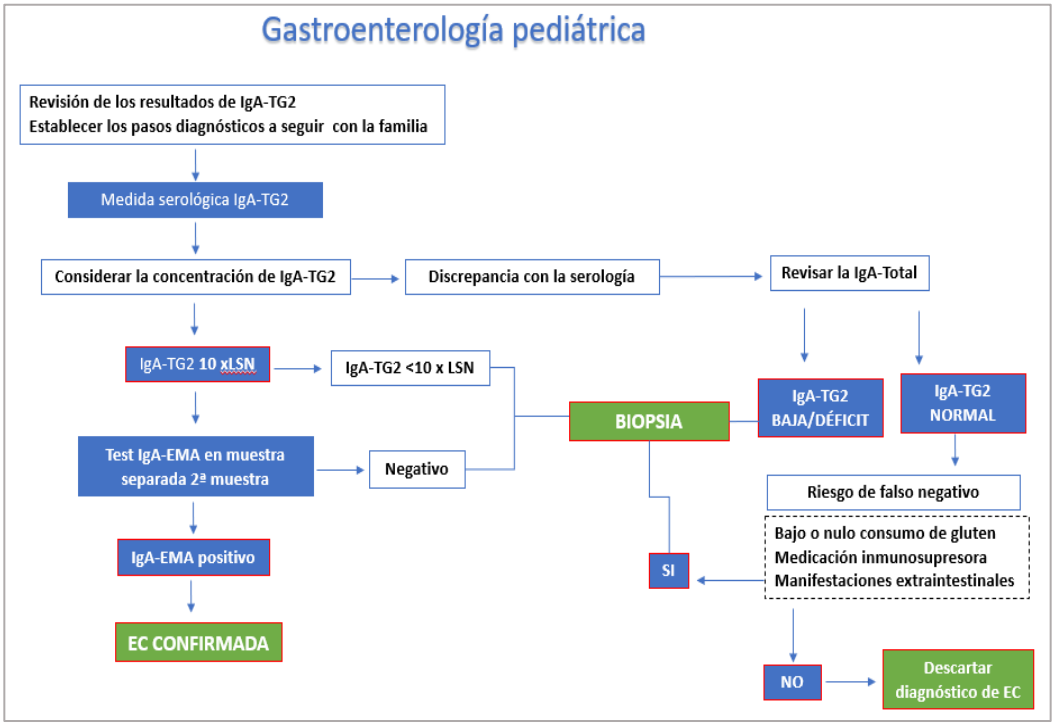


Figura 27. Algoritmo de actuación en atención hospitalaria: gastroenterología pediátrica. Elaboración propia, adaptado de Guías ESPGHAN 2020 adaptado de Husby et al.(170).Abreviaturas: ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology* IgA-EMA anticuerpos antiendomisio; IgA-TG2, anticuerpos Anticuerpos antitransglutaminasa IgA; LSN, Límite superior de normalidad.

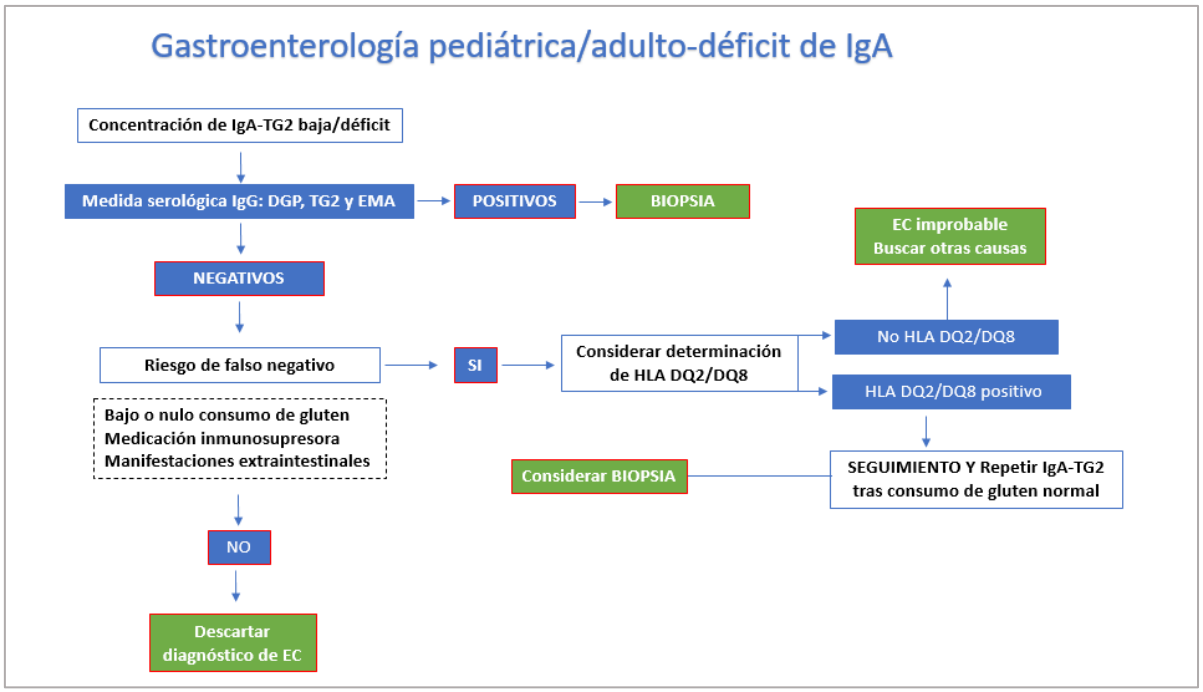


Figura 28. Algoritmo de actuación en déficit de IgA. Elaboración propia, adaptado de Guías ESPGHAN 2020 (170).Abreviaturas: DGP, péptidos desaminados de la gliadina; EMA anticuerpos antiendomisio; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*; TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa.

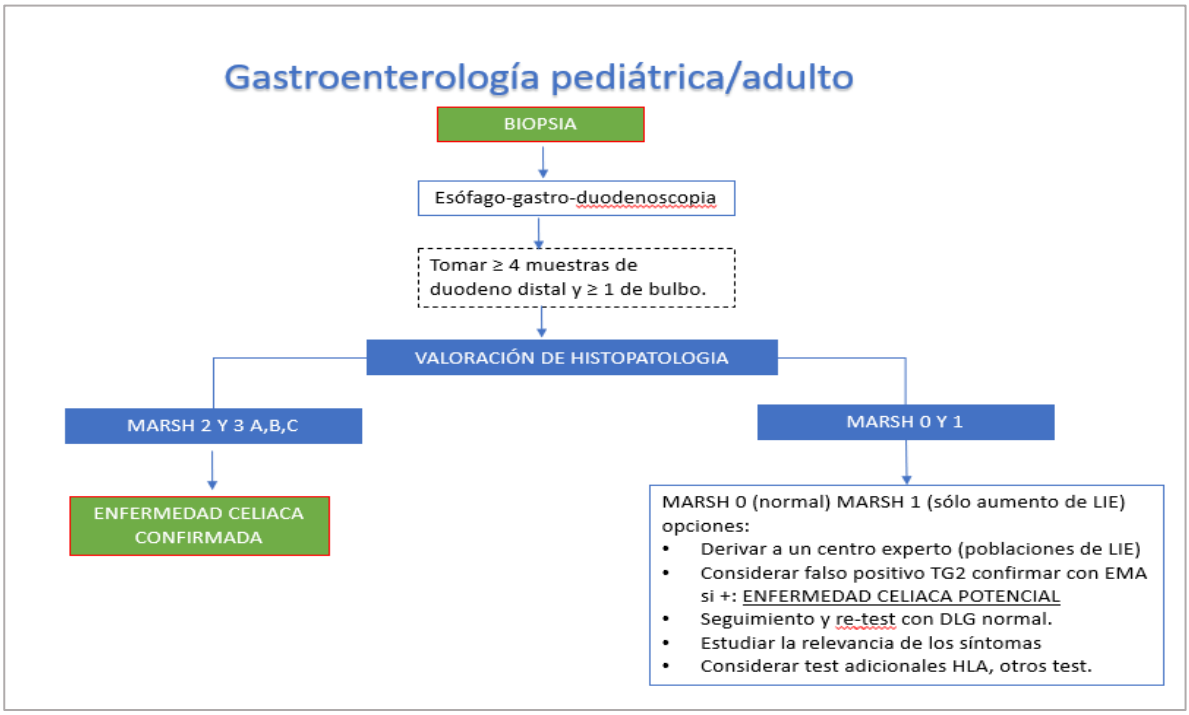


Figura 29. Protocolo de actuación según los resultados histológicos. Elaboración propia. Adaptado de Husby et al.(170). Abreviaturas: DGP, péptidos desaminados de la gliadina; TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa, EMA anticuerpos antiendomisio

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Las guías basadas principalmente en la población adulta presentadas por el *American College of Gastroenterology* (ACG) y la *British Society of Gastroenterology* (BSG) difieren en que la biopsia duodenal está recomendada para confirmar el diagnóstico en todos los casos (173) (163).

En la Tabla 7 se exponen otras guías utilizadas en el mundo con sus peculiaridades.

Tabla 7. Guías clínicas para el diagnóstico de la EC.

Guía Clínica	Población diseño	Biopsia Duodenal	Test recomendados para el diagnóstico	Comentarios
ESPGHAN	Niños	No obligatoria	IgA-TG2/IgA-EMA/HLA	Permite el diagnóstico sin biopsia bajo criterios estrictos.
OMS	Adultos	No obligatoria	IgA-TG2/IgA-EMA/IgG-DGP	Usa una cascada diagnóstica basada en recursos locales disponibles. Permite el diagnóstico sin biopsia en determinadas condiciones.
ACG	Niños y adultos	Obligatoria	IgA-TG2/IgG-DGP	Recomienda /IgG-DGP en menores de dos años
BSG	Adultos	Obligatoria	IgA-TG2/IgA-EMA/IgG-DGP	Sostiene que ningún test serológico puede reemplazar a la biopsia.

Elaboración propia, adaptada de Kelly et al.(111). Abreviaturas: AGA, Colegio Americano de Gastroenterología, BSG, Guías de la Sociedad Británica de Gastroenterología; TG2, anticuerpos antitransglutaminasa; DGP, péptidos desaminados de la gliadina; EC, Enfermedad Celíaca; EMA anticuerpos antiendomisio; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*; OMS, Organización Mundial de la Salud; TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa.

1.6.2 Algoritmos en AP y especializada (Protocolo del Ministerio de Sanidad Español)

En el 2018 el Ministerio de Sanidad Español publicó un nuevo protocolo que aúna a la población pediátrica y adulta y recoge protocolos específicos para AP y especializada.

1.6.2.1 Secuencia de actuación diagnóstica en AP

Todo empieza en la AP y, sin médico de primaria, no existe diagnóstico. En el ámbito de la AP, la historia clínica y la exploración física son la piedra angular para orientar el diagnóstico. El médico de AP debe conocer los distintos patrones de presentación de la enfermedad y la pertenencia a los distintos grupos de riesgo. La EC recibe en ocasiones el adjetivo de camaleónica y el médico de AP debe saber interpretar los signos. El índice de sospecha clínica sigue siendo bajo especialmente en adultos y ancianos y, por esto, diagnóstico clínico de la EC en estas edades es un gran desafío para en AP. Esto puede ser debido a que manifestaciones atípicas son clasificadas como problemas trastornos del estado de ánimo (ansiedad, depresión), a la distracción hacia procesos más amenazantes en edades avanzadas como tumores malignos y la existencia de síntomas clínicos sutiles. Por ejemplo, los cambios leves en los hábitos intestinales pueden ser atribuidos a cambios funcionales intestinales debidos a SII. Además, síntomas como la anemia en un paciente celíaco anciano puede llevar a una evaluación exhaustiva para descartar un cáncer de colon antes de que se considere la EC (90) (192).

Los algoritmos propuestos en el protocolo del Ministerio Español para AP son equiparables a las guías pediátricas de la ESPGHAN, aunque con ciertas especificaciones como la necesidad de realizar biopsia en adultos, incluso en los casos de alta sospecha, aunque no presenten anticuerpos positivos en la sangre. Por ello vamos a resumir en pocas secuencias como se deben aplicar los protocolos en el ámbito de AP y cuando derivar a la atención especializada. La secuencia de actuación propuesta por el Ministerio los supuestos clínicos son los siguientes (Figura 30):

- Nunca retirar el gluten de forma empírica de la dieta, antes de haber sido sometido a una evaluación médica.
- En las siguientes situaciones, los anticuerpos IgA-TG2 utilizados como única técnica, pueden dar resultados falsos negativos:
    - Pacientes con déficit selectivo de IgA.
    - Niños por debajo de los dos años.
    - Niños y adultos con lesión histológica inicial sin atrofia (Marsh 1 y2).
    - Escaso consumo de gluten.

En estos casos la determinación de la IgG-DGP es relevante y su determinación aumenta la eficiencia diagnóstica.

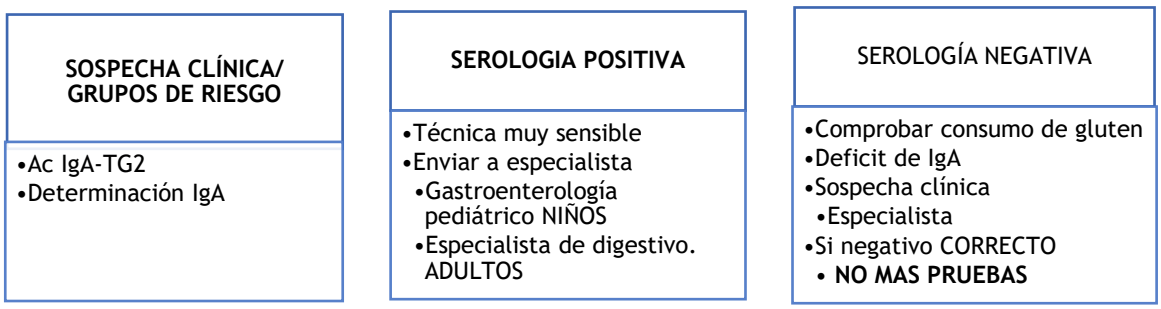


Figura 30. Supuestos clínicos en AP. Elaboración propia. Fuente, (124). Abreviaturas: Ac IgA-TG2 anticuerpos antitransglutaminasa 2; AP, Atención Primaria.

Se realiza un test de cribado inicial para niños y adultos, que en todos los casos consiste en la determinación de IgA-TG2 + determinación de IgA. En niños, sigue el algoritmo de la ESPGHAN 2012, en adultos es el primer paso de la secuencia es el mismo.

1.6.2.2 Secuencia de actuación diagnóstica en atención especializada

Se indica en la Figura 31.

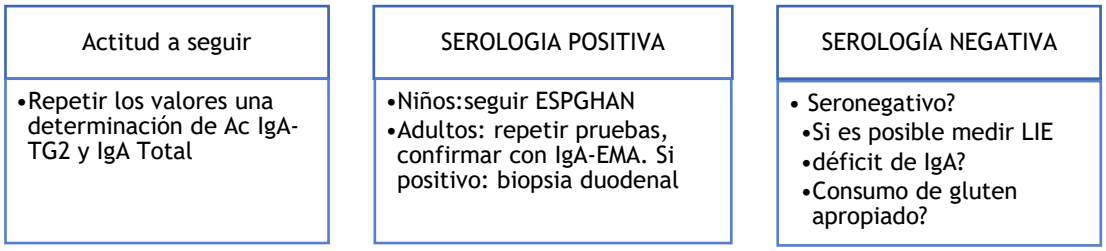


Figura 31. Secuencia de actuación diagnóstica de la enfermedad celiaca en atención especializada. Elaboración propia. Fuente, (124). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; EMA, anticuerpos antiendomisio; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology* , LIE, linfocitos intraepiteliales; TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Es necesario integrar a todos los especialistas implicados en el diagnóstico y la asistencia grupos de riesgo de enfermedad celiaca en los distintos niveles asistenciales para avanzar en el manejo de la enfermedad.

1.6.2.3 Secuencia de actuación en el laboratorio, integrado en el SIL
Se indica en la Figura 32.

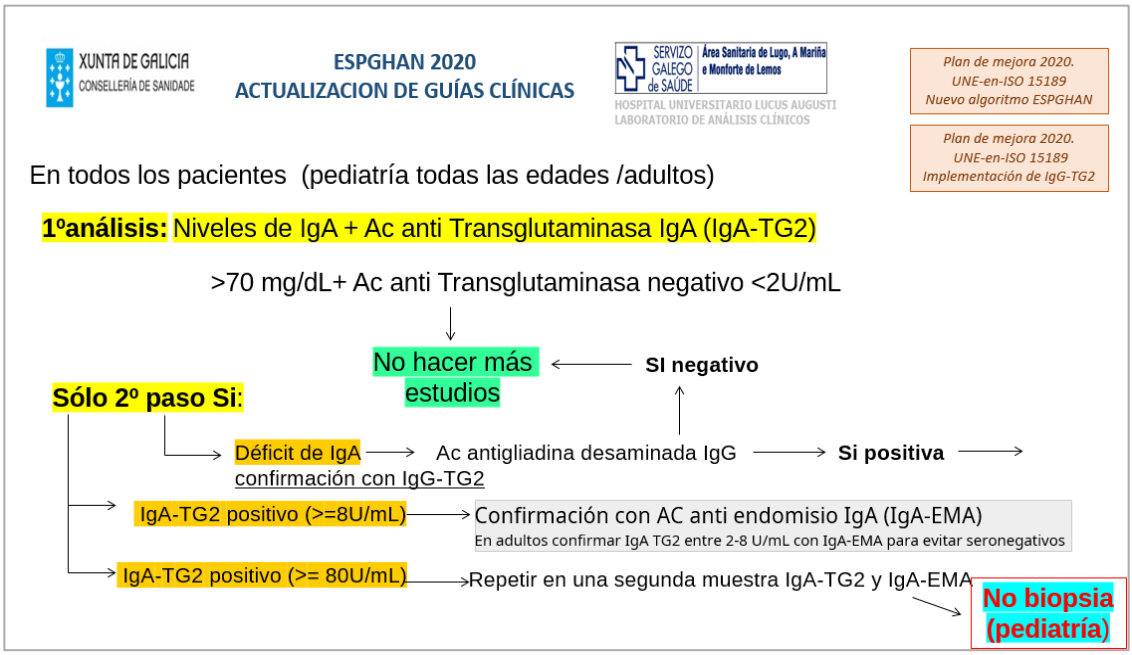


Figura 32. Algoritmo en vigor sintetizado para el diagnóstico precoz de la EC en el HULA. Elaboración propia para uso de la unidad de Laboratorio Clínico. Fuente, (124,170). Abreviaturas: EMA, anticuerpos antiendomisio; IgA-TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa IgA; IgG-TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa IgG.

El esquema anterior (Figura 32) muestra el protocolo en vigor en el HULA en el que hemos integrado las guías ESPGHAN 2020 y las recomendaciones del Ministerio español en sencillos pasos. Con la puesta en marcha de este algoritmo se consigue mejorar de manera progresiva el funcionamiento y el tiempo de respuesta de las pruebas. Este nuevo protocolo actualizado se implanto como plan de mejora y fue acreditado UNE-EN-ISO 15189 (172)

1.6.2.4 Secuencia de actuación diagnóstica en déficits de IgA

La EC se asocia con frecuencia a déficit de IgA. En estos casos todas las guías pediátricas y de adultos recomiendan hacer pruebas de isotipo IgG. La más específica en estos casos como ya se ha dicho, es la IgG-DGP que, en caso de ser positiva, se debe confirmar a su vez con otra prueba IgG.

Para la confirmación existen dos opciones de las que se escoge una: IgG-EMA e IgG-TG2. Debido a las características técnicas de las pruebas, nuestro laboratorio utiliza la IgG-TG2 por ser cuantitativa y objetiva. La implementación de esta prueba en el laboratorio del HULA se llevó a cabo por la autora de esta Tesis Doctoral, formando parte de un plan de mejora registrado y acreditado en el año 2020 (193). Anteriormente, los déficit de IgA se confirmaban en un laboratorio externo (Referens®, Barcelona) y con su implementación el laboratorio pasa a disponer de todas las pruebas precisas para cumplir los criterios de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

diagnósticos actuales para la EC y la DH, con el consiguiente ahorro de recursos materiales y aumento de la rapidez del tiempo de respuesta (193).

1.6.3 Algoritmo de actuación en EC seronegativa

Ante una atrofia, evidenciada en la biopsia, y serología negativa la actuación se establece de acuerdo con el siguiente diagrama de flujo (Figura 33).

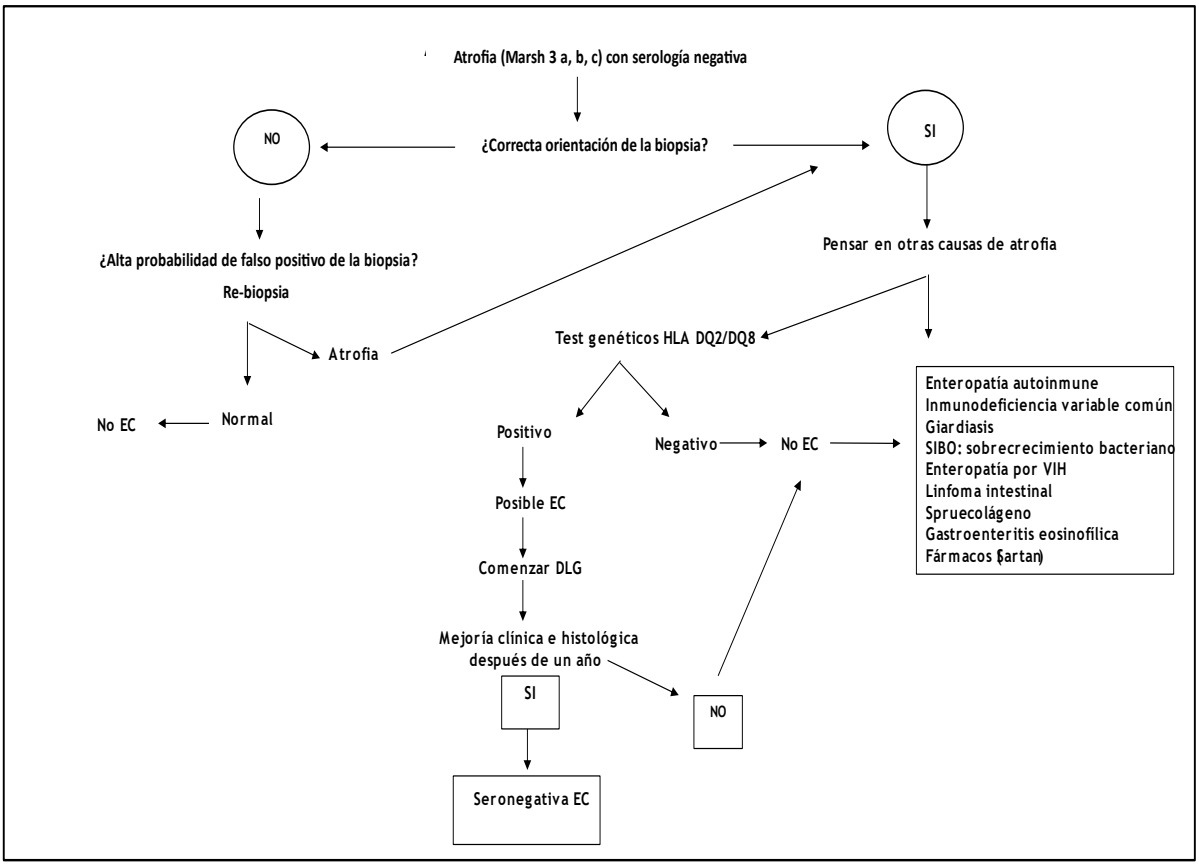


Figura 33. Algoritmo diagnóstico para atrofia seronegativa. Elaboración propia, adaptado de Caio et al. (164). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; VIH, Virus de Inmunodeficiencia Humano.

1.6.4 Escenarios clínicos

Según el protocolo para el diagnóstico precoz de la EC del Ministerio Español se reconocen 4 escenarios clínicos(124).

1.6.4.1 Cribado poblacional

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que la EC no reúne criterios como candidata a hacer un cribado poblacional porque no se conoce la historia natural de la enfermedad en pacientes asintomáticos que han sido identificados en estudios poblacionales.

Actualmente, la recomendación en individuos asintomáticos es realizar cribado sólo en aquellos que pertenezcan a grupos de riesgo ya mencionados: individuos con familiares de primer grado con EC (Figura 34) y padecer diabetes tipo 1, déficit aislado de IgA, síndrome de Down, síndrome de Turner, hepatitis o tiroiditis autoinmunes, etc. (194) (Ver apartados anteriores, Tabla 2).

USC DE COMPOSTELA

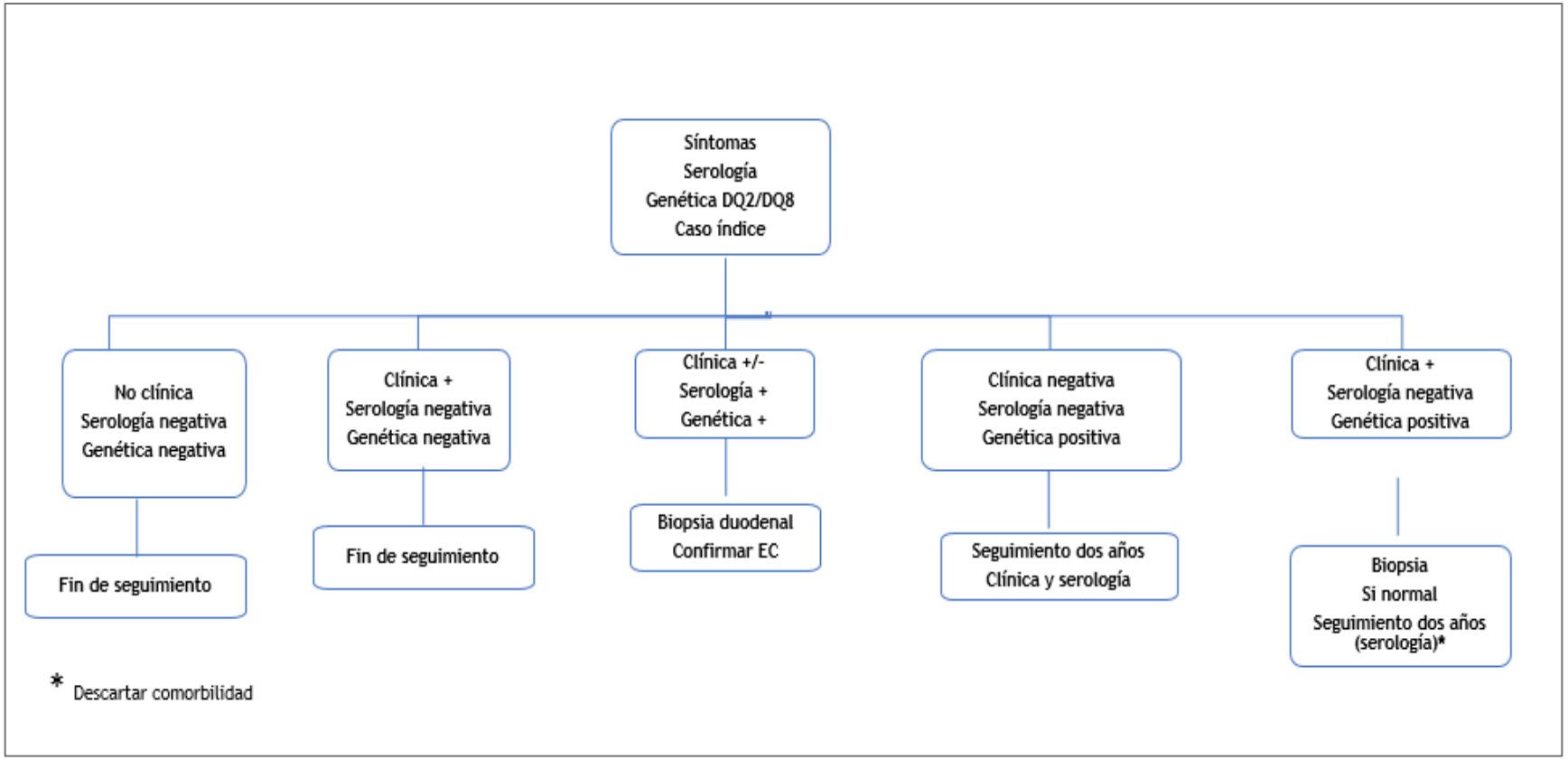


Figura 34. Familiares de primer grado. Elaboración propia. Evaluación inicial y tratamiento.

1.6.4.2 Cribado diagnóstico en pacientes con sospecha clínica

Actualmente, los Ac IgA-TG2 y Ac IgA-EMA son los anticuerpos con mayor utilidad y los de mayor valor predictivo positivo para el diagnóstico. Los Ac IgA-TG2 son los más generalizados y los que se realizan en la mayoría de los centros, incluso en algunos centros solo Ac IgA-TG2 por no disponer de microscopio de fluorescencia ni de personal experto para su interpretación (195). Por esto, la autora de esta Tesis Doctoral ha buscado la correlación especialmente en valores altos para poder garantizar un diagnóstico clínico de EC. Sin embargo, no debemos olvidar que existen situaciones como la edad, el tipo de lesión histológica o inmunodeficiencias (déficit de IgA) en las que cada anticuerpo presenta prestaciones diagnósticas diferentes.

1.6.4.3 Diagnóstico de enfermedad celiaca en situaciones especiales

Existen tres situaciones en las que los Ac IgA-TG2 pueden ofrecer resultados falsos negativos:

- Pacientes con déficit selectivo de IgA; en estos casos la determinación de anticuerpos IgG-DGP (como primera elección) o los IgG-TG2 o IgG-EMA aumentan la eficiencia diagnóstica.
- Niños menores de 2 años; la determinación de anticuerpos IgG-DGP aumenta sensibilidad (168).
- En niños y adultos con lesión histológica sin atrofia (Marsh 1 y 2), los Ac IgA-TG2 y IgA-EMA pueden ser negativos, aunque en ocasiones los Ac IgG-DGP son positivos.

En todos estos casos la valoración mediante citometría de flujo de la presencia de LIE γδ+ y/o de depósitos de TG2 en la mucosa intestinal pueden ser de gran ayuda para esclarecer el diagnóstico (169,183).

1.6.4.4 La importancia del cribado correcto de la EC

En primer lugar, la búsqueda activa de casos y el cribado de la EC es importante para evitar complicaciones propias de la enfermedad. En adultos y ancianos que no han sido diagnosticados, las complicaciones son la manifestación inicial. Además, un cribado correcto evita las consecuencias de un diagnóstico erróneo, con dos posibles escenarios ambos peligrosos para la salud:

1. EC infradiagnosticada. En este caso se mantiene la dieta con gluten, afectando a la calidad de vida por persistencia de la sintomatología, en niños se puede alterar el desarrollo y crecimiento y complicaciones a largo plazo, como osteopenia, infertilidad o neoplasias.
2. EC celiaca supradiagnosticada, es el escenario opuesto, en este caso una restricción innecesaria de gluten de la dieta. Se afecta igualmente la calidad de vida no solo de los pacientes sino también de sus familiares, una gran repercusión económica porque los productos son más caros, el riesgo de una dieta desequilibrada, con un posible déficit de vitaminas y oligoelementos y riesgo de estreñimiento y sobrepeso.

En la Figura 35 se esquematiza lo anteriormente expuesto.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 35. Problemas del infra y sobrediagnóstico. Elaboración propia. Fuente, Riechmann et al (175).

1.7 TRATAMIENTO

1.7.1. DLG

El único tratamiento eficaz de la EC consiste en llevar a cabo una DLG (196). Para ello hay que excluir el trigo de la dieta (Figura 36), es decir, todas las especies Triticum, tales como trigo duro, trigo espelta y trigo khorosan, triticale (cereal obtenido por el cruce de trigo y centeno), cebada, centeno o sus variedades híbridas y productos derivados. El gluten se encuentra en la mayoría de los alimentos que forman parte de la dieta habitual de la mayoría de las personas. En Europa el gluten se consume en una media de 10 a 20 gr/día, aunque hay personas que pueden llegar a consumir unos 50 gr. diarios. Este alto consumo de gluten en la dieta del hombre, podría ser la causa de que en los últimos años se haya observado un incremento de la celiaquía y la aparición de otras patologías relacionadas con el consumo de gluten (164). Es necesario también extremar las precauciones a la hora de la contaminación cruzada.

La mayoría de las personas celiacas pueden incluir la avena en su dieta alimentaria sin que tenga efectos nocivos para su salud. Sin embargo, es posible que la avena se contamine con el trigo, el centeno o la cebada durante el transporte, almacenamiento y tratamiento de los cereales. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta el riesgo de contaminación por gluten en los productos que contienen avena (196).

Aunque los tres anticuerpos son dependientes de gluten y desaparecen tras la dieta, la correlación con la clínica o con la histología no es absoluta. Son poco útiles sobre todo para detectar transgresiones ocasionales de la dieta o contaminación ambiental.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

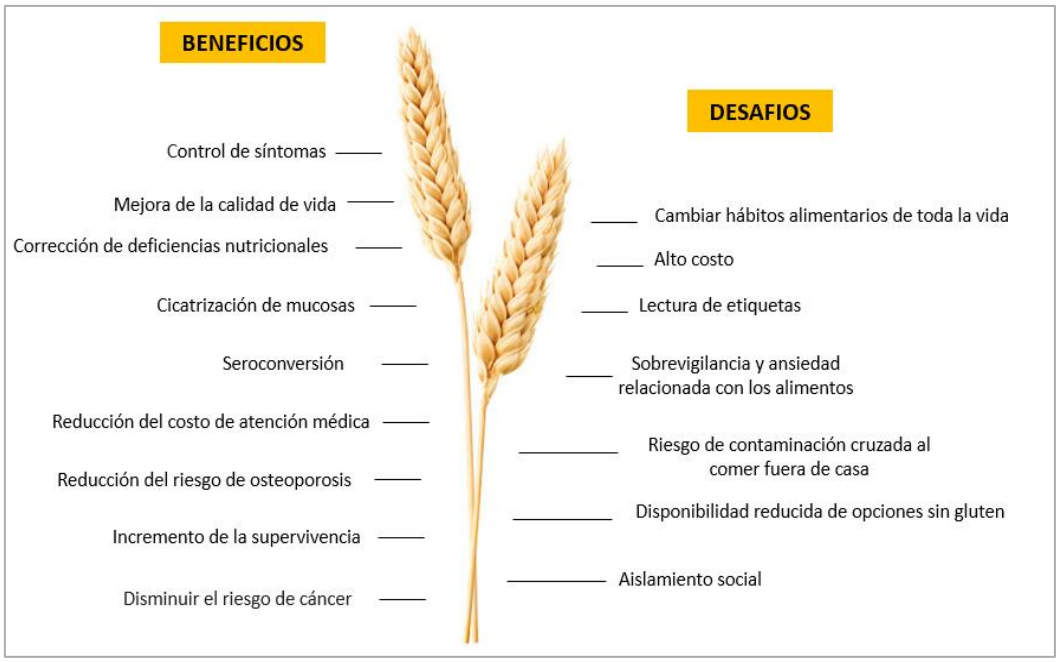


Figura 36. Beneficios y desafíos de la DLG. Elaboración propia. Fuente Oxentenko et al. (197). Abreviaturas, DLG, Dieta Libre de Gluten.

Los cereales sin gluten, como el arroz, el trigo sarraceno, el maíz y el mijo, pueden sustituir cereales que contienen gluten. Algunas legumbres, como el amaranto, la quinoa y la soja, son especialmente convenientes por su alto contenido en proteínas y calidad. Además, se recomiendan los alimentos no procesados como el pescado, carnes, aves, huevos, verduras y frutas para promover el cumplimiento de la dieta saludable y asegurar la alimentación y el valor nutricional de la dieta.

Pero seguir una DLG estricta es engorroso y está asociado con mayor costo económico y posibles riesgos, tanto de deficiencias de nutrientes como de aumento de peso excesivo debido al contenido hipercalórico de los productos comerciales sin gluten (198). Además, estos alimentos, también se han asociado con deficiencias de fibra, tiamina, folato, vitamina A, magnesio, calcio y hierro (199) ya que los alimentos sin gluten no se fortifican de forma rutinaria. Por ello solo se debe recomendar una DLG después de una cuidadosa consideración de las posibles desventajas.

1.7.1.1 Tratamiento en asintomáticos

Chou et al. (200), en un metaanálisis concluye que en los artículos se identificó poca o ninguna evidencia para informar la mayoría de las preguntas clave relacionadas con los beneficios y daños de la detección de la enfermedad celíaca en individuos asintomáticos aunque se encontró alguna evidencia con respecto a la precisión diagnóstica de las pruebas para la enfermedad celíaca.

Se necesita más investigación para comprender la eficacia de detección y tratamiento de la enfermedad celíaca, precisión de la detección pruebas en personas asintomáticas y estrategias óptimas de detección (200).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.7.1.2 Marco legal de productos sin gluten

El contenido de gluten en los alimentos está regulado por el Codex Alimentarius (201). Este reglamento establece que los alimentos sin gluten son aquellos en los que los niveles totales de gluten son < de 20 ppm.

Sobre la presencia o ausencia del gluten de los alimentos, el reglamento europeo UE Nº 828/2014 aplicable desde el 20 de julio de 2016, pasa a regular las menciones "sin gluten" o "muy bajo en gluten" (queda derogado el anterior reglamento Nº 41/2009). Este reglamento establece las siguientes declaraciones autorizadas sobre la ausencia o la presencia reducida de gluten y sus condiciones asociadas:

- "sin gluten" solamente podrá utilizarse cuando los alimentos, tal como se venden al consumidor final, no contengan más de 20mg/kg de gluten.
- "muy bajo en gluten" solamente podrá utilizarse cuando los alimentos que consistan en trigo, cebada, centeno o avena o que contengan uno o más ingredientes obtenidos a partir de estos cereales que se hayan producido específicamente para reducir su contenido en gluten, no contengan más de 100mg/kg de gluten en el alimento tal como se venden al consumidor final.

1.7.1.3 Aspectos socioeconómicos de la DLG

Socialmente la DLG es difícil de seguir, esta dieta es cara y complica la vida de las personas afectadas porque se deben examinar diariamente los ingredientes de cada alimento. Estas dificultades se ven especialmente en personas en edad avanzada, con problemas a la hora de comprar, o en el adolescente al que le cuesta más adaptarse. En cuanto a los productos sin gluten todas las recomendaciones dicen que es mejor para el celiaco consumir productos naturalmente libres de gluten, como frutas y verduras, carne, pescado y huevos, lácteos etc. que productos procesados comercializados como sin gluten. En la gráfica de la figura 37 se observa la evolución del precio de los productos sin gluten.

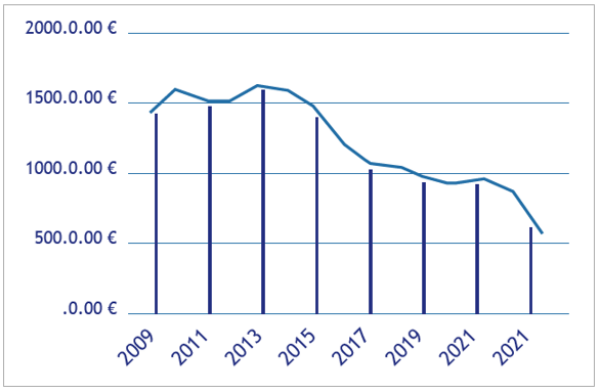


Figura 37. Evolución de la diferencia de precios de productos sin gluten 2009-2023. Elaboración propia, adaptada de (202).

Se puede evidenciar que en los últimos años existe una tendencia a la disminución de diferencia de costes entre productos con y sin gluten a pesar de ello, el coste de los productos sin gluten se ha incrementado en 169,42 € entre 2022 y 2023. Sin embargo, la diferencia se atenúa en vista del gran aumento de precios que también se ha generado en el resto de los productos con gluten.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.7.1.4 Medicamentos, cosméticos y vacunas de la DLG

En relación con los medicamentos el Real Decreto: 1.345/2007 Indica que se declare de forma completa el principio activo y los excipientes incluyendo las advertencias relativas a estos últimos. Igualmente, la circular Nº 1/2018 de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios establece la obligatoriedad de declarar en el prospecto, ficha técnica y etiquetado la información relativa a los excipientes.

En cuanto a los cosméticos se recomienda prudencia, debido a que en piel y mucosas existen linfocitos de los cuales se desconocen si estos reaccionan cuando aplicamos una sustancia químicamente preparada para la absorción por la piel y puede contener esta proteína tóxica. La recomendación es no alarmarse, pero hacer un uso responsable.

Respecto a las vacunas, los celíacos deben seguir el mismo calendario de vacunación que el resto de la población. Y en cuanto a la vacunación del SARS-CoV-2 (Covid 19) los datos actuales no muestran que las personas celíacas se diferencien de la población sin EC en cuanto al riesgo de contagio por el coronavirus SARS-CoV-2 o al riesgo de complicaciones derivadas de la enfermedad COVID-19, por ello se respalda la vacunación masiva de las personas celíacas siguiendo las recomendaciones hechas para la población general, independientemente de si se trata de vacunas basadas en ARN mensajero (Pfizer y Moderna) o de vacunas basadas en vectores virales (AstraZeneca-Oxford, Janssen).

En España para la temporada 2023-2024 el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud ha publicado las recomendaciones de vacunación frente a la gripe, que se administrará junto con la vacuna frente a COVID-19 en los colectivos más vulnerables.

Como norma general, la vacuna de la gripe se recomienda a las personas menores de 5 años (a partir de 6 meses) y mayores de 59 años, así como a personas de todas las edades (a partir de 6 meses) con condiciones de riesgo, entre ellas la enfermedad celíaca, con el fin de prevenir complicaciones derivadas de la gripe, generalmente la neumonía.

Por su parte, la vacuna frente a COVID-19 está recomendada en las personas más vulnerables (entre ellas, las afectadas por condiciones de riesgo como la enfermedad celíaca) y en el personal sanitario y sociosanitario. Por ello, está recomendada la vacunación conjunta frente a la gripe y a la COVID-19 en personas con enfermedad celíaca de todas las edades (a partir de 6 meses), que se puede hacer extensiva a sus convivientes (Aprobado por la Comisión de Salud Pública del Ministerio de Sanidad el 12/9/2023).

1.7.2. Seguimiento de pacientes con DLG

El seguimiento EC es un tema relativamente infravalorado. Sin embargo, el cumplimiento correcto de los procedimientos de seguimiento es fundamental para el reconocimiento temprano de la EC complicada (203).

Es preciso realizar un seguimiento médico periódico e indefinido de los pacientes para valorar la evolución de los síntomas, en niños controlar el crecimiento, los posibles déficits de nutrientes y asegurar la resolución de los

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

síntomas, vigilando el cumplimiento de la dieta y la posible aparición de complicaciones y otras condiciones típicamente asociadas con EC (185,195,204).

Se debe controlar la IgA-TG2 por el mismo ensayo utilizado para el diagnóstico. Se observa una reducción considerable de IgA tras unos meses de dieta sin gluten, aunque la normalización total de la serología de la EC puede tardar más de dos años, especialmente en aquellas personas que sus niveles de IgA hayan sido muy altos en el momento del diagnóstico (205) . En este aspecto es fundamental conseguir el resultado exacto de los Ac específicos cuando estos superen el límite de detección, lo cual es más frecuente en niños. Así, nuestro laboratorio entrega el valor exacto de autoanticuerpos dentro de la curva de calibración. Esto es esencial en el seguimiento ya que de otra manera un alto porcentaje de enfermos seguirían por encima del valor de detección y no conocerían si existe una respuesta serológica.

El manejo a largo plazo de la EC debe involucrar tanto a un gastroenterólogo con experiencia en EC como a un dietista con experiencia en DLG. En algunos pacientes, es posible que se necesiten recursos adicionales, como psicología, para ayudar a los pacientes a sobrellevar su nuevo diagnóstico, y es beneficioso derivarlos a las asociaciones de celiacos de gran apoyo en la EC.

Con independencia de la edad, la frecuencia de los controles variará con el momento de la enfermedad. En los primeros 1 a 2 años posteriores al diagnóstico, es posible que se necesiten visitas de seguimiento más frecuentes para controlar el cumplimiento de la dieta, y abordar las preocupaciones relacionadas con la enfermedad. Al principio del tratamiento, si fuera necesario, se harán mensualmente hasta la desaparición de los síntomas. El tiempo necesario hasta que los títulos de autoanticuerpos se normalizan depende del nivel inicial, pero, en general, se consigue en los 6-12 meses posteriores al inicio de la exclusión del gluten de la dieta. Aunque su negativización puede ser más lenta.

Aunque los tres anticuerpos son dependientes de gluten y desaparecen tras la dieta, la correlación con la clínica o con la histología no es absoluta. Son poco útiles sobre todo para detectar transgresiones ocasionales de la dieta o contaminación ambiental. Estudios recientes sugieren que la determinación en heces u orina de péptidos inmunogénicos de gliadina, podría ser de utilidad para valorar transgresiones (163).

> "En pacientes con buena adherencia a la dieta y que presentan una mala evolución, esta técnica también podría ser útil antes de considerar un diagnóstico de EC refractaria (ECR)" Párrafo del protocolo español (119).

La dieta es difícil de seguir y hay una alta tasa de abandono. Tovoli et al. (203) estudiaron el abandono de la dieta temprano y a largo plazo, intentando discernir que variables podrían estar implicadas en la falta de adherencia a la DLG. Estos autores observaron que hasta 6,9 % de los enfermos diagnosticados abandonaron la dieta en los primeros 6 meses y hasta el 50.6% durante el periodo de observación. El tiempo medio de abandono de la DLG fue de 7,4 años. Ningún factor se asoció con el abandono temprano, sin embargo, la edad al diagnóstico (>40 años) y la clínica de presentación clásica se asociaron significativamente con un abandono posterior (p=0.016).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La autora de esta Tesis Doctoral ha estudiado el seguimiento serológico de la DLG. en pacientes celiacos en el área sanitaria de Lugo, que fue presentado en el XIII Congreso Nacional del Laboratorio Clínico (Sevilla 2019) (206).

1.7.2.1. Recomendaciones en el seguimiento de la DLG

No existen unos criterios claros para el seguimiento. Es este apartado presentamos unos de los más aceptados (Tabla 8).

Tabla 8. Monitorización en la EC.

Test	Intervalo	Comentarios
Evaluación Clínica	Anual o siempre que existan síntomas recurrentes	
Serología	Cada 3-6 meses hasta la normalización y después cada año	Si persisten o incrementan: exposición al gluten
Evaluación Nutricional	Cada 3-6 meses hasta la normalización y después cada año	Hierro, vitamina D, Vitamina B12, Folato y Zinc
Densidad ósea	1 vez entre los primeros 2 años	Se incrementa la densidad ósea en el primer año de DLG
Niveles de transaminasas	Al diagnóstico y cada 1-2 años	Niveles elevados al diagnóstico que se normalizan.
Test de función tiroidea	Al diagnóstico y cada 1-2 años	Tiroiditis autoinmune se asocia entre un 15-20% a la EC
BD	Considera 1-2 años después del diagnóstico	No es necesario en pacientes que responden al tratamiento.
Cribaje de cáncer	Igual que en la población general	No es necesario un cribado especial, aunque algunos tumores se incrementan en EC.

Elaboración propia, adaptada de Kelly et al.(111). Abreviaturas: BD, Biopsia duodenal; EC, Enfermedad Celíaca.

Además del diagnóstico de la EC, debe valorarse en un primer momento la situación nutricional para poder detectarse las posibles deficiencias vitamínicas y/o enfermedades asociadas para poder tratarlas y establecer el seguimiento adecuado de las mismas.

La DLG es el único tratamiento, pero el seguimiento incluye revisar la serología, la sintomatología relacionada y las patologías secundarias asociadas. Se han propuesto varios modelos de atención integrada para la EC hoy en día se necesitan vías clínicas detalladas y evaluaciones de mejora de resultados (207).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.7.2.2. Enfoques en la evolución del seguimiento

El siguiente esquema (Figura 38) resume el enfoque actual en el tratamiento y seguimiento de la EC y su evolución a lo largo de los años.

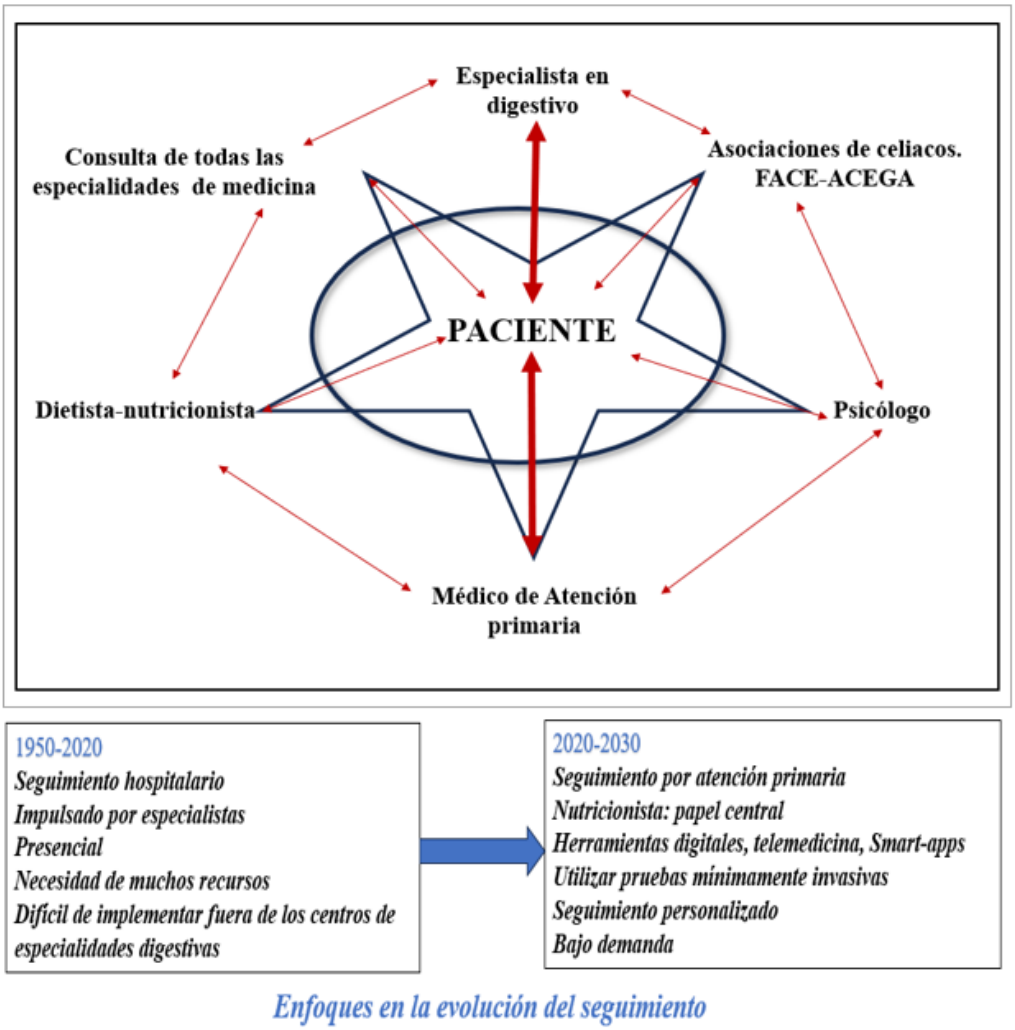


Figura 38. Nuevo enfoque en el tratamiento, seguimiento y evolución de la EC. Elaboración propia, adaptado de Mulder et al (207). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca.

El seguimiento de la EC ha aparecido nuevos protagonistas con nuevos roles. Para que el seguimiento sea integral es necesaria la interactuación de varias entidades. Lo que antes era un tratamiento exclusivamente médico, limitado al ámbito hospitalario hoy en día se basa en la interrelación de médicos de AP, especialistas no sólo gastroenterólogos sino de todas las especialidades médicas, intervención de nutricionistas y psicólogos y el gran soporte personal de las asociaciones de celiacos, que cada uno tiene su propio rol pero que todos convergen y tienen con centro el propio paciente.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Los roles específicos son los siguientes:

- Médico de AP: Sospecha clínica, cribado, seguimiento a largo plazo y coordinación con el resto de las unidades.
- Especialista en digestivo: Diagnóstico, seguimiento y gestión de las complicaciones
- Otras especialidades: Sospecha, evaluación clínica, detección en presentaciones extradigestivas, derivación a gastroenterólogo.
- Dietista nutricionista.
- Psicólogo: apoyo psicológico
- Asociaciones de celiacos: apoyo y ayuda en el cumplimiento de la dieta, abogacía, empoderamiento.

1.7.2.3. Péptidos inmunogénicos del gluten

Hasta hace pocos años para la evaluación de la adherencia a la dieta solamente se contaba con la monitorización de los marcadores serológicos o los registros dietéticos; los primeros sólo detectan transgresiones mantenidas y frecuentes, mientras que los registros dietéticos presentan muchas limitaciones.

Entre las nuevas pruebas desarrolladas para evaluar la adherencia a la dieta están los métodos de detección de péptidos inmunogénicos de gliadina (GIP) en fluidos corporales (heces, orina). Consiste en es una técnica no invasiva que relaciona la presencia de péptidos en heces y orina con el consumo de gluten. Los GIP son fragmentos de las proteínas del gluten, concretamente el péptido 33-mer de la alfa-gliadina, resistentes a la digestión gastrointestinal y que, en el paciente celiaco, producen una reacción inmunotóxica (196) .

Este péptido, que es el más inmunogénico del gluten reacciona con anticuerpos monoclonales anti-33-mer G12. La resistencia de GIP a la digestión gastrointestinal asegura que sean en su mayoría excretados por la orina. Por ello, la recuperación de cantidades medibles de la fracción inmunogénica del gluten en la orina indica la existencia de consumo de gluten, y por tanto la transgresión voluntaria o involuntaria. La presencia de GIP en orina es un marcador preciso, directo y muy útil para el control de la DLG y se han propuesto como nuevos biomarcadores no invasivos para detectar la ingesta de gluten y verificar el cumplimiento de la dieta saludable sin gluten a corto y largo plazo (208). La determinación de estos GIP mediante inmunoensayos simples es un avance significativo que abre nuevas posibilidades para que los facultativos evalúen el cumplimiento de la DLG.

También es posible determinar los GIP en heces, aunque en este sustrato la técnica es más laboriosa porque requiere de un procedimiento preanalítico.

Entre las limitaciones están el tiempo de detección para la orina 24-48 horas y en heces entre 48 horas y 5 días. El procedimiento en orina se expone a continuación en la Figura 39.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

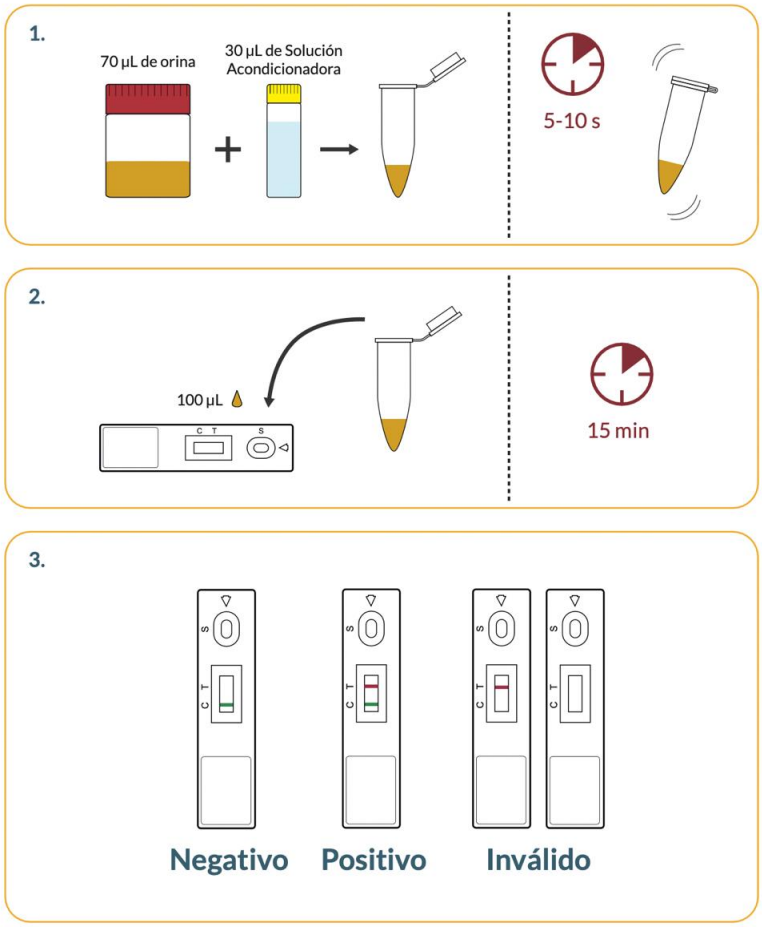


Figura 39. Procedimiento de análisis de péptidos inmunogénicos del gluten en orina. Autorización de Biomedal para reproducir la imagen en esta Tesis Doctoral.

La autora de esta Tesis Doctoral implementó esta técnica en el laboratorio del HULA (mayo 2021) y, dado su alto costo es necesaria la justificación clínica para su solicitud, estando restringida al ámbito hospitalario a los servicios de gastroenterología pediátrica y digestivo de adultos. (Plan de mejora en el laboratorio acreditado (193).

Para la divulgación y conocimiento de esta prueba se realizó una sesión clínica, así como forma parte del contenido de los cursos sobre "diagnóstico de EC y seguimiento de la DLG" que esta autora imparte en Galicia (ACIS), y en el impartido digitalmente dentro del marco europeo en la plataforma XPEER.

Igualmente, esta autora ha sido cotutora en un TFG (89) sobre la utilidad de los GIP en la adherencia a la dieta en el área sanitaria de Lugo.

1.7.3 Nuevas estrategias terapéuticas en la EC

La DLG se considera segura y efectiva y la adherencia a ella tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos de forma estricta y de por vida sigue siendo el único tratamiento comprobado y disponible para la EC. Sin embargo, el mantenimiento de la DLG puede ser complicado para muchos pacientes debido su alto coste, a su carácter particularmente restrictivo y la percepción de la

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

disminución de la calidad de vida asociada a la dieta, por lo que su mantenimiento de modo indefinido puede tener implicaciones psicológicas y sociales,

Además, un subgrupo de pacientes no responde adecuadamente a la dieta y la cicatrización de la mucosa del intestino delgado puede ser incompleta, por lo que son necesarias formas alternativas de tratamiento. Cabe esperar avances en el conocimiento de terapias alternativas en los próximos años, que en la práctica ofrezcan a los pacientes la posibilidad de elección entre ellas y la DLG (198,199). En todo caso, antes de su aplicación en la clínica habitual, deberán demostrar su seguridad y eficacia respecto a la DLG.

El conocimiento cada vez mayor de los diversos mecanismos implicados en la etiopatogenia de la EC como la alteración de la permeabilidad de la mucosa, los procesos autoinmunes o la respuesta inflamatoria de la mucosa intestinal han permitido la identificación de varios objetivos para futuras terapias. Respecto al agente ambiental desencadenante de la respuesta autoinmune, existen investigaciones que están avanzando en la obtención de harinas de trigo sin capacidad inmunogénica. Muchas de estas terapias están en investigación (209) y, varios fármacos han entrado ya en ensayos clínicos de fase II/III.

Las terapias farmacológicas alternativas incluyen:

- Enzimas para inactivar los péptidos inmunogénicos del gluten en el tracto intestinal.
- Agentes que secuestren el gluten en la luz intestinal.
- Moduladores de la permeabilidad y/o presentación de los antígenos en la cascada inmunológica (bloqueo de la TG2, bloqueo de la unión HLA DQ con los linfocitos T).
- Modulación de la respuesta inflamatoria (antiinflamatorios, anticitocina IL-10 e IL-15, interferón gamma y FNF α).
- Desarrollo de vacunas capaces de inducir la tolerancia oral a la gliadina.

En la Figura 40 y Tabla 9 se indican las diferentes estrategias y el estado actual en que se encuentra su desarrollo (51) (210), sintetizándolas en 2 dos estrategias terapéuticas:

- Tipo cuantitativo (tolerogénicas). Se relacionan con la manipulación del agente desencadenante.
- Tipo cualitativo. Para inhibir o mitigar los efectos inmunoestimuladores de estos péptidos en el intestino.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

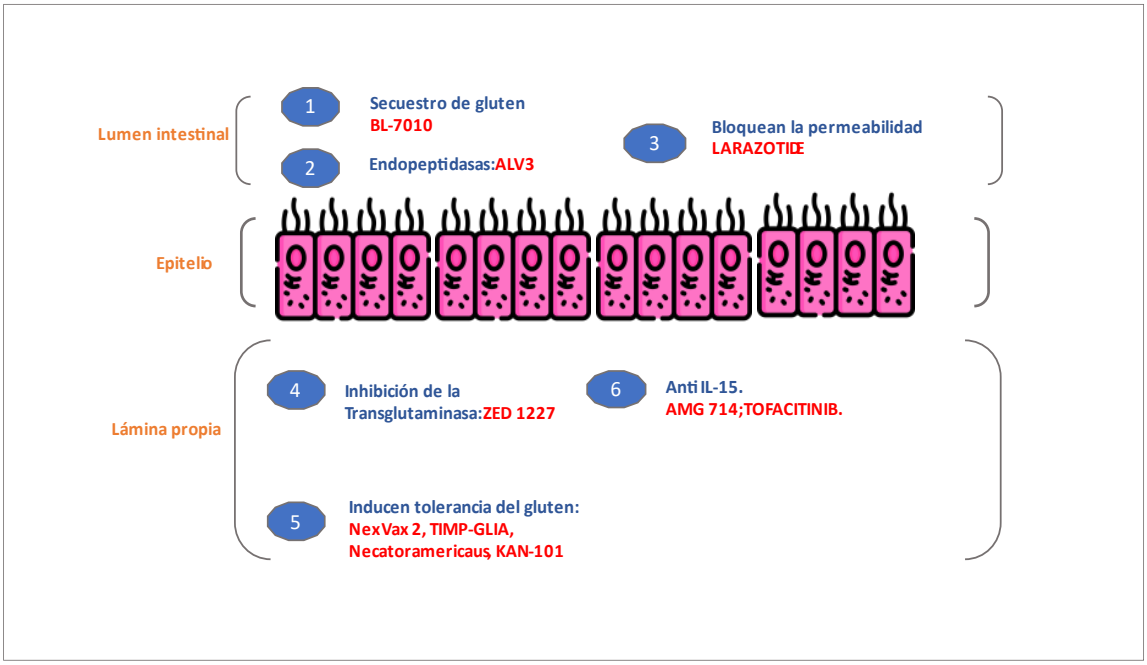


Figura 40. Mecanismo de actuación de nuevas estrategias terapéuticas. Elaboración propia. Abreviaturas: IL-15, interleucina 15.

Tabla 9. Nuevas estrategias terapéuticas.

Luminal	Mecanismo Propuesto	Fase de desarrollo
Endopeptidasas. Ej. latiglutenasa, An-PEP	Degradación enzimática del gluten	Fase 2
Moduladores de Tight junctions. Ej. Acetato de Larazótido	Reducir el paso paracelular del gluten a través de la mucosa.	Fase 2
Inhibidores de la TG2. Ej. ZED 1227	Inhibir la conversión del gluten a una forma más inmunogénica	Fase 2
Agentes aglutinantes del gluten Ej.: BL-7010	Secuestro del gluten en la luz intestinal	Fase 1
Bloqueadores de HLA	Prevenir la activación de las células T específicas del gluten	Preclínica
Gluten no tóxico	Cereales modificados o criados selectivamente, carentes de toxicidad	Preclínica
Inhibición de las proteasas inflamatorias. Ej. Elafin	Efectos antiinflamatorios y función de barrera mejorada	Preclínica
Tolerogénico	**Mecanismo Propuesto**	**Fase de desarrollo**
Inhibición de las proteasas inflamatorias. Ej: Nexvax2	Dirigido a epítopos específicos de células T CD4+ específicas del gluten. Utiliza tres péptidos del gluten.	Fase 2
Inducción a la tolerancia adaptativa. Ej. Necator americano	Efecto inmunorregulador de la anquilostomiasis combinado con exposición al gluten en dosis bajas.	Fase 2
Terapia con nanopartículas (TIMP-GLIA)	Nanopartículas que encapsulan gliadina administradas por vía intravenosa	Fase 1

Elaboración propia, adaptada de Tye-Din et al. (210).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

También, se ha sugerido el papel que puede jugar la utilización de probióticos (siempre junto a la DLG) en la inducción a la tolerancia oral, así como en la restauración de equilibrio en la composición y diversidad de la microbiota contribuyendo a atenuar las condiciones inductoras de escenarios proinflamatorios, mejorando los mecanismos de defensa del huésped en el epitelio intestinal. Con ello se obtendría la posibilidad de influir en el desarrollo de la inmunidad local y sistémica, para ser utilizados en la prevención y tratamiento de la EC así como de otros procesos (211) (94).

Para concluir este apartado resumiremos los fármacos más conocidos actualmente. Son los que se indican en los siguientes apartados:

1.7.3.1 Basados en la disminución del paso del gluten en la mucosa intestinal

Acetato de Larazótido (212). Modulador de las uniones intercelulares densas, que impediría el paso intercelular del gluten a la lámina propia mediante reordenación y cierre de las uniones intercelulares densas.

1.7.3.2 Basados en la evitación de la degradación del gluten en el tracto intestinal

Endopeptidasas ALV00. Degradan el gluten hasta conseguir fragmentos no tóxicos que cuando alcanzan la lámina propia, no inducirían una respuesta inmune patológica. En personas sanas es capaz de degradar eficazmente alimentos ricos en gluten. Se plantea como suplemento para "descontaminar". En este mismo grupo el Polímero BL7010 se une al gluten y lo "secuestra" impidiendo la exposición de este y por lo tanto evitando que se inicie la cascada inmunológica.

1.7.3.3 Basados en la inhibición de la modificación del gluten de la IgA-TG2

Inhibidor de la Transglutaminasa ZED1227 (213). Bloquea un enzima clave en la etiopatogenia de la EC. Se consigue alterar la fisiopatología desde la raíz.

1.7.3.4 Basados en el bloqueo de linfocitos intraepiteliales

Anticuerpo monoclonal anti IL15 AMG714. Bloquea la interleucina 15, considerada un mediador clave en la patogenia de enfermedad, porque es factor esencial en el crecimiento de los linfocitos intraepiteliales que destruyen la mucosa intestinal. Ha sido probada en cuatro ensayos clínicos en voluntarios sanos y en pacientes con psoriasis y artritis reumatoide.

1.7.3.5 Basados en la inducción a la tolerancia (Vacuna NEXVAX)

Vacunas Terapéuticas NexVax2. Intentan conseguir la tolerancia al gluten. Utiliza tres péptidos del gluten, los cuales provocan una reacción en las células T sensibles al gluten en pacientes HLA DQ2 positivo.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.7.4 Asociaciones de celiacos

Las asociaciones de celiacos nacen como consecuencia de la importancia de esta enfermedad y su elevada incidencia que ha llevado al gran interés que están mostrando las autoridades sanitarias en la detección precoz de esta enfermedad, ya que un diagnóstico temprano de la celiaquía puede evitar que se desarrollen los aspectos más negativos de la misma.(214)

Las fechas claves son las siguientes:

- En 1968 se funda la Sociedad Celiaca del Reino Unido por Elizabeth Segall, madre de un niño celíaco y un celíaco, Pedro Benenson, uno de los fundadores de Amnistía Internacional y celiaco; junto con el profesor Christopher C. Booth, que proporciona asesoramiento y asistencia médica inicial a dicha sociedad.
- En 1969 diversas organizaciones celíacas se establecen en California, Estados Unidos, y poco después en Canadá.
- Algunos años más tarde se funda la *Association of European Coeliac Societies* (AOECS).
- El 25 de junio de 1994 se constituye la Federación de Asociaciones de Celiacos de España (FACE). FACE está constituida por 17 asociaciones de celiacos distribuidas por todas las comunidades de la geografía nacional. El objetivo fundamental de la FACE es coordinar el esfuerzo y la labor realizada por los miembros para defender sus derechos, con vistas a la unidad de acción y conseguir logros comunes. Esta federación trabaja para mejorar la calidad de vida de las personas celiacas y conseguir su integración social. Esto lo realiza a través del apoyo directo a las personas celiacas y sus familiares, la realización de campañas de difusión y concienciación, la investigación, y la seguridad alimentaria (215). En Galicia la asociación de celiacos es ACEGA (Asociación de Celiacos de Galicia) con sede en Santiago.

1.7.4.1 Simbología

La Marca Registrada “Espiga Barrada” es el símbolo internacional sin gluten y está regulado actualmente por AOECS. En la actualidad aquellas industrias que deseen utilizar este símbolo deben solicitar certificarse bajo la Marca Registrada “Espiga Barrada” (ELS). Para que este símbolo tenga validez debe ir acompañado de un código alfanumérico de 8 dígitos concedido por la asociación que lo ha certificado, que determina el número de licencia y/o registro de dicho producto. Este símbolo garantiza un contenido de gluten inferior a 20 mg/kg en el producto final.(201). Como el ELS es una certificación europea, en el mercado español se pueden encontrar productos que estén certificados por las asociaciones de celiacos de otros países. Los ELS otorgados en España comienzan por ES.

El Reglamento Europeo 828/2014, aplicable desde julio 2016, regula las menciones “sin gluten” y “muy bajo en gluten”. Estas menciones podrán ir acompañadas de las siguientes declaraciones: “Adecuado para personas con intolerancia al gluten”, “Adecuado para celiacos”, “Elaborado específicamente para personas con intolerancia al gluten”, “Elaborado específicamente para celiacos”.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Únicamente aquellos productos etiquetados como “SIN GLUTEN” serían los que no comprometerían la salud de las personas celiacas.

1.8 COMPLICACIONES Y ENFERMEDADES ASOCIADAS

Las complicaciones de la EC suelen ocurrir en pacientes adultos (siendo frecuentemente su forma de manifestación inicial), tras muchos años de evolución y, generalmente, en pacientes que no han seguido la DLG adecuadamente (70).

1.8.1 Trastornos autoinmunes

La EC se asocia frecuentemente con otras enfermedades autoinmunes, en particular con la DM1 (asociada con la EC en el 4,5 % de los casos) (216) y la Tiroiditis de Hashimoto (217) (Odds ratio 4,0). Pero además la EC se asocia con otras enfermedades autoinmunes como la Hepatitis autoinmune, la colangitis biliar primaria, síndrome de Sjögren, el Lupus eritematoso Sistémico y la esclerosis sistémica.(218) La EC y las comorbilidades autoinmunes se relacionan a genes HLA, aunque también se ha sugerido que el gluten y otros cofactores pudieran tener un papel en la asociación de ambas (1) (73).

1.8.2 Tumores malignos

El riesgo de linfoma T asociado a enteropatías, una forma peculiar de linfoma de células T (LTAE) es 50-100 veces mayor en EC no controlada que en la población general, así como el linfoma no Hodgkin de cualquier localización (209,2010).(219) (220).

En un estudio realizado por Green (123) en EE UU y utilizando como referencia los datos del Instituto Nacional del Cáncer SEER (Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales) los de los pacientes en seguimiento por enfermedad celíaca tenían una mayor tasa de neoplasias malignas en comparación con la población general de los Estados Unidos. Otras de las neoplasias malignas que presentaron una tasa aumentada en la EC fueron el carcinoma de esófago, el adenocarcinoma de intestino delgado y el melanoma. Una revisión reciente Pellizzaro et al. (221), han descrito el aumento de estudios que han investigado la asociación de EC y varias neoplasias malignas, fundamentalmente el LTAE y el carcinoma de intestino delgado, poco frecuentes pero agresivas.

Una DLG pareció proteger contra el desarrollo de estas neoplasias malignas, excepto el linfoma no Hodgkin. A este respecto Holmes et al. (222), estudiaron un número importante de celiacos y demuestran que aquellos que después de 5 años de DLG, el riesgo relativo aumentado en enfermedades malignas había desaparecido. Estos datos sugieren un papel protector de la DLG frente a los tumores malignos en la EC y respaldan la recomendación de que todos los pacientes sigan una DLG estricta de por vida.

1.8.3 Riesgo cardiovascular

Se ha observado un riesgo aumentado de aterosclerosis precoz en adultos jóvenes con EC. Un estudio de Marchi et al. (223) analiza el metabolismo lipídico y el grosor de la íntima-media carotidea al diagnóstico y a los 6-8 meses tras DLG. Los niveles de LDL-colesterol, así como el grosor de la pared carotidea eran

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mayores al inicio, pero volvían a valores normales tras la adherencia a la dieta. Un estudio reciente publicado en el año 2023 (224) investiga si las personas con EC presentan mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, incluida la cardiopatía isquémica, el infarto de miocardio y el ictus, utilizando una base de datos de 469.095 adultos del Biobanco del Reino Unido, de los que 2083 tenían EC. Se hizo un seguimiento de 12,4 años. Los individuos con EC presentaban una menor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular tradicionales (presión sistólica, índice de masa corporal, tabaquismo, etc.), pero se asoció con un mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular que las personas sin EC (cociente de riesgos instantáneos 1,27 [Intervalo de confianza del 95%: 1,11-1,45] que no se vio influido por el ajuste de los factores de estilo de vida. Por esto, concluyen que los médicos deben ser conscientes de la necesidad de optimizar la salud cardiovascular en esta población. En ancianos cobran importancia los factores cardiovasculares debido a los años de retraso en el diagnostico en este colectivo cardiopatía idiopática dilatada hasta en el 6% de los casos.

El conocimiento de las complicaciones malignas de la EC, los factores de riesgo, la forma de presentación y la evolución de la enfermedad podría conducir a un diagnóstico más precoz y a una mejora de los resultados.

1.9 EC NO RESPONDEDORA

La falta de disminución progresiva de las concentraciones de anticuerpos o, un aumento de las concentraciones de anticuerpos en cualquier etapa durante la DLG requiere revisión cuidadosa de la dieta. Además, debido a la frecuente asociación con enfermedad tiroidea autoinmune, se recomienda la determinación de los anticuerpos antitiroideos especialmente en mujeres.

En España el Ministerio de Sanidad (124) publicó un protocolo de seguimiento en estos pacientes no respondedores a la DLG que se debe seguir antes de establecer el diagnóstico de ECR.

1.9.1 Plan de actuación ante un paciente con pobre respuesta a la DLG

La Figura 41 esquematiza los pasos a seguir en un enfermo con EC no respondedora.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

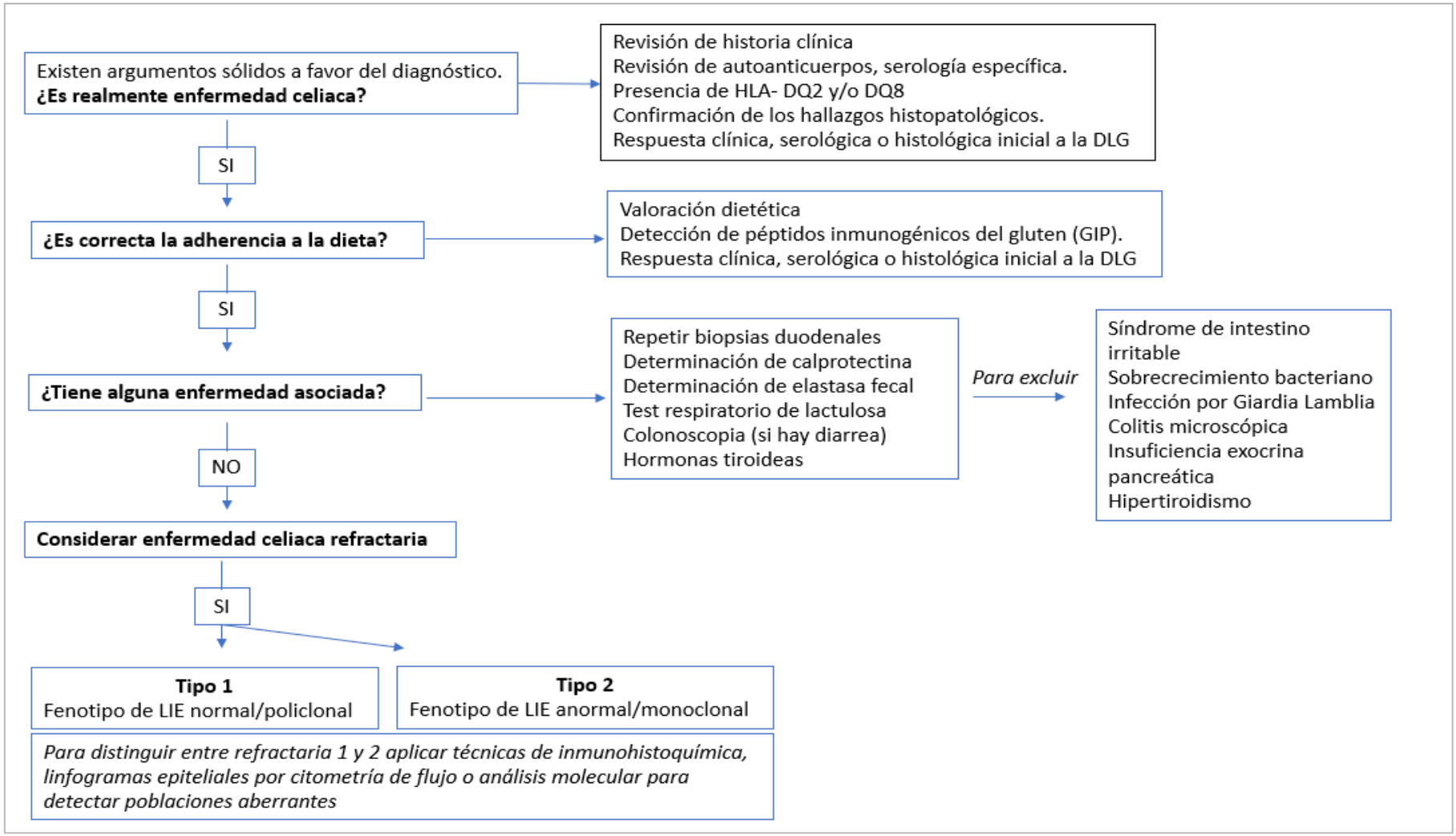


Figura 41. Algoritmo de actuación ante el paciente con sospecha de EC que no responde a la dieta sin gluten. Elaboración propia, adaptada del Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca del Ministerio de Sanidad (119). Abreviaturas: DLG, Dieta libre de gluten; EC, Enfermedad Celíaca; LIE, linfocitos intraepiteliales.

1.9.2 EC refractaria

La persistencia de atrofia vellositaria y la falta de respuesta clínica una vez asegurada la correcta adherencia a la DLG 12 meses desde el inicio del diagnóstico, define el concepto de refractariedad en la EC (ECR) (97) (225).

Antes de diagnosticarla hay que hacer un estudio detallado en la dieta para evitar que la falta de respuesta sea debido a la presencia de transgresiones (voluntarias y/o involuntarias) ya que la principal causa de "pseudorefractariedad" a la DLG es la ingestión continuada y generalmente inadvertida de gluten. El diagnóstico de ECR es de exclusión y, aunque el cumplimento estricto de la DLG es imprescindible para establecer un diagnóstico correcto de ECR es necesario descartar otros diagnósticos diferenciales y otros procesos concomitantes asociados y relacionados con la EC (225).

Green et al., (226) en una extensa revisión sobre la EC estableció un plan de actuación para el paciente con pobre respuesta a la DLG.

En España el Ministerio de Sanidad (124) publicó un protocolo de seguimiento en estos pacientes no respondedores a la DLG que se debe seguir antes de establecer el diagnóstico de ECR.

Por tanto, la EC es un diagnóstico de exclusión y en estos días se habla de otro concepto reciente que es el de *"supersensibilidad al gluten"* (227).

La legislación actual considera libres de gluten los alimentos que tienen menos de 20 ppm de este, considerando que la mayoría de las personas con EC tolerarían alimentos con gluten a este nivel. Sin embargo, algunas personas son sensibles a pequeñas trazas de gluten (menos de 20 ppm) y, por tanto, muestran una respuesta incompleta a una dieta sin gluten estricta (228).

Según este esquema, ante un paciente con sospecha de EC que no responde a la DSG y que presenta atrofia persistente, para llegar al diagnóstico de ECR se deben seguir los siguientes pasos (124) (229) (Figura 41):

- Establecer si existen argumentos sólidos a favor del diagnóstico de EC, mediante la confirmación clínica, serológica (positividad de los autoanticuerpos específicos) y marcadores genéticos, así como de los hallazgos histológicos, si son portadores de otras enfermedades autoinmunes o familiares de primer grado afectados por EC. Si no se cumplen los criterios se deben evaluar otras causas de atrofia vellositaria u otras entidades clínicas con presentaciones similares a la EC. Si la respuesta es positiva se pasa al segundo punto
- Comprobar que es correcta la adherencia a la dieta. En este punto es fundamental la figura del dietista-nutricionista. Se debe comprobar si los anticuerpos se han negativizado y tenemos una herramienta nueva que es la determinación de los péptidos inmunogénicos del gluten (apartado 1.7). Si la dieta no es correcta se debe establecer una intervención dietética, si por el contrario la adherencia a la dieta es correcta pasamos al siguiente punto
- Considerar otras intolerancias alimentarias (lactosa/fructosa/sorbitol) y excluir otras enfermedades digestivas como la infección por Giardia Lamblia, sobrecrecimiento bacteriano (es causa de enteritis linfocítica y conlleva atrofia vellositaria focal o parcheada), colitis microscópica más frecuente en pacientes con EC, insuficiencia exocrina del páncreas, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), para ello si es necesario se realizará una reevaluación histológica que debe ser llevada a cabo por patólogos expertos a fin de revisar el diagnóstico etiológico y excluir otras causas de atrofia vellositaria (como enfermedad de Wipple, enteropatía autoinmune, mastocitosis, abetalipoproteinemia considerando también la posibilidad de atrofia por fármacos como olmesartan), se realizarán colonoscopia, determinación de elastasa y otros marcadores

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

de EII como calprotectina o test respiratorio de lactulosa o de glucosa. Si se han descartado todos estos supuestos se debe considerar

- ECR, distinguiendo entre el tipo I y el tipo II mediante técnicas de inmunohistoquímica, linfogramas epiteliales por citometría de flujo, o análisis molecular para la identificación de poblaciones linfocitarias aberrantes.

1.9.2.1 Tipos de ECR

La ECR es la menos común y a su vez la más grave dentro de todos los tipos de EC. Su incidencia es menor del 5% de la población celiaca (230), incluso esta cifra podría estar sobreestimada si se tienen en cuenta la dificultad para asegurar una retirada completa de gluten de la dieta y el origen en centros de referencia de los estudios publicados. Roshan et al. estiman la incidencia acumulada en 1.5% en un centro de referencia americano(231). En función de sus características inmunofenotípicas la ECR se clasifica en dos (225,232) tipos:

- ECR tipo 1 en la cual el inmunofenotipo de marcadores de superficie de los LIE es similar al de los pacientes celiacos que ingieren gluten y muestran un reordenamiento policlonal de los genes de codifican las cadenas de receptores de células T (TCR) y, desde el punto de vista clínico se caracteriza por el desarrollo de un síndrome malabsortivo progresivo, a menudo, grave.
- ECR de tipo 2, se caracteriza por la expansión clonal de una población aberrante de LIE que muestran una pérdida de marcadores de superficie (CD3, CD4 y CD8), y un reordenamiento monoclonal de las cadenas de TCR. La progresión de ECR tipo I a tipo II parece ser poco frecuente. La ECR de tipo II se considera una entidad para neoplásica, incluso se ha sugerido que puede ser un linfoma de bajo grado, asociada al ulterior desarrollo de un linfoma intestinal de células T asociado a enteropatía, por lo que es necesario un diagnóstico correcto de ECR para descartar esta complicación mediante técnicas de imagen seccionales, incluyendo la tomografía por emisión de positrones (PET) y la cápsula endoscópica.

La etiopatogenia de la ECR continúa siendo desconocida, aunque se han propuesto algunas hipótesis como la exposición antigénica mantenida. También la homocigosis de HLA DQ2 junto con una mayor susceptibilidad al gluten, podría contribuir como factor de riesgo (233). También se ha descrito un patrón de citoquinas diferente en relación con el tipo de ECR con un incremento de la expresión de TNF en el ECR I y la IL-15 que parece desempeñar un papel central en la acumulación de LIE aberrantes (234).

1.9.2.2 Tratamiento de la ECR

No existen estudios clínicos controlados que hayan sido específicamente diseñados para evaluar la eficacia de las diferentes opciones terapéuticas de la ECR. Los algoritmos terapéuticos de esta complicación se basan en series de casos que incluyen pocos pacientes en general (235).

La primera mediada a adoptar es garantizar el adecuado cumplimiento de la DLG. Para ello, la detección de GIP en heces u orina es una buena estrategia para la monitorización del cumplimiento de esta. Tras esta evaluación rigurosa del cumplimiento de la DLG, el soporte nutricional artificial es la medida fundamental en los pacientes con ECR. También, en lo concerniente al tratamiento, se debe distinguir entre los dos tipos de ECR.

El tratamiento de la ECR I debe estar dirigido a mejorar la situación clínica del paciente. La utilización de corticoides es el tratamiento más habitual, aunque conlleva riesgo de corticodependencia, en estos casos el fármaco más utilizado es la azatioprina (236).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En el caso de la ECR tipo II, el objetivo terapéutico es, además de la remisión clínica, la eliminación precoz del clon de LIEs aberrantes con el fin de disminuir el riesgo de linfoma de células T. Para ello se han ensayado (en series de casos muy pequeñas), quimioterápicos de empleo habitual en neoplasias hematológicas como la cladribina (237), así como el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (238).

1.10 CONCLUSIÓN: AHONDAR EN EL ICEBERG

En el diagnóstico de la EC, una parte importante de casos que no se diagnostican en un determinado momento (por ej.: los casos oligosintomáticos) pueden aparecer después, como consecuencia del deterioro clínico. Por eso es más correcto interpretar el "iceberg celiaco" desde un aspecto "dinámico".

En este aspecto, a la hora de abordar el iceberg celiaco, los argumentos a favor de cribados masivos siguen siendo un tema de debate, porque, si bien es verdad (194):

- Que la EC es un trastorno común que causa importante morbimortalidad en la población en general;
- Que su detección precoz es a veces difícil para los clínicos.
- Que, si no se la reconoce, esta enfermedad se puede manifestar con serias complicaciones de difícil tratamiento (por ej.: infertilidad, osteoporosis, linfoma).
- Que existe un tratamiento efectivo y asequible, la DLG y especialmente.
- Que existen marcadores serológicos sensibles, sencillos, económicos y disponibles.

La relación coste/efectividad de los estos cribados universales para EC requiere el siguiente análisis: Por un lado, se ha dejado constatado que sin tratamiento la EC puede acarrear complicaciones, pero la historia natural de la EC sin diagnóstico/sin tratamiento, especialmente la forma asintomática, todavía presenta partes oscuras. Esto significa una importante limitación, ya que el tratamiento con la DLG interfiere en gran medida con la calidad de vida, especialmente en los adultos. También a pesar de la alta sensibilidad de los marcadores serológicos de la EC, el VPP disminuye cuando se aplica en la población general y tampoco se ha establecido la edad apropiada para los cribados de la EC (194).

Por todas estas razones, la mejor manera de abordar el iceberg de la EC sin diagnóstico consiste en un proceso sistemático para el descubrimiento de nuevos casos, poniendo foco en los grupos de riesgo, procedimiento que minimiza los costos y resulta éticamente apropiado. Ya Catassi en el año 2005 (239) explica que el aumento del dominio del polimorfismo clínico de la EC, junto con un bajo umbral para las pruebas serológicas, pueden descubrir eficazmente una gran parte del iceberg sumergido de la EC. Además, es probable que el impacto de todos los factores etiológicos mencionados de la EC aumente en un futuro cercano, dada la creciente mezcla genética causada por la inmigración y la tendencia generalizada a adoptar el modelo occidental de una dieta rica en gluten.

Esta Tesis Doctoral demostrará la importancia del establecimiento de un cribado selectivo a partir de un mayor conocimiento de la EC entre los médicos de AP y de todas las especialidades y el uso riguroso de marcadores serológicos con gestión mediante algoritmos por parte del laboratorio clínico.

En estos dos aspectos, base central de esta Tesis, se ha conseguido que en el en el área sanitaria de Lugo, el índice de sospecha clínica y de diagnóstico precoz de la EC haya aumentado enormemente, alcanzando un incidencia muy alta en niños y casi triplicando la incidencia en adultos incluso con alta detección en pacientes ancianos.

Una política tendiente a descubrir nuevos casos y, efectiva a nivel de costos, podría reducir significativamente la morbilidad y la mortalidad asociada con la enfermedad no tratada.

CAPÍTULO 2:

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo general

Optimizar y analizar el rendimiento diagnóstico del uso de biomarcadores en el diagnóstico de la EC mediante la utilización de algoritmos integrados en el SIL.

2.1.2 Objetivos específicos

1. Analizar el papel de los marcadores serológicos bioquímicos y genéticos para reducir el número de biopsias realizadas en la población pediátrica.
2. Establecer resultados serológicos después de 2 años de una DLG en la población pediátrica.
3. Evaluar la tasa de detección de nuevos casos de EC en la población adulta y anciana y la utilidad del ADE en el diagnóstico de EC.
4. Estudiar la incidencia de EC en todos los grupos de edad mediante un algoritmo computarizado estandarizado e integrado en el SIL del laboratorio y estudiar el impacto de los biomarcadores serológicos disponibles y los aspectos clínicos según los grupos de edad.
5. Desarrollar y validar un programa de mejora para el diagnóstico de la EC que comprende la modificación de los VR para niños y adultos y, el estudio de rendimiento diagnóstico de los biomarcadores en la BD en la población adulta.
6. Establecer un sistema de alerta de derivación rápida de confirmación diagnóstica de la EC.

2.2 JUSTIFICACIÓN

En tema de estudio, los objetivos y la metodología empleada se justifican en base a los siguientes aspectos:

2.2.1. La EC, un problema de salud pública

La EC, que alguna vez fue catalogada como poco común, ahora se ha convertido en una enfermedad común a nivel mundial (240), y es considerada como uno problema de Salud Pública (241) que afecta a personas de todas las edades y en todo el mundo. Una característica notable de la EC es la gran variabilidad en la presentación clínica, que puede ser responsable de retrasos u omisiones de diagnóstico y en consecuencia complicaciones a largo plazo (89).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.2.2. Experiencia profesional en el ámbito de la autoinmunidad

En el contexto que a continuación se indica emerge el interés por el estudio sobre el diagnóstico de la EC.

Como facultativo especialista de área de bioquímica clínica y en el área de autoinmunidad y alergia, desde el año 2001 y 2005, respectivamente. Desde entonces realizo labor asistencial, he sido tutora de residentes (MIR, FIR, BIR, QUIR) y participado como cotutora en trabajos fin de grado en el Título de Grado de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela (USC), en el ámbito de la EC. Así mismo, soy tutora de prácticas externas curriculares en el grado de Nutrición y dietética de la USC. Por otra parte, colaboro con la Axencia Galega de Coñocemento en Saude (ACIS) desde el año 2019 como programadora docente y ponente de los cursos "Enfermidade celíaca: criterios diagnósticos actuáis e seguimiento da dieta sen glute" (10 ediciones), "Enfermedades autoinmunes. Abordaje dende o laboratorio" (4 ediciones). Por otra parte, he participado en diferentes cursos acreditados por el SERGAS, como coordinadora y ponente, que están relacionados con la especialidad de bioquímica clínica. A nivel europeo soy autora y ponente del curso "Diagnóstico serológico de la enfermedad celíaca" acreditado con 1 crédito ECMEC®, disponible en la plataforma *on line* XPEER, y dirigido a especialistas de Medicina de Familia, Pediatría, Alergia e Inmunología y Bioquímica médica de toda Europa.

Por otra parte, soy autora y coautora de más de 40 comunicaciones orales y tipo póster sobre EC presentados en congresos nacionales e internacionales de Sociedades Científicas de la EC, Medicina de Laboratorio y Química Clínica.

En el ámbito de la calidad asistencial soy la responsable de la gestión de la calidad y del diseño y consecución de planes de mejora en el marco de la norma UNE-EN-ISO 15189 en la citada área.

Así mismo, participo en grupos de trabajo interhospitalarios relacionados con el diagnóstico de la EC y enfermedades autoinmunes y como miembro de la Sociedad Española de la Enfermedad Celiaca en el grupo de trabajo de pruebas diagnósticas

2.2.3. Necesidad en la práctica clínica de biomarcadores diagnósticos de EC mínimamente invasivos y sostenibles

Uno de los avances más importantes de los últimos años fue la publicación en el año 2012 de las Directrices para el diagnóstico de la EC de la ESPGHAN (185). Estas directrices se centraron en simplificar el diagnóstico de EC y evitar la biopsia en pacientes seleccionados. Se recomendó que los niños y adolescentes con síntomas sugestivos de EC e IgA-TG2 ≥10 veces el LSN confirmado por positividad de IgA-EMA, en una segunda prueba serológica, así como positividad para el HLA haplotipo DQ2 o DQ8, pueden diagnosticarse sin BD. En cualquier caso, el diagnóstico debía confirmarse mediante normalización serológica tras una DLG. Recientemente, se publicaron las directrices basadas en evidencia actualizadas y ampliadas (170).

Tras la publicación de la Guía ESPGHAN 2012, nuestro grupo de investigación inició un estudio con el objetivo de aplicar sus guías en una amplia población pediátrica con sospecha de EC. Una cuestión importante era analizar el papel de los biomarcadores serológicos bioquímicos y genéticos para reducir el número de biopsias realizadas en la población pediátrica.

Un biomarcador es una característica definitoria que se mide como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patógenos o respuestas a una exposición o intervención, incluidas las intervenciones terapéuticas. Dado que un biomarcador ideal debería proporcionar una "firma" para una afección, el desarrollo de biomarcadores requiere

USC DE COMPOSTELA

varias rondas de experimentación controlada y validación antes de que pueda usarse en la práctica clínica (240). Si bien muchos de los biomarcadores utilizados actualmente para la detección y el diagnóstico de la EC son bastante fiables, se necesitan biomarcadores sanguíneos que puedan predecir la presencia de anomalías de las vellosidades incluso sin realizar BD y biomarcadores que puedan ayudar en el seguimiento de la enfermedad (240).

Una deficiencia del procedimiento diagnóstico actual de la EC es la necesidad de realizar BD invasivas para confirmar la enfermedad en una parte sustancial de los pacientes (242) ya que aunque la precisión diagnóstica de los autoanticuerpos es excelente, en casos bien seleccionados y la IgA-TG2 podría ser un parámetro cuantitativo de la actividad de la enfermedad, estos marcadores no pueden reemplazar la BD diagnóstica en todos los casos (240).

La atrofia de las vellosidades es el sello distintivo de la EC, que se revierte después de la implementación a la DLG. Si bien la respuesta clínica a la DLG es evidente en semanas y meses; la reversión de los cambios de la mucosa lleva meses e incluso años (89,164) Además, a pesar de seguir DLG, es posible que no se logre una recuperación completa de las vellosidades especialmente en adultos.

La BD es la piedra angular para el diagnóstico de la EC. Además de ser el estándar de oro para el diagnóstico inicial de la EC (240).

La endoscopia con BD es un procedimiento invasivo y costoso, además, una evaluación correcta de las biopsias requiere un patólogo experimentado y muestras de biopsia de alta calidad y bien orientadas. Además, puede proporcionar resultados no concluyentes o incluso falsos, debido a que la enfermedad con frecuencia es parcheada, las limitaciones técnicas y la variabilidad entre observadores; especialmente si no hay atrofia vellositaria grave. De hecho, existe un debate activo entre la comunidad científica experta en la EC sobre si se deben realizar biopsias u omitirlas al realizar un diagnóstico de EC (240).

El uso apropiado de una herramienta menos invasiva y más objetiva agregaría confiabilidad al diagnóstico. Este enfoque de “no biopsia” es una necesidad decisiva para la población pediátrica, ya que permite evitar procedimientos endoscópicos estresantes en niños, si son innecesarios. Este enfoque se basa en la correlación existente en niños entre los niveles de Ac IgA-TG2 y la evaluación de la atrofia de la mucosa según la clasificación de Marsh. Varias líneas de evidencia han demostrado que los pacientes con atrofia de las vellosidades tienen niveles de IgA-TG2 marcadamente elevados (240,243–246).

Una pregunta relevante es "¿podemos demostrar/predecir la atrofia de las vellosidades por medios no invasivos?" (240).

En este contexto, en otros países, surgen diferentes propuestas para reducir el número de BD en edad pediátrica (188,242,247).

Por otra parte, determinadas técnicas diagnósticas de la EC, como detección de IgA-EMA requiere el uso de tejido esofágico de mono (248). Encontrar alternativas para reducir o evitar el uso de tejidos de mono es un aspecto primordial.

En base a lo expuesto, en nuestro ámbito, surge la propuesta que corresponden a los objetivos 1 y 2 de esta Tesis Doctoral: 1) Analizar el papel de los marcadores serológicos bioquímicos y genéticos para reducir el número de biopsias realizadas en la población pediátrica.2) Establecer resultados serológicos después de 2 años de una DLG en la población pediátrica.

Este último objetivo, responde por otra parte a que los criterios de valoración del tratamiento incluyen no sólo la reversión de los síntomas, la normalización de las anomalías inmunológicas y la curación de la mucosa, sino también el mantenimiento de la remisión de la enfermedad mediante el estricto cumplimiento de la DLG.

USC DE COMPOSTELA

Por otra parte, dado que la EC afecta a otros grupos de edad, es de interés encontrar biomarcadores útiles para el diagnóstico de EC en estos grupos de edad.

En los últimos años ha ganado interés el estudio de la EC en la edad adulta media y tardía. Es importante señalar que una cuarta parte y una quinta parte de la EC se diagnostican a la edad de 40 años y ≥ de 65 años, respectivamente (249).

Cabe mencionar que la inespecificidad de las manifestaciones en la edad adulta tardía puede ser responsable de que no se diagnostique en el 60% de los pacientes (249). Reconocer los síntomas y signos clínicos de la EC, incluidos los extraintestinales como la anemia, es un paso importante.

En particular, la anemia se registra hasta en el 50% de los casos de EC de adultos/ancianos recién diagnosticados. Además, la anemia puede ser la única manifestación de la EC (249). En este contexto, hay que afirmar que el reconocimiento erróneo de la asociación de manifestaciones extraintestinales como la anemia y la EC podría retrasar su diagnóstico años (107). La etiología multifactorial de la alta prevalencia de anemia en la edad adulta media y tardía puede contribuir de manera importante a la EC infradiagnosticada (250) Además, existen diferencias en las pruebas de EC según la edad o el sexo. Por tanto, los hombres jóvenes son los que se someten a pruebas con mayor frecuencia (251).

De gran preocupación es la creciente incidencia de EC entre adultos y ancianos y la morbilidad relacionada con la EC (101,249) A esta situación se suma el hecho de que la anemia es considerada un síndrome geriátrico (252); siendo responsable de la morbilidad y la mortalidad (252,253). Asimismo, en estos pacientes se deben recomendar pruebas séricas de detección de EC mínimamente invasivas. Como parte de estas pruebas de detección, el ADE se volvió de particular interés, ya que es una prueba de rutina y fácilmente disponible que podría ser útil para predecir la EC (254–256), independientemente del estado de la anemia (254).

De lo anteriormente expuesto surge el objetivo 3 plasmado en este documento: 3) Evaluar la tasa de detección de nuevos casos de EC en la población adulta y anciana y la utilidad del ADE en el diagnóstico de EC

La consecución de los objetivos planteados puede contribuir a la iniciativa “One Health” (enfoque integrado y unificador para equilibrar y optimizar la salud de las personas, los animales y el medio ambiente) (257).

2.2.4. Necesidad de estudios de incidencia en todos los grupos de edad

En los últimos treinta años se ha observado el incremento de la incidencia de la EC(38); emergiendo como un importante problema de salud pública (258). Los estudios de revisión y metaanálisis muestran hasta un 7,5% en las últimas décadas con diferencias geográficas y de edad (37,38). Estas diferencias se han atribuido a la prevalencia de HLA DQ2, el consumo de trigo (37), los patrones de presentación de EC relacionados con la edad (49,50,259), así como a los paradigmas de prueba y diagnóstico (38,170,185,260). Por tanto, se requieren más estudios sobre la incidencia de la EC.

Por otro lado, se requieren estudios de incidencia en todos los grupos de edad, ya que se sabe que existe variabilidad en la forma de presentación y en los puntos de corte de las pruebas diagnósticas. En una reciente revisión sistemática y metaanálisis (38), que define la incidencia mundial de EC (50 estudios con datos adecuados para el análisis), solo 21 estudios mostraron incidencia de EC en todos los grupos de edad, pero se establecieron con criterios de diagnóstico no homogéneos.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, se formula el objetivo 4 de esta Tesis Doctoral: 4. Estudiar la incidencia de EC en todos los grupos de edad mediante un algoritmo

USC DE COMPOSTELA

computarizado estandarizado e integrado en el SIL del laboratorio y estudiar el impacto de los biomarcadores serológicos disponibles y los aspectos clínicos según los grupos de edad. Se fundamenta en el uso de un algoritmo único estandarizado que incluya pruebas serológicas, realizadas bajo control de calidad ISO, programas de comparación entre laboratorios para el análisis e interpretación de los resultados UK-NEKAS, SEQC y el sistema de calidad *Quality Club Control* (ThermoFisher, Friburgo, Alemania].

2.2.5. Necesidad de implementación de protocolos de mejora en el diagnóstico de la EC

El diagnóstico de la EC ha mejorado sustancialmente con la disponibilidad de anticuerpos altamente sensibles frente la IgA-TG2, IgA-EMA y IgG-DGP(188,261) y la demostración de correlaciones entre atrofia severa de las vellosidades duodenales y títulos elevados de IgA-TG2 e IgA-EMA (243–246,262).

Sin embargo, y en base a la experiencia acumulada, periódicamente se reevalúan los criterios diagnósticos y los puntos de corte de los biomarcadores serológicos. Sirva como ejemplo la ESPGHAN que actualizó la guía 2012 en el año 2020, teniendo en cuenta la bibliografía publicada en la literatura científica como resultado del uso en la práctica clínica de la guía publicada en el año 2012. (172).

A pesar de que algunos estudios confirmaron que el valor umbral × 10 LSN tiene un muy buen rendimiento diagnóstico, varias líneas de evidencia en adultos sugieren que el corte de IgA-TG2 debería ser diferente del de la población pediátrica para alcanzar una buena correlación con el cuadro histológico. En conclusión, la heterogeneidad de los resultados derivados de los estudios, la existencia de algunas condiciones que pueden dificultar el diagnóstico serológico de la EC (como la EC seronegativa y la atrofia de las vellosidades no celíacas) y que son mucho más comunes en adultos que en niños, podrían representar una limitación para el enfoque de "no biopsia" para el diagnóstico de EC en pacientes de la edad no pediátrica (240). Por otro lado, la EC del adulto puede pasar desapercibida debida a su heterogeneidad clínica. Además, los marcadores serológicos son menos sensibles que en niños ya que la lesión histológica puede ser parcial.(263) Por tanto, se constata la necesidad de adecuar los VR de los anticuerpos IgA-TG2 en la población adulta y anciana, usando técnicas sensibles a concentraciones bajas para poder detectar pequeñas elevaciones en la concentración de los anticuerpos específicos.

En nuestro ámbito, derivado de lo expuesto y como consecuencia de los objetivos 1-4 se formularon los objetivos 5 y 6 que se recogen en esta Tesis Doctoral: 5. Desarrollar y validar un programa de mejora para el diagnóstico de la EC que comprende la modificación de los VR para niños y adultos y, el estudio de rendimiento diagnóstico de los biomarcadores en la BD en la población adulta. 6. Establecer un sistema de alerta de derivación rápida de confirmación diagnóstica de la EC.

2.2.6 Necesidad de un algoritmo diagnóstico aplicable a diferentes grupos de edad

Las recomendaciones de detección de EC no presentan unanimidad. Sirvan como ejemplo:

El AGA (173) recomienda la prueba de EC en los siguientes casos: personas asintomáticas con pacientes con EC de primer grado, pacientes con algún síntoma o signo digestivo, o evidencia de laboratorio que sugiera EC.

Las recomendaciones de la NASPGHAN (173,264) incluyen a niños asintomáticos con afecciones asociadas con una mayor prevalencia de EC que tienen un familiar de primer

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

grado con EC, deficiencia selectiva de IgA, diabetes mellitus tipo 1, tiroiditis autoinmune, síndrome de Down, síndrome de Turner y síndrome de Williams.

NICE (191), recomienda pruebas serológicas a personas que presenten cualquiera de los siguientes aspectos: síntomas abdominales o gastrointestinales persistentes e inexplicables, retraso en el crecimiento, fatiga prolongada, pérdida de peso inesperada, problemas bucales severos o persistentes. úlceras, deficiencia inexplicable de hierro, vitamina B12 o folato, un familiar de primer grado con EC o con diabetes mellitus tipo 1 o enfermedad tiroidea autoinmune en el momento del diagnóstico, o cualquiera de las siguientes afecciones: síndrome de Down, síndrome de Turner, síntomas neurológicos inexplicables (especialmente neuropatía periférica o ataxia), infertilidad inexplicable o aborto espontáneo recurrente, defectos del esmalte dental, trastorno metabólico óseo (densidad mineral ósea reducida u osteomalacia), niveles persistentemente elevados de enzimas hepáticas, con causa desconocida.

La declaración de calidad 1 de NICE sobre pruebas serológicas para EC (265) postula que

> "a las personas con mayor riesgo o con síntomas de EC se les ofrece una prueba serológica para la enfermedad celíaca". Quizás uno de los aspectos más notables de esta declaración es que recopila "lo que significa la declaración de calidad para diferentes audiencias", incluidas personas que pueden tener o que están en riesgo de desarrollar EC, profesionales de la salud, servicios de comisiones y, finalmente, proveedores de atención médica. Esta afirmación se basa en que el infradiagnóstico de EC implica riesgo de complicaciones y mala calidad de vida, mientras que realizar pruebas serológicas a individuos con mayor riesgo o manifestaciones de EC mejorará la detección y el diagnóstico, así como el tratamiento.

Las recomendaciones del Grupo de Trabajo Español sobre diagnóstico de EC (124) incluyen algoritmos de AP y terciaria para coordinar la detección, el diagnóstico, los resultados y el tratamiento de la EC.

Contrariamente a las recomendaciones mencionadas, la *United States Preventive Services Task Force* (USPSTF) (266) ha recomendado no realizar pruebas en adultos, adolescentes y niños que no presenten signos o síntomas de EC.

En el uso un algoritmo único y su aplicación informatizada en la práctica clínica se fundamentan los estudios incluidos en esta Tesis Doctoral.

2.2.7 Necesidad de un mecanismo rápido de confirmación diagnóstica de la EC para no retrasar el comienzo del tratamiento y evitar los falsos negativos en pacientes que optan por comenzar la DLG antes de la biopsia

En la actualidad el único tratamiento de la EC es la supresión dietética del gluten de por vida. Una DLG es una intervención segura desde el punto de vista nutricional que permite la remisión de la enfermedad, incluida la curación de la mucosa, sin mayores riesgos (89). El retraso de la instauración de la DLG provoca alteraciones estructurales y funcionales de la mucosa, con riesgo de malignización y de problemas autoinmunes (124). Este retraso surge en muchas ocasiones de la dificultad de acceso desde la AP a la hospitalaria en el ámbito de la especialidad de digestivo que debe confirmar la EC mediante BD. Ello es debido a las listas de espera actuales en el SERGAS. Además, la instauración de la DLG sin el diagnóstico definitivo puede dar lugar a falsos negativos o a diagnósticos no concluyentes. Acortar el tiempo entre la detección de la enfermedad (con las pruebas bioquímicas positivas) y la confirmación diagnóstica (para la rápida instauración del tratamiento), mejora

la calidad de vida de los enfermos, reduce las comorbilidades y garantiza la seguridad de los celíacos que en último término repercute en la Sanidad Pública.

Como consecuencia de lo anteriormente expuesto, el objetivo 6 de esta Tesis Doctoral, dada la relevancia de instaurar un diagnóstico y tratamiento precoz de la EC, es 6. Establecer un sistema de alerta de derivación rápida de confirmación diagnóstica de la EC. Se pretende reducir el tiempo de espera para la confirmación diagnóstica, agilizar el flujo de pacientes desde AP a la unidad de gastroenterología hospitalaria y garantizar la correcta indicación de una DLG de por vida.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 3:

MATERIAL Y MÉTODOS

En este apartado se recogen contenidos de las siguientes publicaciones y programas.

Cabo Del Riego JM, Núñez Iglesias MJ, García-Plata González C, Paz Carreira J, Álvarez Fernández T, Dorado Díaz A, Villar Mallo N, Penedo Pita M, Novío Mallón S, Maíz Suárez L, Freire-Garabal Núñez M. Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population. Int J Environ Res Public Health. 2022 Apr 20;19(9):5020. doi: 10.3390/ijerph19095020.Anexo 10.1.

Cabo Del Riego JM, Núñez-Iglesias MJ, Paz Carreira J, Blanco Hortas A, Álvarez Fernández T, Novío Mallón S, Zaera S, Freire-Garabal Núñez M. Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion. Int J Environ Res Public Health. 2022 Dec 21;20(1):66. doi: 10.3390/ijerph20010066. Anexo 10.2.

J.M. Cabo del Riego, M.J. Núñez-Iglesias, T. Álvarez Fernández, A. Blanco-Hortas, J. Paz-Carreira, S. Novío, M. Freire-Garabal. Enfermedad celiaca del adulto: autoanticuerpos versus biopsia duodenal. Gastroenterología y Hepatología 2020, 45:33-34. Anexo 10.3.

Julia María Cabo del Riego, María Jesús Núñez-Iglesias, Andrés Blanco Hortas, Tamara Álvarez Fernández, Silvia Novío Mallón, Sofía Zaera, José Paz Carreira, Carmen García-Plata González, José Abel González-Ramírez and Manuel Freire-Garabal Núñez. Time trends incidence of celiac disease in a Spanish population. En fase de revisión. Anexo 10.4.

"Programa de mejora 7-2023: Modificación de los Valores de Referencia en niños y adultos para la Enfermedad Celíaca, basados en un estudio prospectivo propio con resultados histológicos de biopsias intestinales" igualmente del anexo: "Algoritmo diagnóstico Criterios informáticos_Petitorio electrónico" con el código-Anexo1 PNT_10 Ed.3, aprobado en la fecha 30/06/2023 certificado por ENAC dentro de la norma UNE-EN-ISO 15189:2023 y que se aplicará en el Servicio de Análisis Clínicos para la mejora en el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca y la gestión de la demanda de biomarcadores serológicos para esta enfermedad". Anexo 10.5.

"Vía rápida de confirmación diagnóstica de la enfermedad celiaca" para mejorar la accesibilidad a las unidades de digestivo (pediátrico y adultos) de los pacientes que presenten autoanticuerpos específicos de enfermedad celíaca en AP y consultas de especialidades hospitalarias. Anexo 10.6.

Por otra parte, este apartado se estructura en un subapartado de "Metodología General", común a todos los objetivos, y uno específico para cada objetivo formulado.

En la Figura 42 se muestra el orden cronológico de los estudios realizados de acuerdo con los objetivos formulados.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 42. Orden cronológico de los estudios realizados.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.1. METODOLOGÍA GENERAL

3.1.1. Ámbito de estudio

HULA, hospital de referencia que presta atención directa a 215.345 habitantes de la zona central de la provincia de Lugo; dando cobertura a 42 ayuntamientos de la zona centro del área geográfica de Lugo. Además, es de referencia para otras 150.000 personas cuya residencia se encuentra en las zonas norte y sur de dicha provincia.

Figura 43: Ámbito de los estudios que se recogen en esta Tesis Doctoral. Zona Centro del Área Sanitaria de Salud de Lugo, A Mariña y Monforte de Lemos. SERGAS, Conselleria de Sanidad. Xunta de Galicia, España.

3.1.2. Procedimiento

Se estableció el siguiente procedimiento:

1) En el año 2012, la autora de esta Tesis Doctoral diseñó un algoritmo computarizado para la estandarización del procedimiento de diagnóstico serológico, de acuerdo con las guías nacionales y europeas actualizadas (185), que posteriormente fue utilizado por los profesionales del área sanitaria implicados en el diagnóstico de la EC.

2) Dado que las pruebas serológicas tienen un papel principal en el diagnóstico de EC, el proceso de control de calidad de esas pruebas estuvo garantizado mediante un procedimiento de evaluación de calidad interno y externo:

(a) Se analizaron muestras de control positivas y negativas en cada ejecución;

(b) Se acreditaron y Re acreditaron los procedimientos de acuerdo con la norma UNE-EN-ISO 15189 de laboratorios clínicos (Tabla10).

(c) El laboratorio participó exitosamente en "Programas de Comparación Inter laboratorios para el Análisis e Interpretación de los Resultados" como UK NEKAS, SEQC y el *Qulity Club Control* (ThermoFisher, Friburgo, Alemania);

(d) La calidad de la evaluación histopatológica estuvo garantizada mediante biopsia estandarizada y análisis de muestras por parte de expertos;

3) Los/as residentes del área sanitaria, con sospecha o riesgo de EC, fueron derivados al Laboratorio Clínico del HULA para confirmar el diagnóstico de EC;

4) Los diferentes estudios y procedimientos que conforman esta Tesis Doctoral se diseñaron y desarrollaron desde el año 2012 hasta el 2023 de acuerdo con las directrices establecidas por el Comité Territorial (Santiago-Lugo) de la Red Gallega de Comités de Ética

USC DE COMPOSTELA

en Investigación, la Gerencia del Área Sanitaria, la responsable de calidad, la jefa de Servicio de Laboratorio Clínico o la Dirección de Procesos Asistenciales del HULA, según correspondiese.

Tabla 10. Acreditaciones y reacreditaciones de procedimiento de laboratorio.

	Acreditación	Reacreditación
UNE-EN-ISO 15189 de laboratorios clínicos	mayo 2011	2013
		2015
		2017
		2019
		2020
		2021
		2022
		2023

3.1.3. Método diagnóstico

Se recoge en la Tabla 11 y se desglosa a continuación de acuerdo con el tipo de test.

3.1.3.1. Diagnóstico serológico

Todas las pruebas serológicas realizadas fueron acreditadas según la norma UNE-EN-ISO 15.189 para laboratorios clínicos (Tabla 10).

Las pipetas utilizadas para las diluciones siguieron la política de trazabilidad metrológica de ENAC para asegurar la validez de los resultados, y fueron verificadas y calibradas cumpliendo la norma ISO 8655, lo cual fue realizado por un laboratorio acreditado por AENOR y ENAC según la norma ISO 17025.

Todas las muestras de suero se analizaron para determinar la IgA sérica total mediante nefelometría BNII de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (Siemens BNII, Oststeinbek, Alemania).

En el caso de pacientes con deficiencia selectiva de IgA, determinamos como primer paso la IgG-DGP y realizamos al menos una prueba adicional de clase de IgG (IgG-TG2 e IgG-EMA). Si estas pruebas eran positivas, se programaba una biopsia para estos pacientes.

Se analizaron muestras de cada uno de los pacientes para el diagnóstico de EC mediante anticuerpos IgA-TG2 (transglutaminasa recombinante humana, EliA Celikey IgA Kit ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) e IgG-DGP (anticuerpos IgG humanos, conjugado EliA IgG); empleando un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (EliA). Ambas pruebas se realizaron con el instrumento automatizado de Fluoroenzimoinmunoensayo INMUNOCAP 250 (Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para anti-IgA-TG2, los resultados se consideraron positivos y negativos en IgA-TG2 >8 U/mL o <2 U/mL, respectivamente. Entre 2 y 8 (U/mL), considerada zona gris (bordeline positivo), se estableció una prueba de seguimiento. Estos intervalos biológicos fueron establecidos por consenso clínico en nuestra población pediátrica española y basándose en estudios previos (26,164).

Los niveles de anticuerpos se calcularon en unidades por mililitro utilizando una curva estándar de 6 parámetros, según lo proporcionado por el fabricante (rango entre 0 y 128 U/mL). Calculamos el valor exacto de IgA-TG2 si las concentraciones de anticuerpos estaban por encima de la medición rango. Los sueros se diluyeron en serie y los valores se corrigieron mediante el factor de dilución, para obtener un valor dentro de la curva de calibración.

USC DE COMPOSTELA

La prueba de IgA-EMA se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) (portaobjetos AESKU, AESKU-Diagnostics, Wendelsheim, Alemania) que utilizó secciones de esófago distal de mono como sustrato. Esta prueba fue implementada en el laboratorio por la autora de esta Tesis para la correcta aplicación del algoritmo. Los ensayos IgA-EMA fueron leídos en el microscopio de fluorescencia por la autora de esta tesis y, en escasas ocasiones otro observador experimentado, los cuales realizaron intercomparaciones mensuales como exige la norma ISO. Un título de 1:10 se estableció como umbral positivo (normas del fabricante) y las muestras positivas se diluyeron en serie desde títulos de 1:10 a 1:2560. Se midieron anticuerpos IgA-EMA en todas las muestras con valores de IgA-TG2 > 2 U/mL.

3.1.4. BD

Se tomaron un mínimo de 4 biopsias de mucosa del intestino delgado del duodeno distal y al menos 1 del bulbo duodenal anatómico.

Los hallazgos histopatológicos fueron clasificados según la clasificación de Marsh-Oberhuber (171) por un patólogo experimentado.

3.1.5. Genotipado

El genotipado de HLA se realizó utilizando los kits DQ de reacción en cadena de la polimerasa con cebador único específico (SSPPCR) DQA1*05, DQB1*02, DQA1*0301, DQB1*0302, DQA1*0505, DQB1*0202 para detectar DQ2.5, DQ2.2, y haplotipos DQ8 (Celiacstrip HLA DQ2DQ8 OPERON, Inmuno and Molecular Diagnostics, Zaragoza, España).

Tabla 11. Métodos diagnósticos y VR de EC.

	Test	Método	VR
Anticuerpos específicos	IgA-TG2	EliA Celikey IgA Kit ThermoFisher Scientific Waltham, MA, USA	≤ 2 U/mL negativo 2,1-8 U/mL zona gris ≥ 8 U/mL positivo (Intervalos biológicos)
	IgG-DGP	EliA Celikey IgA Kit ThermoFisher Scientific Waltham, MA, USA	≥ 7 U/mL positivo (instrucciones del fabricante)
	IgG-TG2	EliA Celikey IgA Kit ThermoFisher Scientific Waltham, MA, USA	≥ 7 U/mL positivo (instrucciones del fabricante)
	IgA-EMA	Inmunofluorescencia indirecta AESKU-Diagnostics, (Wendelsheim, Germany)	Título <1:10
IgA	IgA total en suero	Nefelometría Siemens BNII, (Oststeinbek, Germany)	≥ 70 mg/dL positivo (instrucciones del fabricante)
Genética	Genotipado HLA Haplotipos DQ2 y DQ8	SSPPCR Immuno and Molecular Diagnostics, (Zaragoza, Spain)	Positivo/negativo
BD	Biopsia y análisis histológico	Contaje de linfocitos por morfometría	Clasificación Marsh-Oberhuber (163)

Abreviaturas: BD, biopsia duodenal; IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio; IgG-GDP, anticuerpos IgG frente péptidos de gliadina desaminados; IgA-TG2, anticuerpos IgA específicos antitransglutaminasa tisular tipo 2; IgG-TG2, Anticuerpos IgG oanticuerpos específicos de transglutaminasa tisular tipo 2; HLA, antígeno mayor de histocompatibilidad; SSPPCR, reacción en cadena de la polimerasa con cebador único específico; VR, valor de referencia.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.1.6. Consideraciones ético-legales

Los estudios englobados en esta Tesis Doctoral cumplen con la Declaración de Helsinki sobre investigación biomédica con seres humanos, así como con las nuevas y sucesivas versiones actualizadas de la legislación aplicable, de 2012 a 2020; incluyendo la elaboración de registro clínico prospectivo de carácter asistencial con la autorización de la Gerencia del Área Sanitaria y del Comité Territorial (Santiago-Lugo) de la Red Gallega de Comités de Ética en Investigación y autorizado por la gerencia del HULA (enero 2012), las sucesivas revisiones y aprobaciones por parte del citado Comité de Ética (2017/327; 2019/098 y ampliación el proyecto hasta el año 2022). Los datos fueron seudonimizados y analizados de acuerdo con la legislación vigente para garantizar la protección de datos personales (Reglamento General de Protección de Datos, Reglamento UE 2016/679 y Ley Orgánica 3/2018).

Los planes de mejora están autorizados por la responsable de calidad y la jefa de Servicio de Laboratorio Clínico.

La vía rápida está autorizada por la Dirección de Procesos Asistenciales del HULA.

3.2 Material y métodos para los Objetivos 1 y 2

3.2.1. Diseño y sujetos de estudio

Estudio prospectivo de todos los nuevos casos diagnosticados de EC pediátrica, según el algoritmo ESPGHAN 2012, desde enero de 2012 hasta enero de 2019.

Se estudiaron todos los niños con manifestaciones clínicas de sospecha de EC o que aún estaban asintomáticos, pero con riesgo elevado de EC (5.641 pacientes pediátricos, con edad entre 9 meses y 16 años).

Todos los pacientes fueron remitidos al Laboratorio de Análisis Clínicos del HULA por un gastroenterólogo pediátrico o desde los centros de salud del SERGAS para confirmar el diagnóstico de EC. Los pacientes pediátricos fueron seguidos durante al menos hasta 2 años, de esta forma se pudo estudiar la eficiencia y seguridad de la aplicación de las guías.

Previamente a la adaptación e integración de estos criterios se implementaron en el laboratorio dos nuevas técnicas, necesarias para la ejecución del algoritmo:

1) Ac IgA-EMA, para la confirmación de valores positivos de IgA-TG2. Con anterioridad a la puesta en marcha de la técnica en nuestro laboratorio, los Ac se enviaban a un laboratorio externo (Referens®, Barcelona). Su implantación ha redundado en reducción de recursos económicos y de tiempo de respuesta (datos que serán objeto de una futura publicación).
2) Ac IgG-DGP, recomendados en las guías ESPGHAN 2012 para niños menores de 2 años y déficit de IgA en sustitución de los Ac antigliadina nativa IgA. Estos últimos eran utilizados previamente con mucha menor especificidad.
3) Todas las técnicas fueron acreditadas con la norma UNE-EN-ISO 15189 de los laboratorios clínicos.

3.2.1.1 Diseño informático y reglas expertas

Así mismo, se estableció un petitorio electrónico único, que se ofertó a AP y hospitalaria, en el cual se solicita únicamente “perfil enfermedad celiaca” (eligiendo si el paciente es menor de 4 años o mayor de cuatro años/adulto) por todos los/as médicos/as peticionarios/as.

Las distintas pruebas se ejecutaron, siguiendo el algoritmo informáticos para evitar retrasos diagnósticos y pruebas innecesarias o redundantes (Figura 44). Este algoritmo fue

USC UNIVERSIDADE DE COMPOSTELA

elaborado por la autora de esta Tesis Doctoral siguiendo las guías ESPGHAN (Figuras 45 y 46).

Dichos criterios fueron adoptados en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HULA a partir de enero del año 2012 y se comenzó a hacer un registro clínico prospectivo de carácter asistencial aprobado por el Comité de Ética Territorial y autorizado por la Gerencia del HULA.

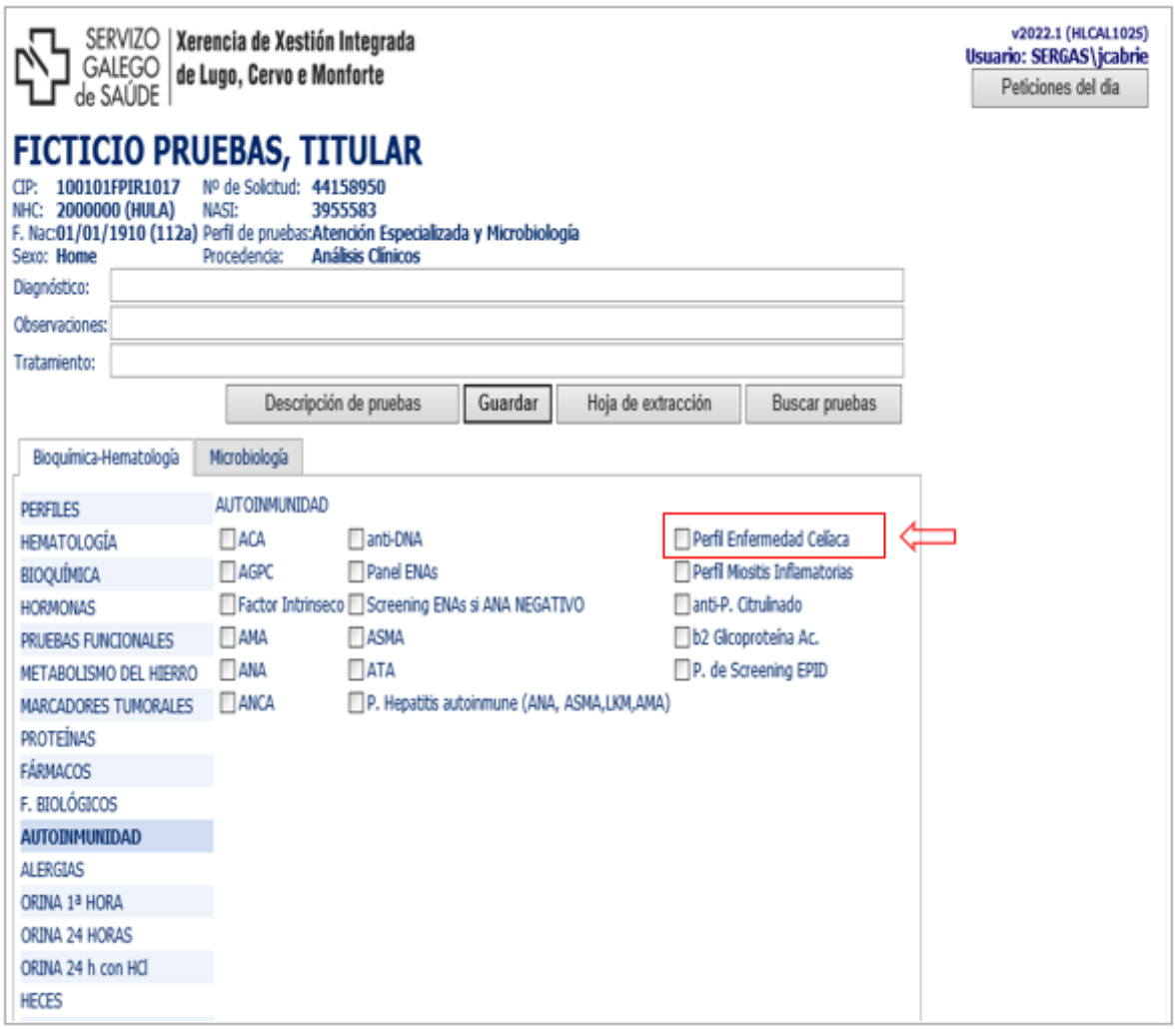


Figura 44. Nuevo petitorio electrónico con un único perfil de diagnóstico. Autorizado su uso en este manuscrito por la dirección de laboratorio de análisis clínicos.

A partir de este único petitorio y mediante algoritmos informáticos; utilizando un único tubo de extracción se ejecutaron las siguientes reglas informáticas expertas integradas en el SIL:

- Menores de 4 años: primera determinación (3 pruebas) = **Niveles de IgA pediátrica + IgA-TG2 + IgA-DGP.** Según los resultados se generan informáticamente los siguientes anticuerpos**:**
    1. Si: IgA < 35 mg/dL (déficit de IgA) + IgG-DGP ≥ a 7 U/mL = IgG-TG2.
    2. Si: IgA-TG2 >2 expandir determinación de IgA-EMA en todos los casos.
- Mayores de 4 años y adultos: primera determinación (2 pruebas) = **Niveles de IgA + IgA-TG2**

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1. SI IgA < 70 mg/dL (déficit de IgA) = expandir a IgG-DGP.
2. SI IgG-DGP ≥ a 7 U/mL generar IgG-TG2.
3. Si: IgA-TG2 >2 expandir determinación de IgA-EMA en todos los casos.

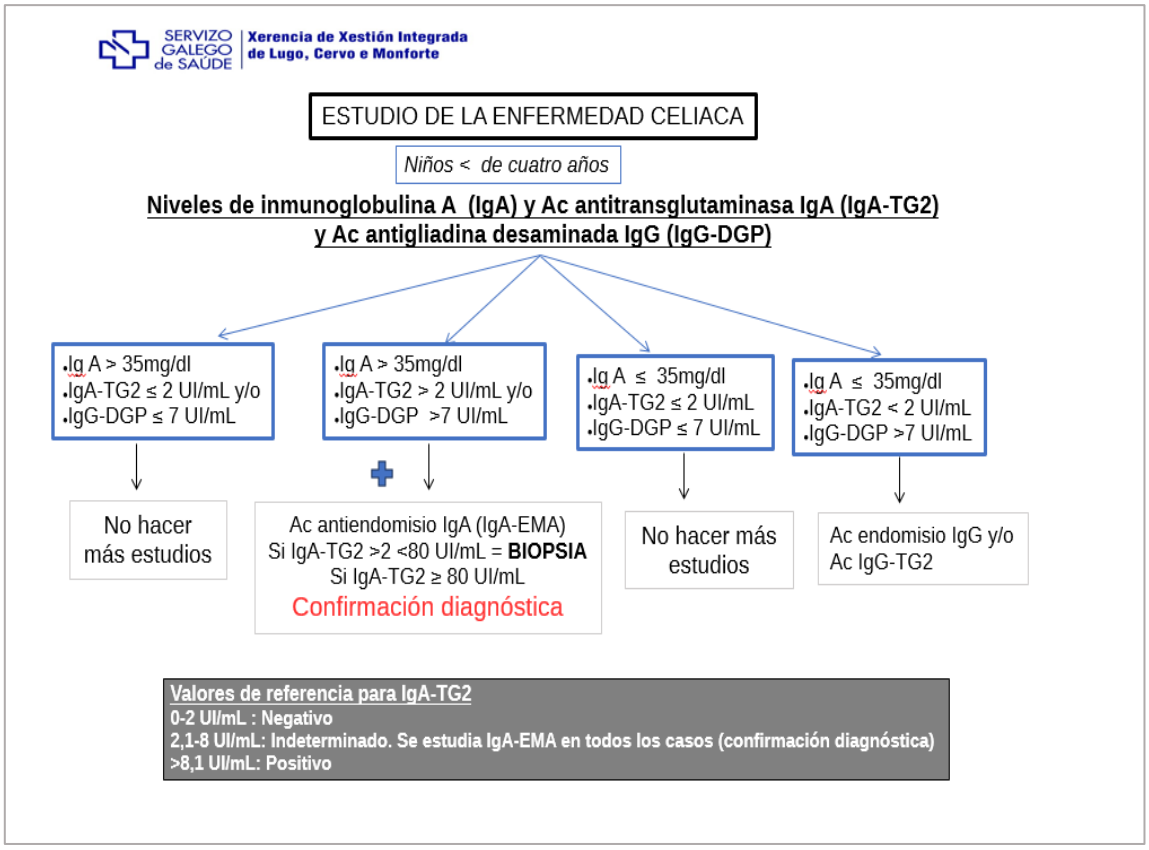


Figura 45. Algoritmo diagnóstico elaborado por la autora de esta Tesis Doctoral que fue integrado en el SIL para < de 4 años. Abreviaturas: IgA EMA, anticuerpos antiendomisio IgA; IgG-DGP, anticuerpos IgG anti péptidos de gliadina desaminados; SIL, Sistema Informático de Laboratorio.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

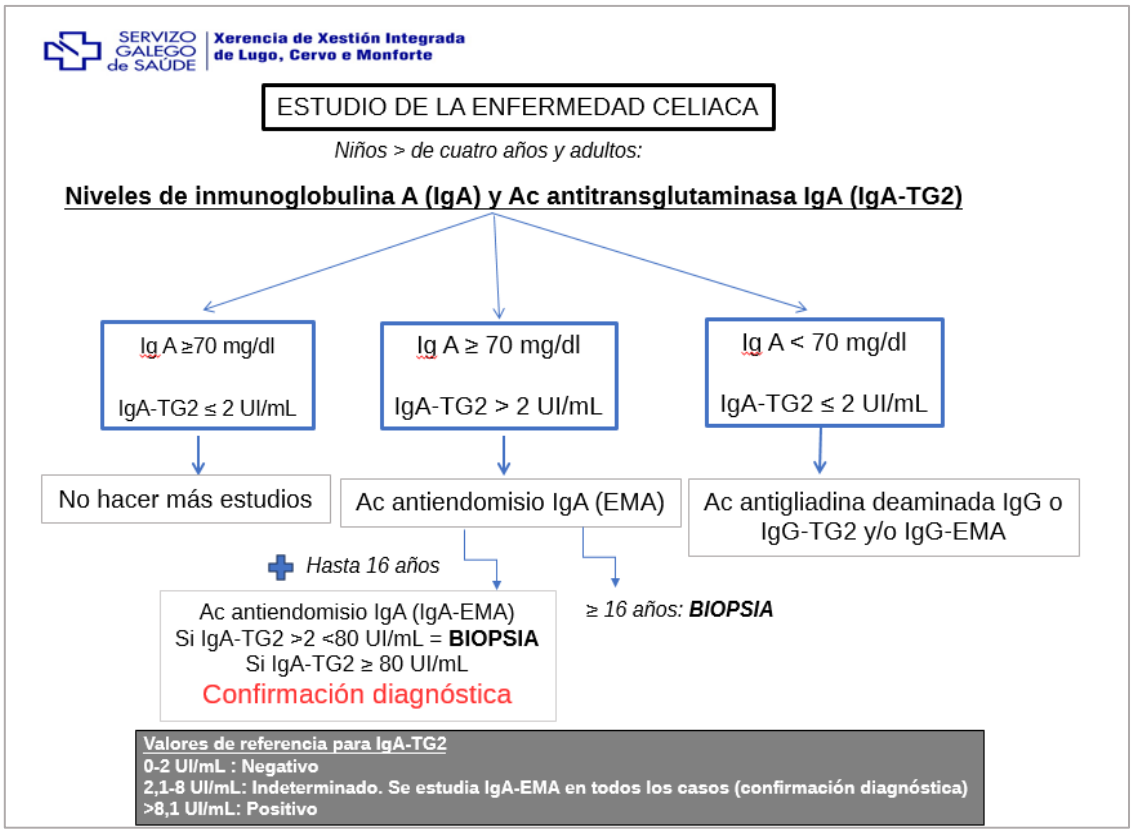


Figura 46. Algoritmo diagnóstico elaborado por la autora de esta Tesis Doctoral que fue integrado en el SIL para mayores de 4 años y adultos. Elaboración propia. Abreviaturas: IgA EMA, anticuerpos antiendomisio IgA; IgG-DGP, anticuerpos IgG anti péptidos de gliadina desaminados.

A continuación, se resume en la Figura 47 la aplicación del algoritmo a la práctica clínica habitual.

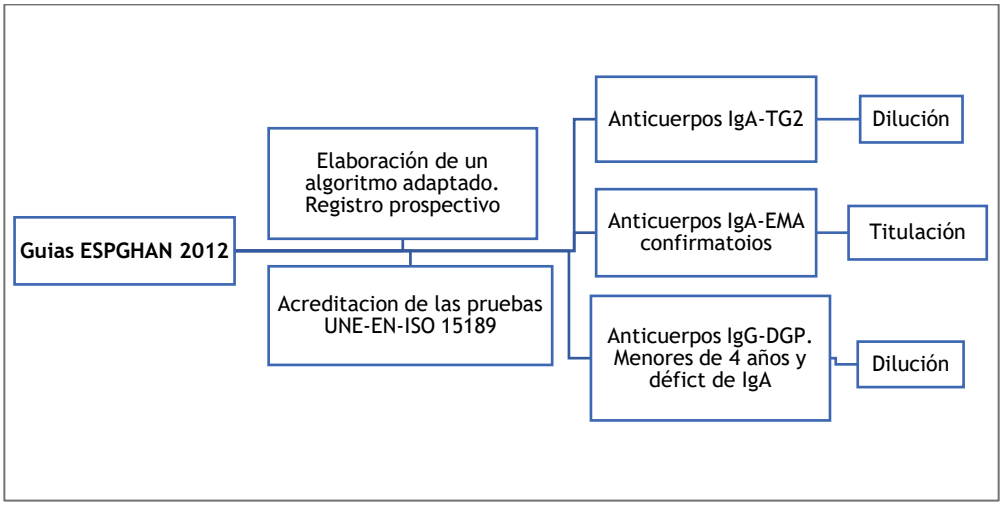


Figura 47. Secuencia de actuación para el desarrollo y aplicación del algoritmo diagnóstico y los biomarcadores de EC en el Laboratorio de Análisis Clínicos HULA. Elaboración propia. Abreviaturas: ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*. IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio; IgG-GDP, anticuerpos IgG frente péptidos de gliadina desaminados; IgA-TG2, anticuerpos IgA específicos antitransglutaminasa tisular tipo 2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.2.2. Diagnóstico serológico

Además de lo indicado en el apartado 3.1.3.1, de forma específica se ha tenido en cuenta:

- Inicialmente, para los niños sintomáticos(185), determinamos los niveles totales de IgA y los anticuerpos IgA-TG2. La decisión de utilizar IgA-TG2 como primer paso se basó en la alta sensibilidad y especificidad de la prueba, su amplia disponibilidad y su bajo costo (170,185).
- Dado que se conoce la posibilidad de falsos negativos para IgA-TG2 en niños <4 años(185), como evidencia adicional se determinó la IgG-DGP. En estos casos, nuestra elección se basó en varios motivos: que en algunos casos es el primer marcador que se positiviza (267); su disponibilidad en nuestro laboratorio y su bajo coste.
- La deficiencia de IgA se determinó según la edad de la siguiente manera: en pacientes <4 años, se calculó a partir de una curva lineal de valores de IgA pediátrica (268); para aquellos con edad ≥4 años se calculó según VR (70 mg /dL) y las pautas del fabricante.
- Para los Ac IgG-DGP sintético, los resultados se informaron como unidades; donde los valores <7 U/mL (pautas del fabricante) se consideraron normales. IgA-TG2 e IgG-DGP se probaron en un solo paso en niños < de 4 años o en el caso de niños ≥4 años con deficiencia de IgA.

3.2.3 Evaluación histopatológica de la mucosa intestinal

Se realizó según se describe en el apartado 3.1.4.

3.2.4. Genotipado

Se realizó según se describe en el apartado 3.1.5.

3.2.5. Seguimiento serológico de los pacientes

Se realizó desde el momento del diagnóstico durante 24 meses.

Durante el seguimiento se realizaron evaluaciones clínicas y de IgA-TG2. Se comprobó el porcentaje de disminución de los anticuerpos según el valor de estos al debut de la enfermedad.

3.2.6. Análisis estadístico

Los datos se muestran en frecuencias absolutas y relativas. La no normalidad de los datos nos llevó a utilizar estadísticas de síntesis como la mediana y los rangos intercuartílicos. Se utilizó una prueba no paramétrica (Kruskal-Wallis) para comparar las medianas de IgA-EMA e IgA-TG2 por grupos de edad. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$. Los cálculos se realizaron con SPSS 22.0.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.3 MATERIAL Y MÉTODOS PARA EL OBJETIVO 3

3.3.1. Diseño y sujetos de estudio

Estudio prospectivo de todos los pacientes con sospecha de EC cuya edad era ≥ 45 años, que fueron remitidos desde centros de AP, geriatría o gastroenterología al Laboratorio de Análisis Clínicos, Sección de Autoinmunidad de Inmunología del HULA, para confirmar el diagnóstico de EC; desde enero de 2012 hasta diciembre de 2021.

El número de pacientes estudiado fue de 9.066.

3.3.2. Evaluación clínica

Las manifestaciones de aparición de la EC se clasificaron en: manifestaciones gastrointestinales, manifestaciones extraintestinales y trastornos asociados (diabetes, enfermedad tiroidea autoinmune, enfermedad autoinmune sistémica, etc.). Además, se recogió la existencia de antecedentes familiares de EC.

3.3.3. Parámetros de laboratorio: bioquímicos y hematológicos

Todos los ensayos bioquímicos realizados están acreditados por las normas UNE-EN-ISO 15.189 para laboratorios clínicos (acreditación 2011; reacreditación 2013, 2015, 2017, 2019, 2020 y 2021).

Todas las pruebas se realizaron de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Se proporcionaron calibradores como parte del ensayo (Siemens®) y mensualmente se realizó un control de calidad externo por parte de la SEQC.

En la Tabla 12 se muestran los parámetros de laboratorio bioquímicos y hematológicos realizados, así como el método seguido y los VR.

Se utilizaron los equipos Sysmex XN-2000 ® (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza) y Advia Centauro XPT® (Siemens, Marburg, Alemania) para analizar los parámetros hematológicos y bioquímicos y se procesaron controles para cada uno de ellos.

La anemia se definió de acuerdo con las recomendaciones de la OMS sobre el tema, el *cut-off* para definir la anemia y su gravedad: nivel de hemoglobina <130 g/L en hombres y 120 g/L en mujeres (269). Sirvieron como criterio para definir parámetros hematológicos y bioquímicos según las recomendaciones del fabricante y la referencia de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQCML) (270).

Se estudió la implicación de cada parámetro estudiado en la anemia en dos grupos de pacientes (con EC de nuevo diagnóstico y sin EC), y se evaluaron las diferencias entre ambos grupos para cada una de las 12 variables.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 12. Parámetros bioquímicos y hematológicos.

Test	Método	VR
Parámetros hematológicos: Procesados en un Sysmex XN -2000 ® (Roche Diagnostics. Basel, Switzerland)		
Hb	Cyanide-free SLS hemoglobin method	>13 hombres >12 mujeres g/dL
Hct	Medición de impedancia mediante enfoque hidrodinámico	38,3-48,6% hombres 35,5-44,9 % mujeres
VCM	Parámetro calculado	81-99 fl.
ADE	Parámetro calculado	11-14,3%
Leucocitos	FFC	3.4-9.6 mil/L
Plaquetas	Medición de impedancia mediante enfoque hidrodinámico	135-317 mil/L Hombres 157-371 mil/L Mujeres
Test	**Método**	**VR**
Parámetros bioquímicos: procesados en un Advia Centauro XPT® (Siemens, Marburg, Germany)		
Hierro	COL	65-175 mg/dL Hombres 50-170 mg/dL Mujeres
IF	IA	22-322 ng/dL Hombres 10-291 ng/dL mujeres
TfR	IA	250-380 mg/dL
Índice de saturación de TfR	Parámetro calculado	15-50%
AF	LOCI Folato.	> 5,4 ng/mL normal 3,4 - 5,4 g/mL Zona gris 3,4 ng/mL. deficiencia
Vit B12	Q de éster de acridinio	140-490 pmol/L

Abreviaturas: ADE, ancho de distribución eritroide; AF, Ácido Fólico; COL, colorimetría; Hct, hematocrito; FA, ácido fólico; IF, ferritina; FFC, citometría de flujo de fluorescencia; GR, Glóbulos Rojos; IA, inmunoensayo; Q, quimioluminiscencia; PLT, plaquetas; SLS, lauril sulfato de sodio; TfR, transferrina; TS: saturación de transferrina; VCM, volumen corpuscular medio; VB12, vitamina B12; VR, Valor de Referencia. a VCM en fL = (% hematocrito/ (GR × 1012/L) ×103; ADE basado en el ancho de la curva de distribución y en el tamaño medio de celda. 1DE/VCM×100 donde DE y MCV son la desviación estándar del tamaño celular medio y el volumen corpuscular medio, respectivamente; Índice de saturación de TfR: hierro (transferrina×1,41) ×100.

3.3.4. Criterios de diagnóstico

El diagnóstico de EC en adultos requiere serología positiva (particularmente IgA-TG2) y cambios histológicos en la BD (Marsh tipo 3a-c) (89). Sin embargo, se espera que los criterios puedan cambiar en un futuro próximo, ya que los estudios han sugerido que el algoritmo de conservación de biopsia podría aplicarse tanto a adultos como a niños (271).

3.3.5. Análisis estadístico

Los valores se expresan en frecuencias absolutas y relativas. Para estudiar la relación entre variables categóricas se utilizó la prueba de Chi-cuadrado. En el caso de las relaciones entre variables continuas se determinaron las correlaciones y se contrastaron si eran significativamente diferentes de cero, mediante el uso de la prueba de Correlación. Se realizó un procedimiento de emparejamiento por puntuación de propensión, para seleccionar pacientes con EC ajustados por edad y sexo con una proporción de 1:2 frente a pacientes sin EC. Se realizaron 2 estudios de regresión logística para estudiar el efecto de diferentes factores sobre los pacientes con debut de EC y no EC. Los resultados se muestran como Odds ratios y sus IC. Todos los análisis se realizaron con el software estadístico R 3.6.3 R Core Team (272). Se adoptó un valor de $p < 0,05$ para una asociación significativa de variables.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.4 MATERIAL Y MÉTODOS PARA EL OBJETIVO 4

3.4.1 Diseño y sujetos de estudio

Estudio de incidencia. Se estudiaron todos los pacientes de edad pediátrica, adulta y anciana (19.564), que presentaban sospecha clínica de EC o eran grupo de riesgo de EC.

El periodo de estudio fue entre los años 2012 y 2019.

Se estableció este periodo de estudio tomando como referencia:

- La publicación de las dos guías ESPGHAN (2012 y 2020) para garantizar un análisis homogéneo de la población a estudio.
- Evitar el sesgo que supondría el cierre de las consultas especializadas durante la pandemia.

La Figura 49 muestra el algoritmo de diagnóstico estandarizado e EC que incluye anticuerpos específicos, IgA, genotipo HLA y evaluación histopatológica, aplicado a todo el rango etario.

La recopilación de todos de los casos diagnosticados de EC fue posible gracias a:

- Dos aspectos ya citados en la sección de metodología general: (a) En 2012, la autora de esta Tesis Doctoral diseñó un algoritmo computarizado para la estandarización del procedimiento de diagnóstico serológico, de acuerdo con las guías nacionales y europeas actualizadas (185), que posteriormente fue utilizado por los médicos del área sanitario; (b) los pacientes con sospecha o pertenecientes a grupo de riesgo de EC, fueron derivados al Laboratorio Análisis Clínicos del HULA para confirmar el diagnóstico de EC.
- El SERGAS cuenta con un sistema único de vinculación de historias clínicas (IANUS).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

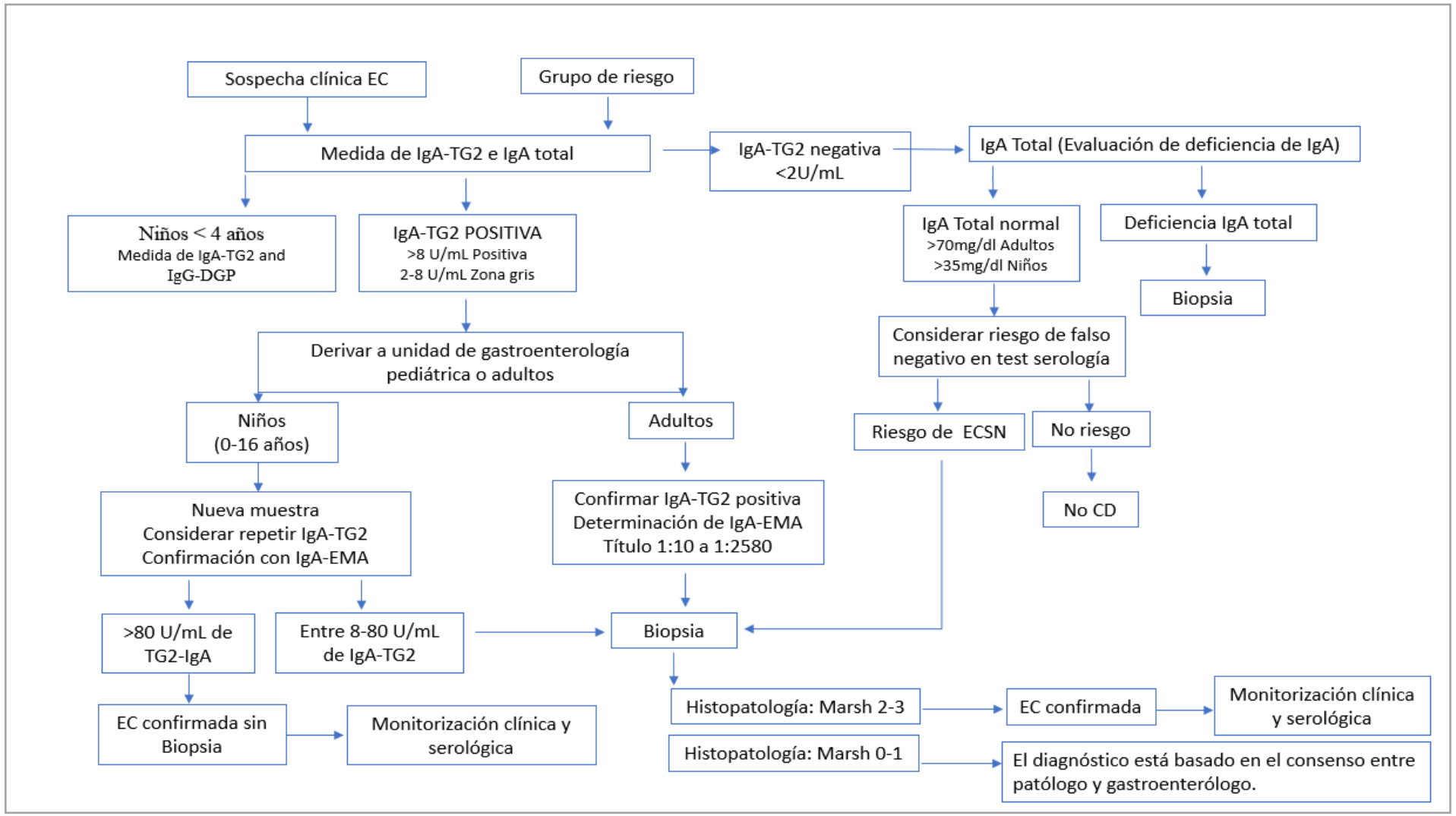


Figura 48. Diagrama de flujo del diagnóstico de EC integrado niños y adultos. Elaboración propia. Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; ECSN, enfermedad celiaca seronegativa; IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio; IgA TG2, anticuerpo IgA transglutaminasa tisular IgG-DGP, anticuerpos antigliadina desaminada.

3.4.2 Análisis estadístico

Las tasas de incidencia brutas anuales se calcularon como casos nuevos por 100.000 personas/año en todo el rango de edad. Para el cálculo de la incidencia se utilizaron datos del registro estadístico de Galicia y del padrón municipal de habitantes de 2012 a 2019. Tabulamos las tasas de incidencia según las categorías de edad 0 a 4, 5 a 19, 20 a 44, 45 a 64, 65 a 84, ≥85 y períodos de intervalos de 1 año.

Los resultados se resumieron con frecuencias absolutas y relativas en el caso de variables categóricas. Las variables continuas se presentaron mediante media y desviación estándar. Las comparaciones entre variables categóricas se realizaron con la prueba de Chi-cuadrado y se utilizó la prueba ANOVA para comparar medias en los grupos IgA-EMA e IgA-TG2 y de edad. La evolución suave de las incidencias a lo largo de los años por sexo y grupos de edad se modeló mediante el procedimiento Loess (Ajuste de Regresión Polinomial Local). Finalmente, se ajustó el modelo ANCOVA (análisis de covarianza) para estudiar las diferentes manifestaciones de la EC. Se consideran diferencias estadísticamente significativas con $p<0,05$. Los cálculos se han realizado con SPSS 22.0 y R 3.6.3.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.5 MATERIAL Y MÉTODOS PARA EL OBJETIVO 5

3.5.1. Muestra

Se revisaron los hallazgos histológicos de 293 biopsias de pacientes sometidos a endoscopia con BD, de las cuales 264 eran de pacientes con edad superior a 16 años, ya que por debajo de esta edad se aplican los criterios ESPGHAN.

Estas cifras corresponden a todas las biopsias duodenales realizadas en Lugo durante el periodo enero 2012-diciembre 2019.

Se consideraron los siguientes aspectos:

- Pacientes con edad entre 16 y 87 años con EC, incluyendo todos los grados de atrofia vellositaria Marsh (BD).
- Atrofia vellositaria Marsh grado 3a-3c (BD).

En la Figura 49 se indican las biopsias incluidas y excluidas atendiendo a su categorización de acuerdo con la clasificación de Marsh-Oberhuber (171) por un patólogo experimentado.

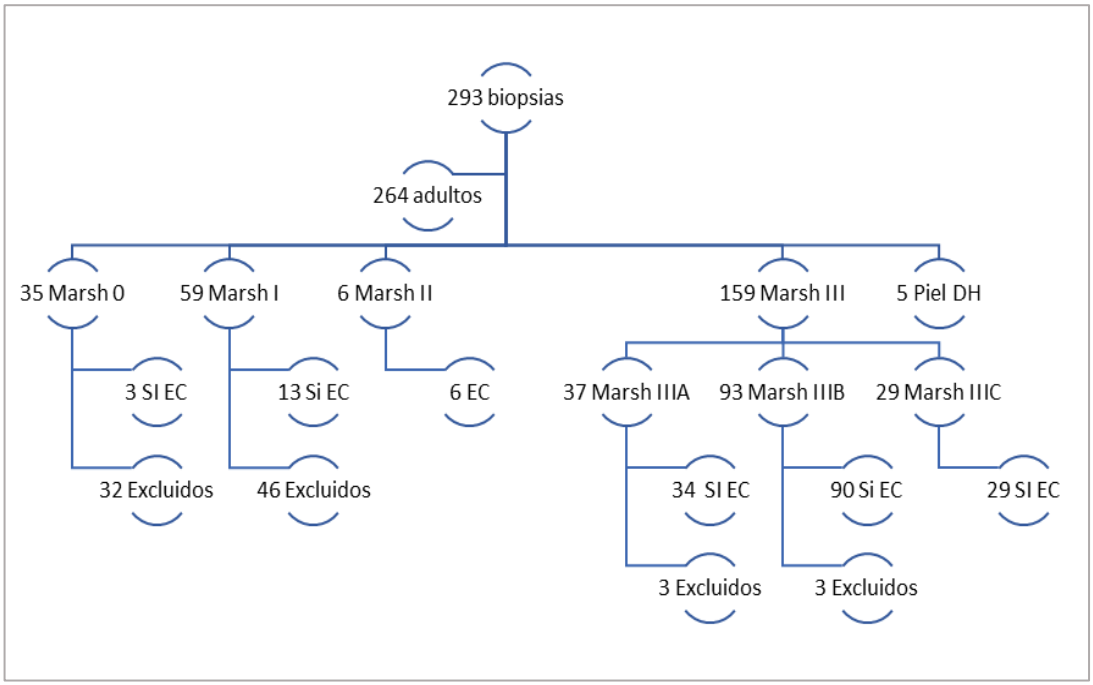


Figura 49. Clasificación de BD atendiendo a los hallazgos histopatológicos, que fueron categorizados según la clasificación de Marsh-Oberhuber (171). Abreviaturas: BD, Biopsia duodenal; EC, enfermedad celiaca; LIE, Linfocitos intraepiteliales. March 1: Infiltrativa, Epitelio velloso normal >30 LIE por 100 enterocitos aumento de LIE con arquitectura vellositaria conservada; Marsh 2: Hiperplásica: Criptas agrandadas y afluencia de células inflamatorias; Marsh 3: atrofia vellositaria con hiperplasia críptica. Marsh 3a: Atrofia parcial de vellosidades: vellosidades acortadas, infiltración LIE y criptas hiperplásicas; Marsh 3b: Atrofia subtotal de vellosidades: Vellosidad atrófica reconocible, células inflamatorias y criptas ampliadas Marsh 3c: Atrofia total de vellosidades, lesión atrófica grave, hiperplásica e infiltrativa. Excluidos: No EC.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.5.2. Procedimiento

Para establecer el umbral de detección se estudió el rendimiento diagnóstico tanto de IgA-TG2 en EC confirmada como de IgA-TG2 y atrofia duodenal.

Se realizaron 2 curvas ROC de rendimiento, atendiendo a los siguientes aspectos:

- El rendimiento diagnóstico de la IgA-TG2 para EC confirmada; incluyendo todos los grados de Marsh: 1,2, 3 a, b, c.
- Las lesiones Marsh 1 y 2 se consideraron inespecíficas, pero consistentes con el diagnóstico de EC si la serología era positiva. Cuando la serología era negativa, se tipificaba el HLA-DQ y se evaluaban los síntomas con la DLG. Solamente los casos positivos para HLA-DQ2 y/o DQ8, junto con la desaparición síntomas se incluyeron como casos definitivos de EC.
- El rendimiento diagnóstico de la IgA-TG2 para atrofia vellositaria, considerando en este caso los grados 3a-c. Los casos con lesiones Marsh 3 y serología negativa fueron estudiados en busca de otro diagnóstico que pudiera explicar las anomalías histológicas. Esta curva ROC se utilizó para evaluar los puntos de corte de los Ac IgA-TG2 como predictores de las puntuaciones de Marsh 3 en adultos.
- Se midieron medias y medianas y se calculó sensibilidad especificidad VPP y VPN.

Se utilizó como nuevo VR para adultos el valor de sensibilidad=especificidad, para atrofia, estableciendo un valor de *bordeline* positivo con los valores obtenidos del análisis de las medianas. Se calculó el porcentaje de seronegativos para los diferentes rangos y se valoró el *cut-off* para atrofia, en el que la biopsia en adultos puede ser evitada en casos seleccionados.

El procedimiento fue sometido a auditoria y a aprobación por la responsable de la Gestión de la Calidad del Laboratorio de Análisis Clínicos del HULA.

.

3.6 MATERIAL Y MÉTODOS PARA EL OBJETIVO 6

3.6.1 Implementación de vía de derivación rápida

Una vez alcanzados los objetivos del 1 al 5 (véase apartado de resultados) se procedió a la implantación de la vía rápida propiciada por la autora de esta Tesis dentro del área de autoinmunidad en el Laboratorio de Análisis Clínicos, para mejorar la accesibilidad de los pacientes pediátricos y adultos que presenten autoanticuerpos específicos de EC positivos (IgA-TG2, IgA-EMA e IgG-DGP) a las unidades de digestivo, con el fin de agilizar la confirmación del diagnóstico:

- En niños para aplicar las guías ESPGHAN vigentes (2020) y comenzar la DLG.
- En adultos para la realización de endoscopia con BD que garantice la confirmación diagnóstica y la instauración rápida de una DLG con todas las garantías diagnósticas.

La vía rápida se describe en las Figuras 51-53.

3.6.2. Puesta en marcha y aplicación

El Laboratorio de Análisis Clínicos del HULA realiza todas las determinaciones de anticuerpos que se solicitan desde todas las unidades asistenciales del Área Sanitaria de Lugo. Esta vía se activa desde el laboratorio, cuando se detecten que los Ac IgA-TG2 superan el *cut-off* de referencia, con un sistema de alerta informática con el que se avisa al facultativo peticionario en el informe de IANUS.

Con la puesta en marcha de esta vía rápida, se garantiza el acceso rápido a la consulta del especialista en digestivo en el HULA de los pacientes con Ac positivos para establecer el diagnóstico definitivo antes de eliminar el gluten de por vida.

Esto requiere la coordinación de tres servicios:

1. Análisis Clínicos (Autora de esta Tesis Doctoral, Julia María Cabo del Riego): primer nivel en la detección de los nuevos casos de enfermedad celíaca. El petitorio de los anticuerpos se puede solicitar desde todas las unidades de AP y hospitalaria. Una vez detectado los casos positivos se pone en contacto con el médico peticionario y con los servicios de digestivo.
2. Servicio de Digestivo de adulto (Dr. José Abel González Rodríguez): responsable de la gestión de los casos positivos de adultos. Se programa la biopsia desde la consulta hospitalaria y se solicita una nueva analítica de control del paciente y, si procede, las pruebas genéticas.
3. Servicio de Gastroenterología infantil (Dra. Carmen García-Plata Fernández): responsable de la gestión de los casos positivos de niños. Se pone en marcha la aplicación de las Guías ESPGHAN 2020. El niño/adolescente es citado para una nueva determinación de marcadores con anticuerpos específicos confirmatorios y en caso de cumplir criterios se establece el diagnóstico sin biopsia. Si no cumple los criterios ESPGHAN se programa la biopsia duodenal.

Los profesionales citados se coordinan con el resto de las unidades asistenciales desde donde se soliciten los autoanticuerpos diagnósticos en AP y hospitalaria pediátrica y de adultos. La vía rápida homogeneiza la atención sanitaria en todos niveles asistenciales y define con claridad qué pacientes cumplen criterios de EC que podrán ser incluidos en esta vía rápida.

3.6.3 Supuestos clínicos de ejecución

En las siguientes Figuras (50-52) describen los diferentes supuestos bioquímicos que ponen en marcha la vía rápida; actualizados con los nuevos VR diferenciados entre niños y adultos.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

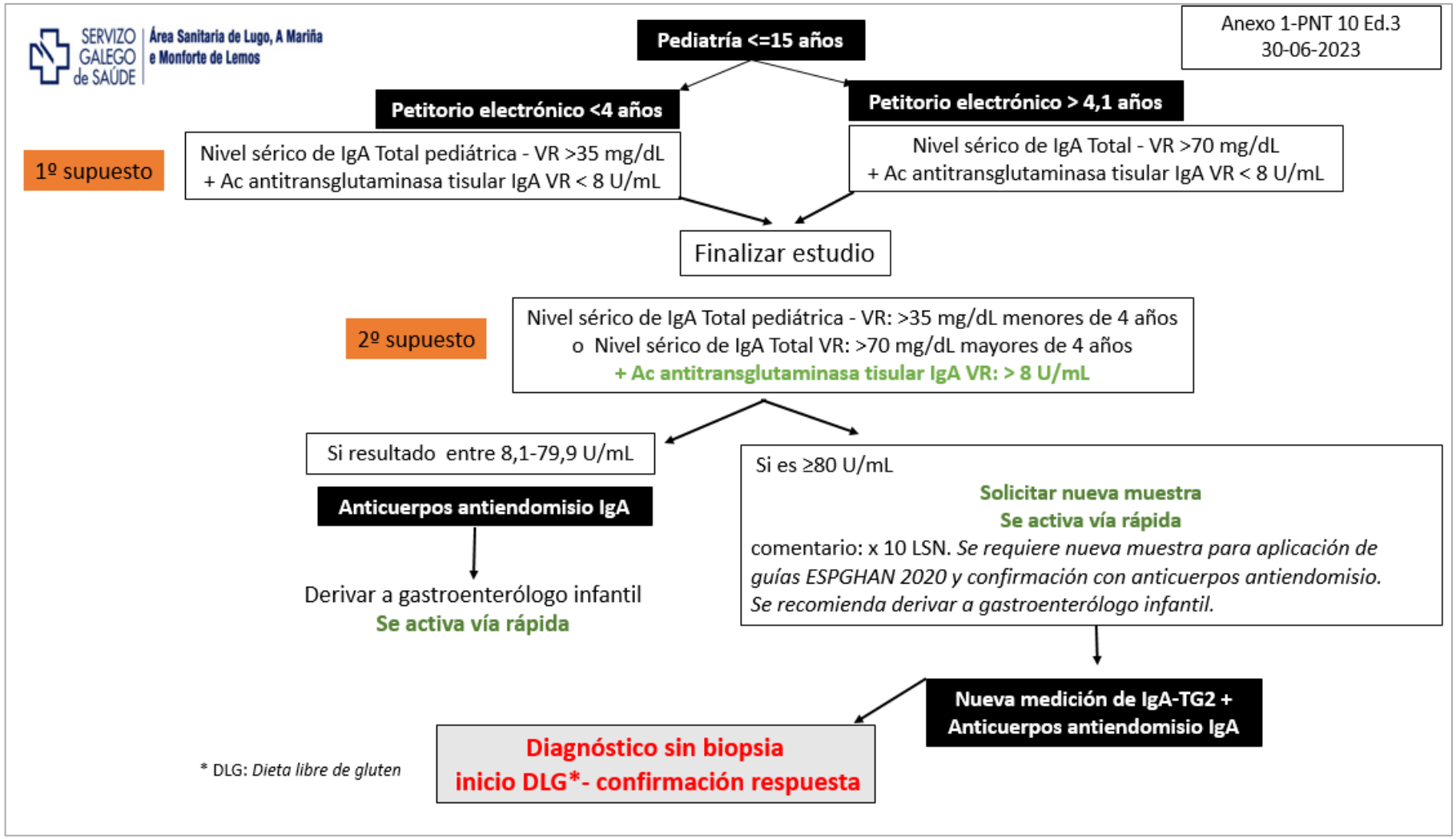


Figura 50. Supuesto de activación de vía rápida en pediatría (≤15 años). Elaboración propia.

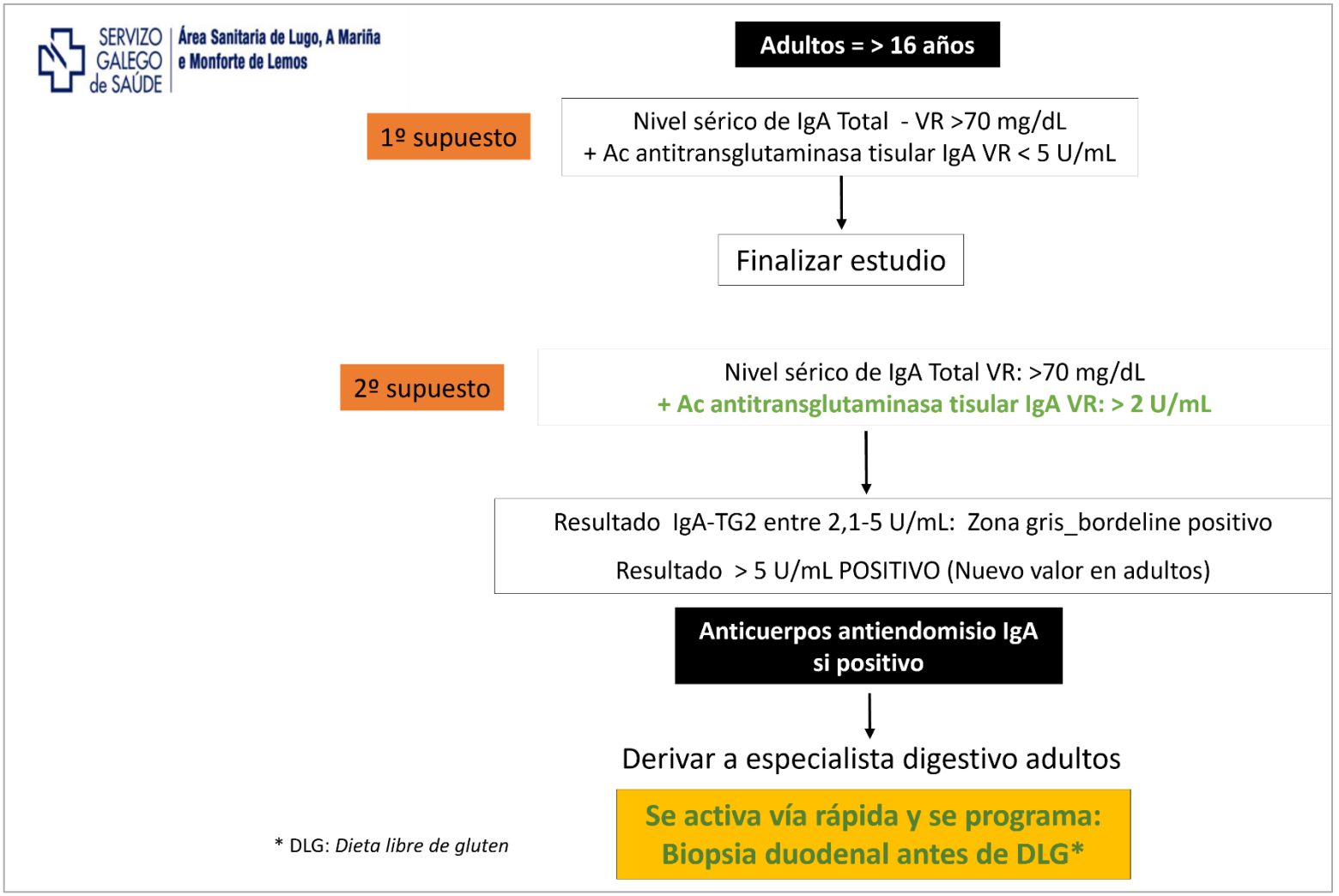


Figura 51. Supuesto de activación de vía rápida en adultos (≥16 años). Elaboración propia.

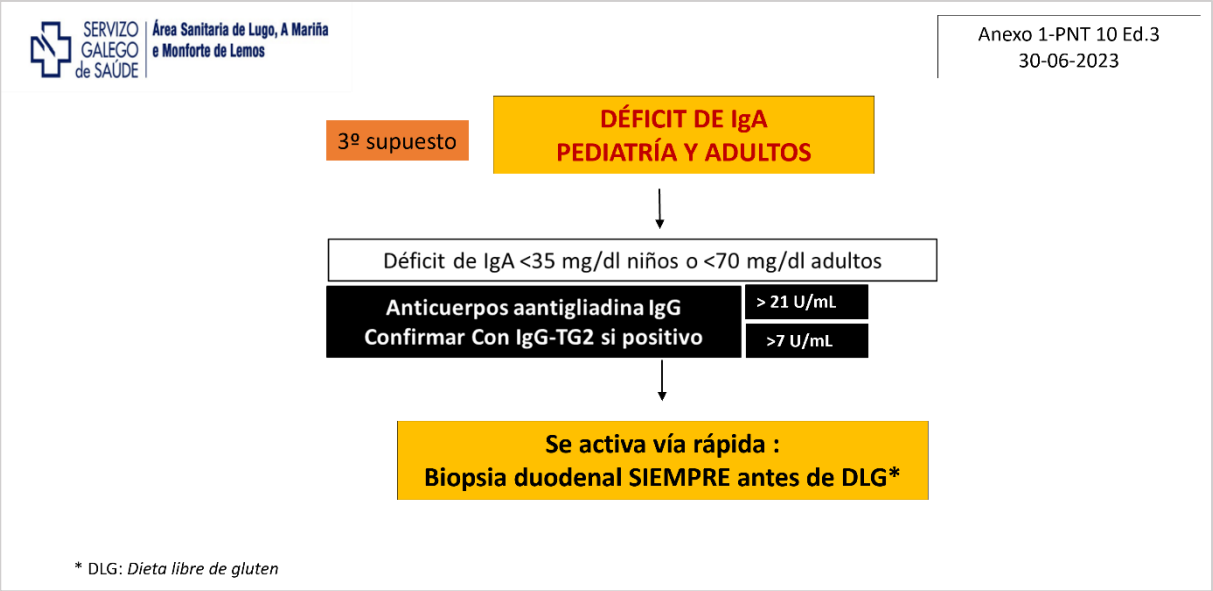


Figura 52. Supuesto de activación de vía rápida en déficit de IgA. Elaboración propia.

CAPÍTULO 4.

RESULTADOS

En este apartado se recogen los resultados de las siguientes publicaciones y programas:

1) Cabo Del Riego JM, Núñez Iglesias MJ, García-Plata González C, Paz Carreira J, Álvarez Fernández T, Dorado Díaz A, Villar Mallo N, Penedo Pita M, Novío Mallón S, Maíz Suárez L, Freire-Garabal Núñez M. Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population. Int J Environ Res Public Health. 2022 Apr 20;19(9):5020. doi: 10.3390/ijerph19095020.Anexo 10.1.
2) Cabo Del Riego JM, Núñez-Iglesias MJ, Paz Carreira J, Blanco Hortas A, Álvarez Fernández T, Novío Mallón S, Zaera S, Freire-Garabal Núñez M. Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion. Int J Environ Res Public Health. 2022 Dec 21;20(1):66. doi: 10.3390/ijerph20010066. Anexo 10.2.
3) J.M. Cabo del Riego, M.J. Núñez-Iglesias, T. Álvarez Fernández, A. Blanco-Hortas, J. Paz-Carreira, S. Novío, M. Freire-Garabal. Enfermedad celiaca del adulto: autoanticuerpos versus biopsia duodenal. Gastroenterología y Hepatología 2020, 45:33-34. Anexo10. 3.
4) Julia María Cabo del Riego, María Jesús Núñez-Iglesias, Andrés Blanco Hortas, Tamara Álvarez Fernández, Silvia Novío Mallón,Sofía Zaera,José Paz Carreira,Carmen García-Plata González, José Abel González-Ramírez and Manuel Freire-Garabal Núñez. Time trends incidence of celiac disease in a Spanish population. En fase de revisión. Anexo 10.4.
5) "Programa de mejora 7-2023: Modificación de los Valores de Referencia en niños y adultos para la Enfermedad Celíaca, basados en un estudio prospectivo propio con resultados histológicos de biopsias intestinales" igualmente del anexo: "Algoritmo diagnóstico_Criterios informáticos_Petitorio electrónico" con el código-Anexo1 PNT_10 Ed.3, aprobado en la fecha 30/06/2023 certificado por ENAC dentro de la norma UNE-EN-ISO 15189:2023 y que se aplicará en el Servicio de Análisis Clínicos para la mejora en el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca y la gestión de la demanda de biomarcadores serológicos para esta enfermedad". Anexo10 5.
6) "Vía rápida de confirmación diagnóstica de la enfermedad celiaca" para mejorar la accesibilidad a las unidades de digestivo (pediátrico y adultos) de los pacientes que presenten autoanticuerpos específicos de enfermedad celíaca en AP y consultas de especialidades hospitalarias. Anexo 10.6.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Se indican los resultados para cada uno de los objetivos formulados.

4.1 RESULTADOS PARA LOS OBJETIVOS 1 Y 2

Los resultados fueron divulgados, inicialmente con resultados preliminares en el Congreso Nacional de la SEEC mediante comunicación oral (SEEC Barcelona 2018 ver cita) y en el Congreso Nacional de Laboratorio Clínico (187). Posteriormente, se realizó la publicación "Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population" (2022) (Incluida en el Anexo de publicaciones).

A continuación, se indican los resultados en relación con los objetivos 1 y 2.

4.1.1. Características de la muestra

Se estudiaron 5.641 pacientes pediátricos (≤15 años) con sospecha de EC y se confirmó el diagnóstico de EC en 113.

Con respecto a la edad (Figura 53) el diagnostico se realizó a edades muy tempranas. Así la edad media ± DE, fue de 5,72 ± 4,62 años.

Con respecto al sexo, el 53% eran niños y el 47% niñas.

La EC se confirmó en el 9,74% de los pacientes con factores de riesgo. Esto es, EC en un familiar de primer grado, con diabetes tipo I, con enfermedad tiroidea autoinmune y con autismo (Tabla 13).

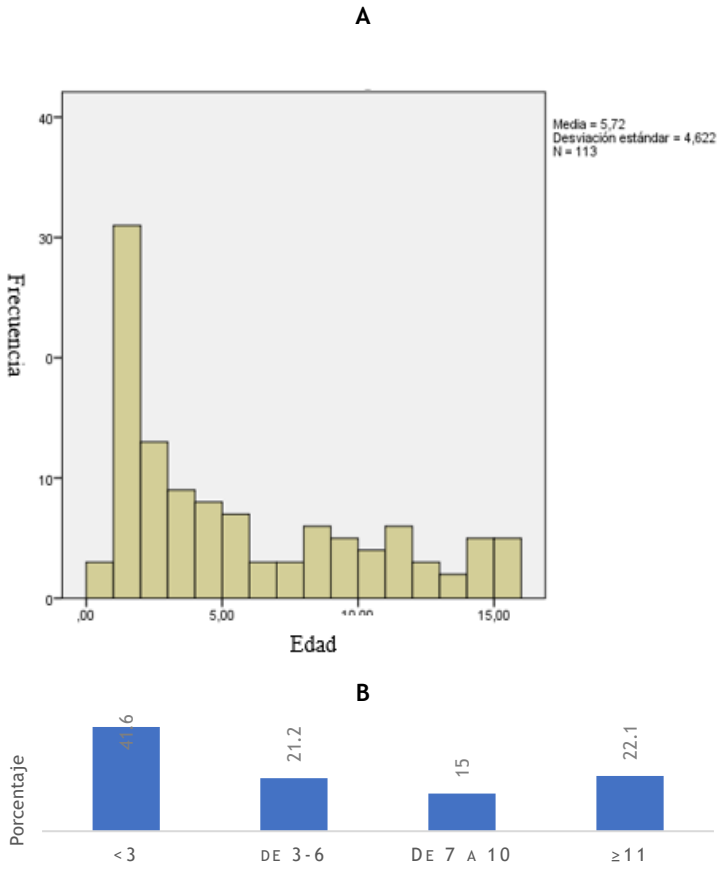


Figura 53. Distribución de edades (A) y distribución porcentual según edad (B).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.1.2. Manifestaciones clínicas de EC

En cuanto a la presentación clínica, la mayoría de los pacientes (61,95%) presentaron manifestaciones intestinales clásicas (Tabla 13).

Con respecto a las manifestaciones extraintestinales, la anemia microcítica ferropénica fue la más frecuente (25,66%).

Tabla 13. Manifestaciones clínicas y factores de riesgo de EC en pediatría.

	Nº Casos	Porcentaje
Tríada clásica: Diarrea crónica o intermitente*, pérdida de peso y/o retraso de crecimiento *	70	61,95
Manifestaciones gastrointestinales *: Dolor abdominal recurrente, vómito, estreñimiento crónico o recurrente	35	30,97
Manifestaciones extraintestinales		
Deficiencia crónica de hierro, anemia *	29	25,66
Hipotiroidismo subclínico	2	1,77
Artritis/artralgia	1	0,88
Irritabilidad, fatiga crónica	5	4,42
Neuropatía	2	1,77
Aftas recurrentes	1	0,88
Oligosintomática o subclínica	6	5,31
Factores de Riesgo		
EC familiar de primer grado	5	4,42
Diabetes Mellitus tipo A	1	0,88
Autismo	1	0,88
Deficiencia de IgA	3	2,65
Enfermedad autoinmune de tiroides	1	0,88

*** Manifestaciones comunes. Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca, IgA, inmunoglobulina A.**

4.1.3. Resultados de acuerdo con el algoritmo

El diagrama de flujo (Figura 54) muestra los resultados al aplicar los criterios ESPGHAN 2012 a toda la cohorte. La confirmación del diagnóstico se realizó mediante pruebas serológicas en la mayoría de los pacientes. En el apartado 4.1.4 se detallan los mismos.

La BD se omitió en el 84,1% de los pacientes sintomáticos con EC.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

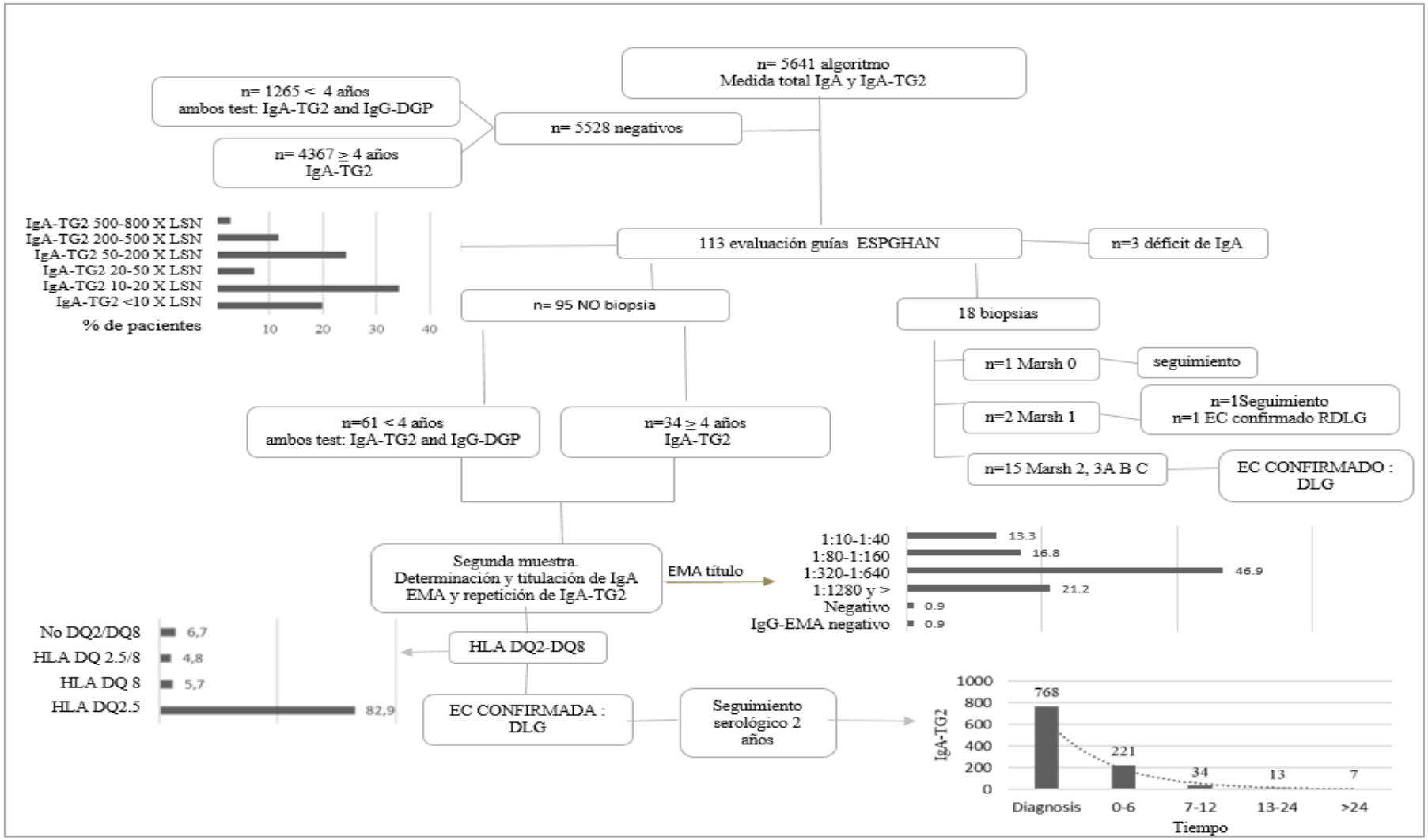


Figura 54. Proceso de diagnóstico de EC con principales resultados. Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; DLG, dieta sin gluten; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*; GI, gastroenterólogo; HLA, antígeno leucocitario humano; IgA, inmunoglobulina A; IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio; IgA-TG2, anticuerpos IgA antitransglutaminasa tisular tipo 2; IgG, inmunoglobulina G; IgG-DG, anticuerpos IgG antipéptidos de gliadina desaminados.

4.1.4. Resultados serológicos

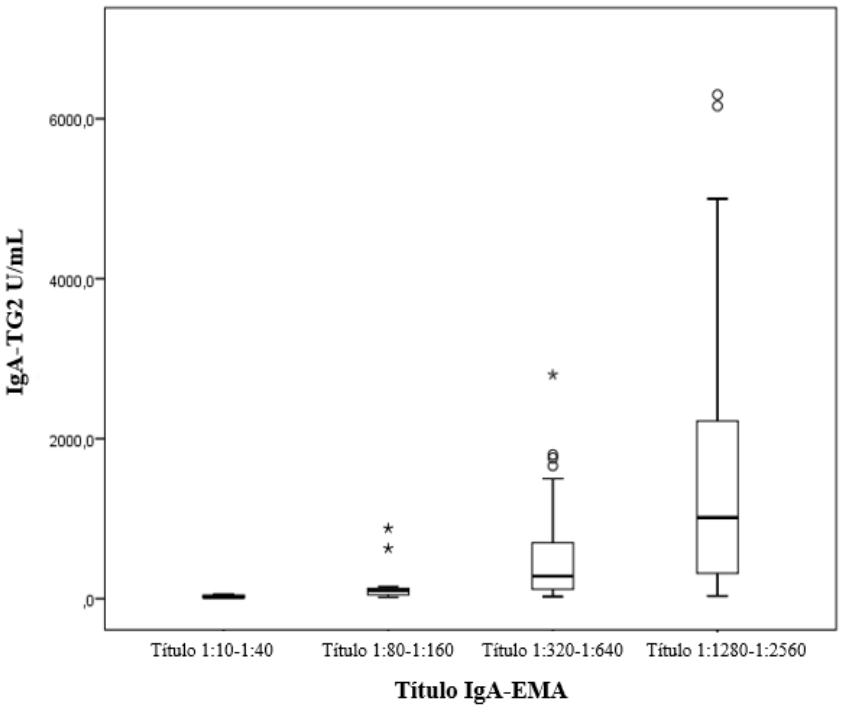
Se realizó un test no paramétrico de comparación de medianas en los 4 grupos de IgA-EMA y se obtuvo un p-valor<0,001.

Con respecto a los resultados serológicos (Figura 55) cabe reseñar que:

- El 100 % de los pacientes pediátricos en los que IgA-TG2 ≥ 10 LSN (80,53 %) fueron IgA-EMA positivos.
- Además, observamos una correlación positiva entre títulos de IgA-TG2 ≥ 10 LSN y una fuerte positividad de EMA (p < 0,001), como se muestra en la Figura 55A.
- Por encima de un valor promedio de ≥10 LSN (80 U/mL) de IgA-TG2, el título de IgA-EMA fue superior a 1:80, incluso en pacientes asintomáticos con síntomas extraintestinales o pertenecientes al grupo de riesgo.
- Por otra parte (como muestra la Figura 55B), encontramos una correlación negativa entre la edad y la IgA-TG2 (p < 0,001) con valores mayores en niños <3 años.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A



B

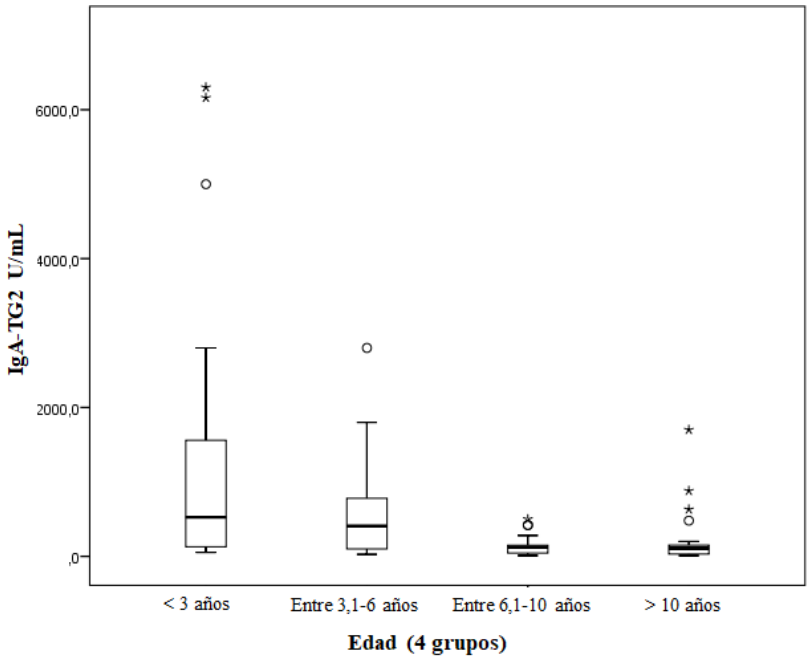


Figura 55. A: Relación entre los títulos de IgA-TG2 y EMA. Prueba no paramétrica que compara las medianas entre cuatro grupos de EMA. p<0,001. ° Los valores atípicos son valores entre los IOR y tres del final de un cuadro. * Valora más de tres IOR desde el final de un cuadro. B: Relación entre la edad y la IgA-TG2. Abreviaturas: IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio; IgA-TG2, anticuerpos IgA anti transglutaminasa tisular tipo 2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.1.5. Genotipado

Por otro lado, a 105 (92,96%) pacientes se les realizó la prueba HLA. De ellos, el 82,9% portaba HLA-DQ2.5 codificado por los genes DQA1∗05 (cadena alfa) y DQB1∗02 (cadena beta) (Figura 55).

En la Figura 56 se especifica la distribución porcentual de los marcadores genéticos. El 6.7% de los celiacos confirmados no presenta el haplotipo completo del grupo DQ, y/o portaba solo uno de los alelos.

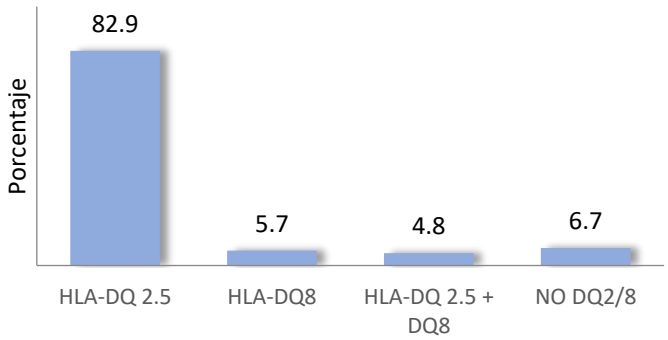


Figura 56. Distribución porcentual según grupo de HLA DQ. Abreviatura: HLA, Antígeno Mayor de histocompatibilidad.

4.1.6. Evaluación histopatológica de la mucosa intestinal

Se necesitaron biopsias en 18 pacientes (15,9% de los pacientes). De ellos, 16 pacientes tenían EC confirmada y 2 no tenían EC.

La mayoría de los pacientes con EC (72,1%) tenían atrofia vellositaria Marsh III.

En la Figura 57 se indica la distribución de los valores de IgA-TG2 en pacientes fueron o no sometidos a BD. En la Figura 58 se muestra el histograma de frecuencias de las técnicas cuantitativas utilizadas (IgA-TG2 e IgG-DGP).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

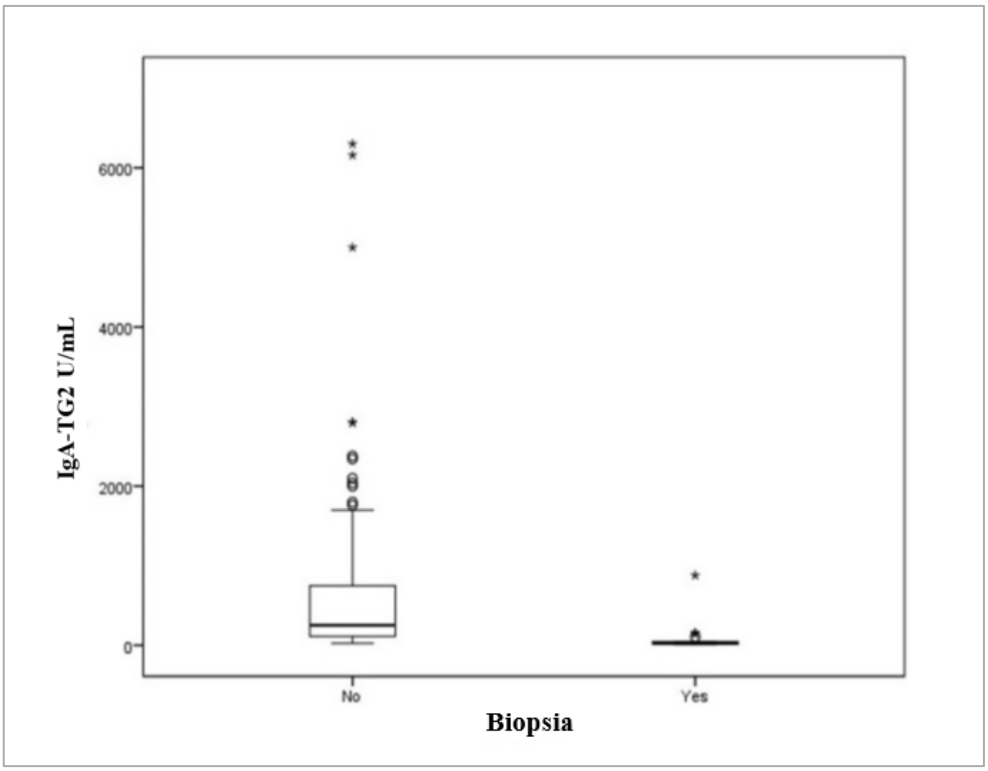


Figura 57. Valores de IgA-TG2 en pacientes que evitaron la biopsia o se sometieron a ella. °, los valores atípicos son valores entre IOR y tres IOR al final de un cuadro. * Valora más de tres OR desde el final de un cuadro). Abreviaturas: IgA-TG2, anticuerpos IgA antitransglutaminasa tisular tipo 2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

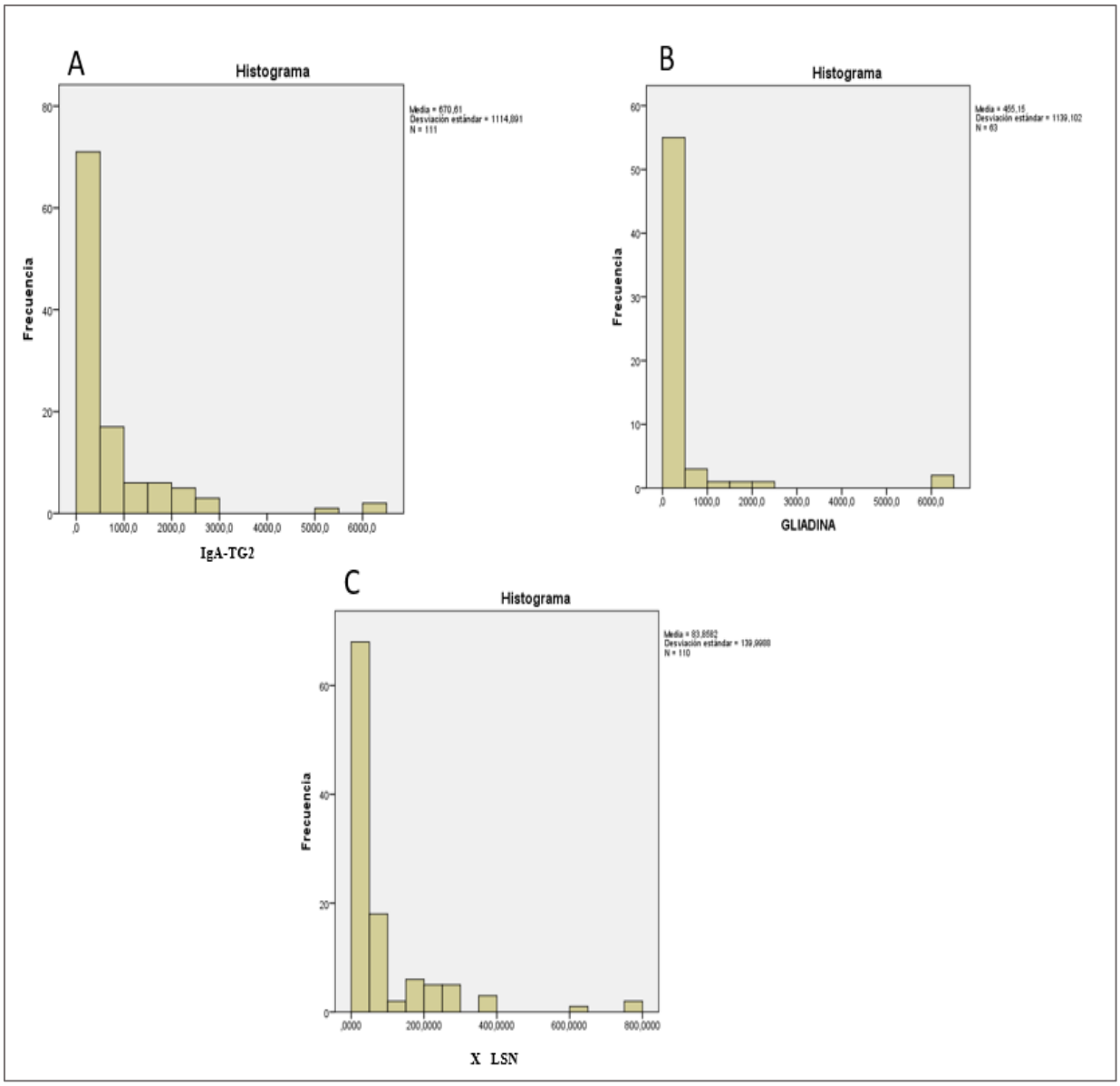


Figura 58. Histograma de frecuencias de técnicas cuantitativas. A, Frecuencia y distribución de IgA-TG2: B, Frecuencia y distribución de IgG-DGP (realizada en los menores de 4 años); C, Histograma de frecuencia del número de veces que la IgA-TG2 supera el LSN. Abreviaturas: IgG-DGP, anticuerpos IgG antipéptidos de gliadina desaminados; IgA-TG2, anticuerpos anti -transglutaminasa tisular tipo 2; LSN, Límite superior de normalidad.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.1.7 Respuesta a DLG

Todos los pacientes sintomáticos tuvieron mejoras clínicas y serológicas después de una DLG, mostrando títulos decrecientes de IgA-TG2 con el tiempo, con la mayor disminución a los 6 meses de la dieta sin gluten.

El estudio de los niños se realizó en 4 etapas tras el debut; determinando los AC IgA-TG2 entre 1-6 meses; 7-12 meses; 13-24 meses y > 24 meses.

Posteriormente, se realizó una determinación de Ac al año.

Después de 24 meses de seguimiento, el 95,5% de los pacientes presentaron títulos de IgA-TG2 negativos (Figura 59), pero el 4,5% de los pacientes que no mejoraron presentaron transgresión dietética voluntaria e involuntaria

Es de destacar que hasta el 30 % de los pacientes en las primeras determinaciones tras el debut siguieron estando por encima del límite de detección de la prueba >128 U/mL, por lo que de no hacerse las diluciones seriadas que se proponen en esta Tesis Doctoral, no se conocería la respuesta a la dieta, ni el grado de adherencia. Por consiguiente, no podría hacerse un diagnóstico diferencial entre la EC no respondedora o ECR ni las transgresiones.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2. RESULTADOS PARA EL OBJETIVO 3

4.2.1. Tasa de detección nuevos casos de EC en ≥45 años

Las muestras de 9.066 pacientes con edad personas ≥45 años fueron remitidas a nuestro laboratorio desde AP o desde unidades hospitalarias (principalmente geriatría o gastroenterología) por tener sospecha diagnóstica de EC. A todos los pacientes se les aplicó el mismo algoritmo de detección de la EC establecido en el laboratorio. El diagrama de flujo de la Figura 59, muestra los resultados de la aplicación de este con el porcentaje de presentación de anemia.

De los 9.066 pacientes con sospecha de EC se confirmó el diagnóstico en 101 (Tabla 14).

Tabla 14. Características demográficas de los pacientes diagnosticados de EC.

Características demográficas	Media± DE	Media (IC)	n = 101	%
Mujer			69	68,32
Hombre			32	31,68
Edad	63,04 ±12,1	62 (52,3-73)		

La tasa de nuevos casos de EC en ≥ 45 años fue 1,10 %, (IC 95 %: 0,93–1,35). De ellos, 84 individuos tenían una prueba hematológica previa (Tabla 15). La media de edad de los pacientes diagnosticados de EC era alta (edad media ± DE 63,04 ±12,1) y un mayor porcentaje eran mujeres (68,32%; ratio mujer/hombre 2,11/1).

Para la determinación de la influencia de factores bioquímicos y hematológicos relacionados con aparición de nuevos casos de EC, se realizó un procedimiento de selección de pacientes sin EC para parearlos a los pacientes diagnosticados de EC en un ratio 2:1. Por tanto se incluyeron 168 sin EC y 84 totales con EC pareados por edad y sexo (1 caso: 2 controles).

En cuanto a los factores relacionados con la anemia se estudiaron 12 variables: 6 hematológicas y 6 bioquímicas, para establecer el grado y tipo de anemia: hematológicas: Hb, Hcto, VCM, ADE, número de leucocitos y número de plaquetas; bioquímicas: FE, IF, TfR, índice de saturación de la Hemoglobina, VitB12 y AF; cuyos resultados se muestran en la Figura 59,61.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

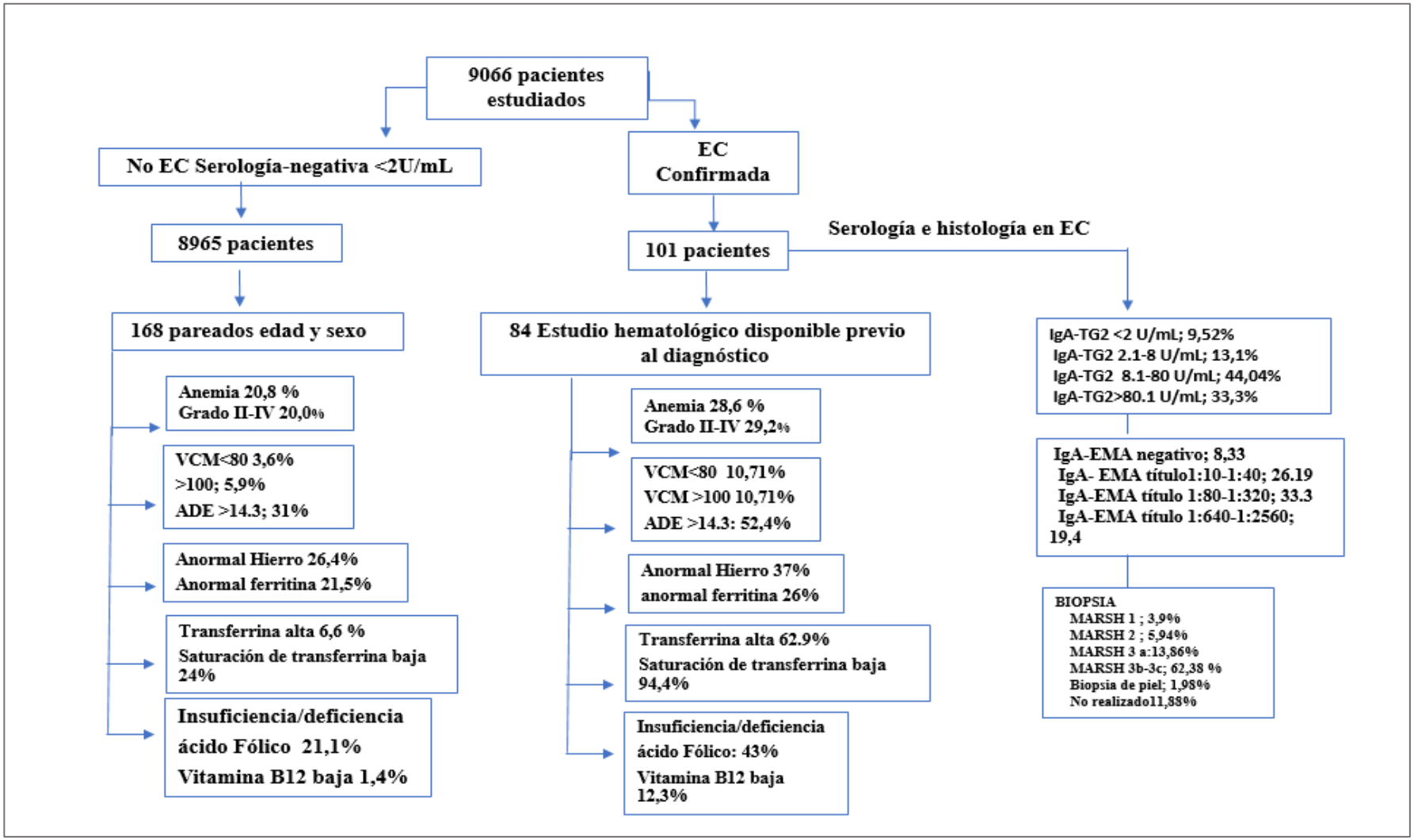


Figura 59. Diagrama de flujo del diagnóstico de EC. Abreviaturas: ADE, ancho de distribución eritroide, IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio; VCM, volumen celular medio; IgA-TG2, Anticuerpo antitransglutaminasa tisular IgA.

4.2.2 Serología y Genotipo HLA

Los principales hallazgos fueron:

- Los títulos medios de IgA-TG2 fueron 206 ± 15 U/ml.
- El 90,44% de los pacientes tenían títulos de IgA-EMA entre 1:10-1:40 y 1:640-1:2560.
- La evaluación serológica no detectó pacientes con déficit de IgA.
- Todos los títulos positivos de IgA-TG2 se confirmaron con títulos elevados de IgA-EMA. Ocho individuos (9,52%) presentaron valores de IgA-TG2 por debajo del límite de referencia.

4.2.3. Estadios de Marsh en la BD

Se tomaron muestras de biopsia en el 88,12% de los pacientes y fueron analizadas por un patólogo experto.

La mayoría de los pacientes (76,24%) tenían atrofia marcada o completa (MARSH 3a-c).

Al 11,88% de los pacientes restantes no se les realizó BD (figura 59) por negativa del paciente, recomendación médica o haber iniciado DLG por síntomas severos o alta positividad en los marcadores. En estos casos, el diagnóstico de EC se confirmó por la presentación de manifestaciones típicas de la enfermedad, títulos elevados de anticuerpos IgA séricos de EC, genotipos HLA-DQ2 o DQ8 y respuesta a la DLG.

4.2.4 Manifestaciones de EC

Las manifestaciones gastrointestinales y extraintestinales no hematológicas en el momento del diagnóstico se muestran en la Tabla 15. En las primeras, se incluyen el dolor abdominal crónico, el estreñimiento, el abdomen distendido o el colon irritable, que fueron las manifestaciones intestinales más prevalentes de EC (26,73%). Las segundas engloban manifestaciones cutáneas, musculo esqueléticas, neurológicas, neuropsiquiátricas, etc.

Por otra parte, patologías asociadas fueron principalmente enfermedades autoinmunes (17,82%).

Dado que es de suma importancia reconocer la EC en individuos con síntomas no gastrointestinales (128,273), evaluamos estas manifestaciones y, en particular, las hematológicas. Se muestran en la Tabla 15.

Cabe destacar que, entre las manifestaciones extraintestinales de la EC, las hematológicas fueron más prevalentes. Así mismo, la anemia (que se estableció según la definición de la OMS (269), fue la manifestación extraintestinal que se presentó con mayor frecuencia (Figura 59), presente en el 28,57% de los pacientes con EC.

La distribución de la anemia ajustada por edad y sexo fue más común en pacientes ≥80 años. Atendiendo al sexo fue más frecuente en mujeres que en hombres (57,1% vs 50%) (Figura 60). En cuanto a la gravedad de la anemia (criterios de la OMS)(269), el 29,16% de los/las pacientes presentó anemia de moderada (grado II) a grave (grado III), mientras que el 70,8% presentó anemia leve (grado I) (Tabla 16).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 15. Manifestaciones clínicas de EC.

	n = 101	%
Manifestaciones intestinales	42	41,58
Diarrea/malabsorción crónica	10	9,90
Dolor abdominal crónico, estreñimiento, abdomen distendido o colon irritable	27	26,73
Gastritis, vómitos recurrentes, esofagitis y hepatopatía	5	4,95
Manifestaciones extraintestinales no hematológicas	50	49,50
Manifestaciones cutáneas/mucosas: dermatitis herpetiforme, vitíligo	7	6,93
Manifestaciones neurológicas: dolor de cabeza y disfunción cognitiva	6	5,94
Manifestaciones neuropsiquiátricas: ansiedad, depresión	12	11,88
Manifestaciones musculoesqueléticas: Artritis, artralgia, disminución de la mineralización, fracturas de repetición	8	7,92
Fatiga crónica/disminución del apetito	4	3,96
Otras (renales, cardíacas, ginecológicas)	6	5,94
Enfermedades endocrinas asociadas: Hipotiroidismo, diabetes tipo 2	7	6,93
Familiares de primer grado con EC	4	3,96
Enfermedades Autoinmunes Asociadas	18	17,82
Trastorno autoinmune de tiroides	4	3,96
Enfermedades autoinmunes sistémicas (Síndrome de Sjögren, otros)	11	10,89
Enfermedades autoinmunes órgano-específicas	3	2,97

Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; n, número.

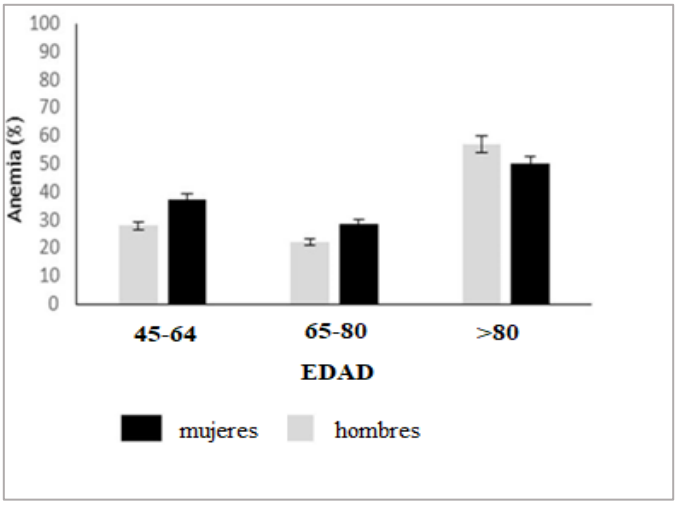


Figura 60. Anemia en pacientes con nuevo diagnóstico de EC, ajustada por edad y sexo. Los datos se muestran como la media ± DE. La anemia se estableció según los criterios de la OMS (269). Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; DE: desviación estándar; OMS, Organización Mundial de la Salud.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2.5 Comparativa de parámetros hematológicos y bioquímicos entre pacientes con y sin EC

La Figura 61 y las Tablas 16-18 representan las diferencias en los biomarcadores hematológicos y bioquímicos entre individuos con y sin EC, emparejados por edad y sexo.

Como se presenta en la Tabla 18, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que presentaron EC y los que no la presentaron en términos de anemia, hematocrito bajo, leucopenia y trombocitopenia.

Sin embargo, en este estudio, el 58,4% de los pacientes adultos exhibieron un ADE alto >14,3% frente al 35,2% de los que no presentaban EC, emparejados por edad y sexo, respectivamente (p <0,001).

Tabla 16. Parámetros hematológicos. Comparación entre pacientes sin EC y pacientes con EC.

Parámetros Hematológicos		No EC (*n* = 168)	EC (*n* = 84)	Valor p
Anemia				
	Si	133 (79,2)	60 (71,42)	0,171
	No	35 (20,8)	24 (28,57)	
Grado de anemia				
	I	28 (80,0)	17 (70,83)	0,576
	II-III	7 (20,0)	7 (29,16)	
Hcto				
	Valor normal	130 (77,4)	61 (72,61)	0,687
	Valor bajo/moderado	38 (22,6)	23(27,38)	
VCM				
	macrocítica	6 (3,6)	9 (10,71)	<0,024
	normocítica	152 (60,5)	66 (78,57)	
	Microcítica	10 (5,9)	9 (10,71)	
ADE				
	Valor normal	109 (64,8)	35 (41,6)	<0,001
	Alto> 14,3%	59 (35,2)	49 (58,4)	
WBC				
	Valor normal	165 (98,2)	81(96,42)	0,380
	Leucopenia	3 (1v8)	3 (3,57)	
PLT				
	≥150 × 10^9/L	157 (93,5)	77 (91,66)	0,603
	<150 × 10^9/L	11 (6,5)	7 (8,3)	

Abreviaturas: ADE, ancho de distribución de glóbulos rojos; EC, Enfermedad Celíaca; HTC, hematocrito; PLT, plaquetas; VCM, volumen celular medio; WBC, leucocitos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 17. Parámetros bioquímicos. Comparación entre individuos sin EC y con EC.

Parámetro		No EC (n/%)	EC de nuevo diagnóstico (n/%)	Valor *p*
FE	Normal	29 (26,4)	20 (37,0)	0,160
	Valor bajo	81 (73,6)	34 (63,0)	
IF	Normal	25 (21,5)	18 (33,3)	0,099
	Valor bajo	91 (78,5)	36 (66,7)	
TfR	<250	26 (32,9)	14 (32,5)	0,820
	>380	2 (2,5)	2 (4,6)	
	250-380	51 (64,6)	27 (62,9)	
TS	<18%	19 (24,0)	7 (16,2)	0,316
	≥18%	60 (76,0)	36 (83,8)	
AF	Normal	56 (78,9)	22 (61,1)	0,025
	Zona gris	15 (21,1)	14 (38,9)	
	Déficit	2 (2,8)	6 (16,6)	
VitB12	≥200	69 (98,6)	31 (93,9)	0,222
	<200	1 (1,4)	2 (6,1)	

[a] Datos que fueron solicitados según criterios clínicos para establecer la presencia o ausencia de anemia y el tipo de anemia. Abreviaturas: AF, ácido fólico; IF, índice de ferritina; FE, hierro TfR, transferrina; TS: saturación de transferrina; VitB12, Vitamina B12.

Tabla 18. Comparación entre individuos sin EC y con EC. Variables continúas

Parámetros hematológicos	No EC (n=168)	Nuevos diagnósticos EC (n=84)	Valor p
Hb	13,5 (12,4-14,7)	13,1 (11,9-13,9)	0,089
Hcto	40,5 (37,5-43,8)	39,8 (35,8-42,2)	0,187
VCM	90,4 (86,9-94,5)	89,9 (87,4-94,0)	0,823
ADE	13,7(13,1-14,7)	14,6 (13,5-16,6)	<0,001*
WBC	6,4 (5,3-7,6)	6,1 (5,0-7,3)	0,114
PLT	223 (187,5-266,0)	230,5 (190,7-294,7)	0,135
Parámetros bioquímicos	**No EC (n=168)**	**Nuevos diagnósticos EC (n=84)**	**Valor p**
FE	27,2 (18,7 - 41,3)	34,1 (19,9 - 47,4)	0,321
IF	60.8 (21,7 - 197,0)	27,7 (14,0 - 62,8)	<0,001*
TfR	266,0 (236,5 - 300,0)	268,0 (241,5 - 306,0)	0,684
AF	7,1 (5,5 - 10,5)	7,7 (4,0 - 9,5)	0,303
Vit B12	458,5 (351,6 - 570,0)	393,0 (312,0 - 504,0)	0,093

Abreviaturas: AF, ácido fólico; FE, Hierro en suero IF, índice de ferritina; TfR, transferrina; TS: saturación de transferrina; Vit B12, Vitamina B12; PLT, plaquetas; VCM, volumen celular medio; WBC, leucocitos

La existencia de deficiencias en IF (66,7%) y FE (63%), seguidas del AF (16,6%) y VitB12 (6,1%) (Tablas 18 y 19) apoyó la etiología multifactorial de la anemia en la EC (128).

Observamos que existían diferencias significativas para el ADE como parámetro hematológico y IF como parámetro bioquímico.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

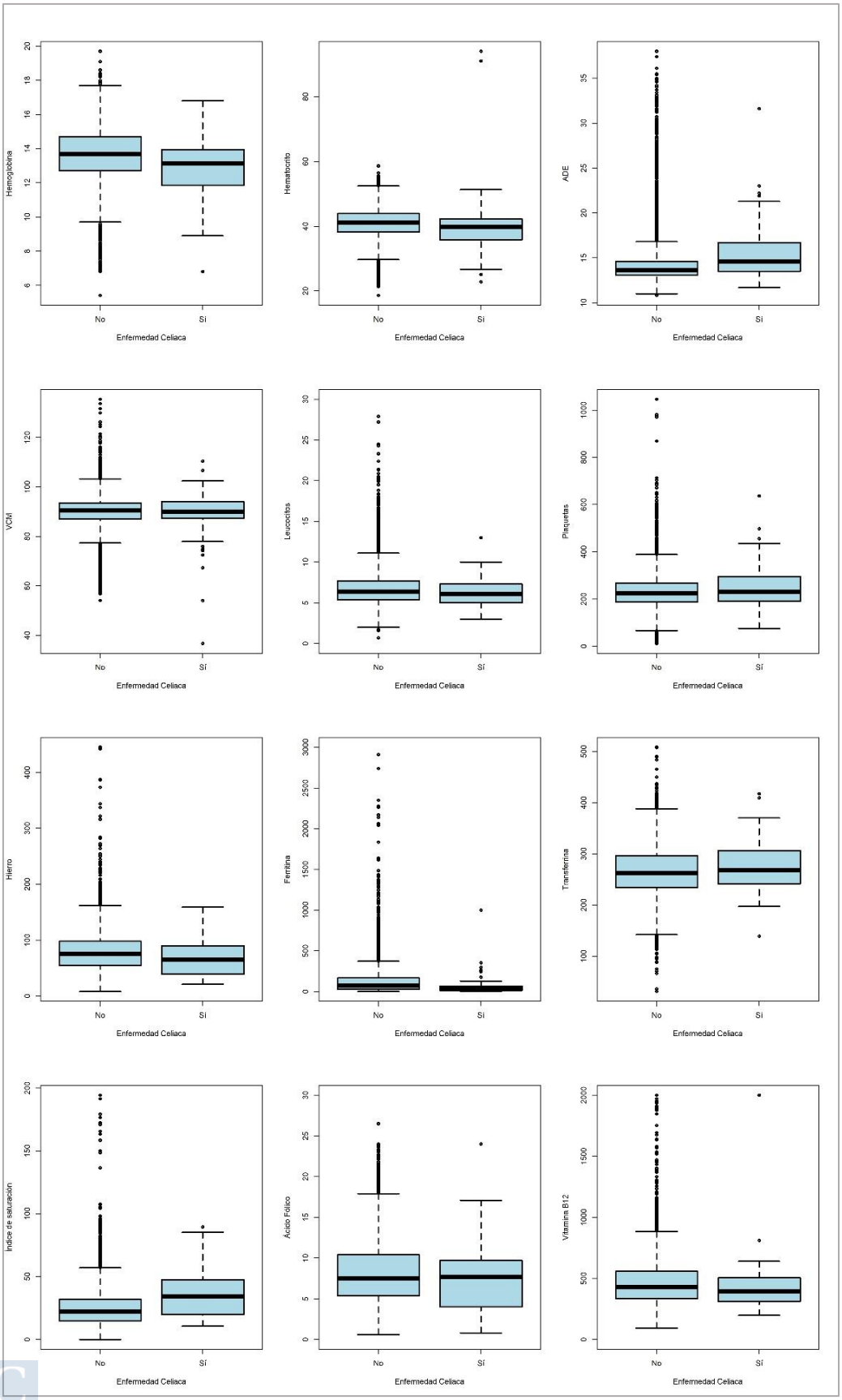


Figura 61. Box plot de todas las variables continúas analizadas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Se observó que la presencia de ADE elevado (OR 1,151, IC 95% 1,046-1,275) se asociaba a EC (Figura 62).

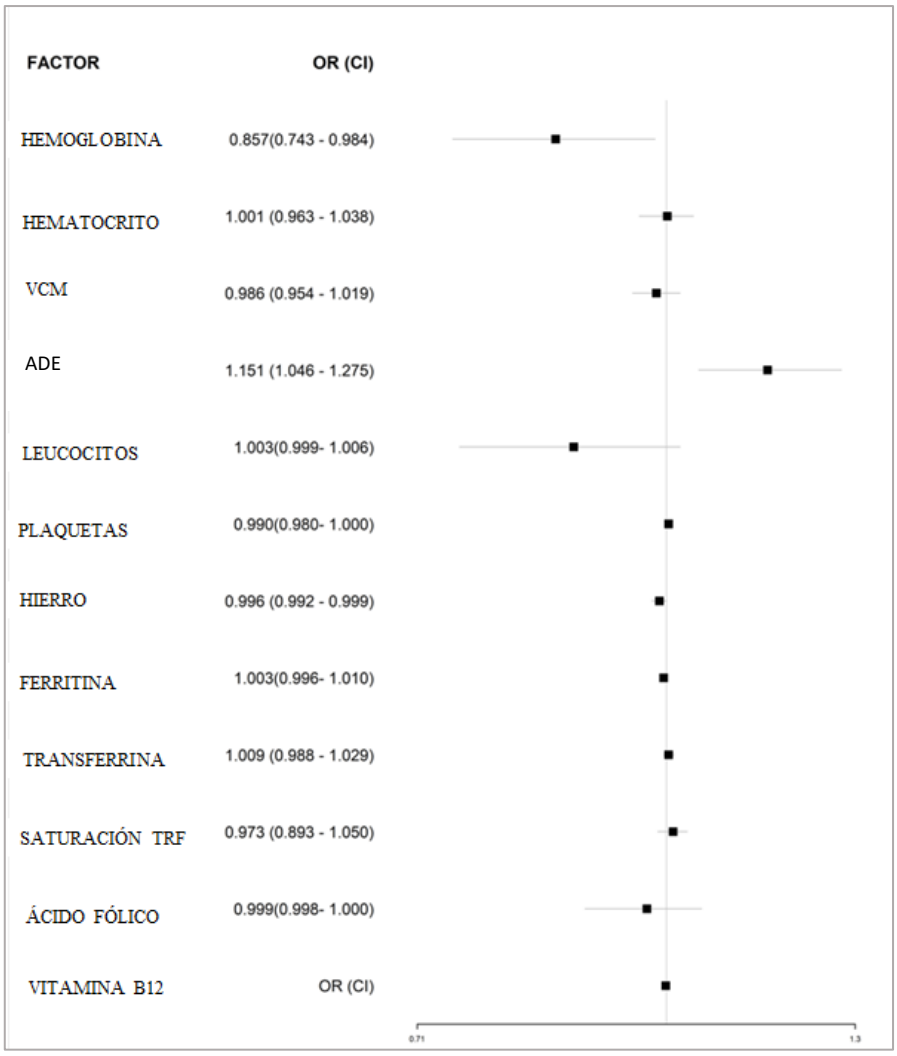


Figura 62. Asociación entre parámetros hematológicos y EC. Odds ratio con intervalo de confianza del 95%. Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; VCM, volumen celular medio; ADE, ancho de distribución eritroide.

4.2.6. Estudio de factores bioquímicos relacionados con la anemia

Para estudiar que variables son las más influyentes la presencia de anemia en pacientes con EC y no celiacos se realizaron dos regresiones logísticas multivariadas.

En la evaluación etiológica de la anemia, se estudiaron los factores relacionados con la anemia en enfermos celiacos y no celiacos mediante 2 regresiones logísticas multivariantes (Tabla 21).

Se constató que en la población no celiaca ≥ de 45 años que presentaba anemia, el nivel de FE bajo es el parámetro bioquímico que mostraba mayor influencia en la etiología de la anemia (p=0,023). Sin embargo, en los pacientes celiacos con edad ≥ de 45 años con anemia el parámetro bioquímico más influyente en la etiología de la anemia fue la disminución de la ferritina; mostrando una alta significación estadística (p= 0,025).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 19. Factores bioquímicos relacionados con la anemia.

A) Pacientes no EC	Factores	OR (IC)	Valor *p*
	IF	0,99 (0,98-1,00)	0,556
	TfR	0,99 (0,1-1,01)	0,456
	TS	1,10 (1,00-1,24)	0,061
	FA	1,01 (0,85-1,21)	0,883
	VitB12	0,99 (0,99-1,01)	0,364
	FE	0,93 (0,86-9,81)	0,023
B) Pacientes con EC	**Factores**	**OR (IC)**	**Valor *p***
	IF	1,04 (1,01-1,09)	0,025
	TfR	0,96 (0,91-1,01)	0,245
	TS	0,56 (0,26-0,92)	0,058
	AF	1,00 (0v76-1,25)	0,937
	VitB12	1,00 (0,99-1,00)	0,181
	FE	1,27 (1,01-1,78)	0,079

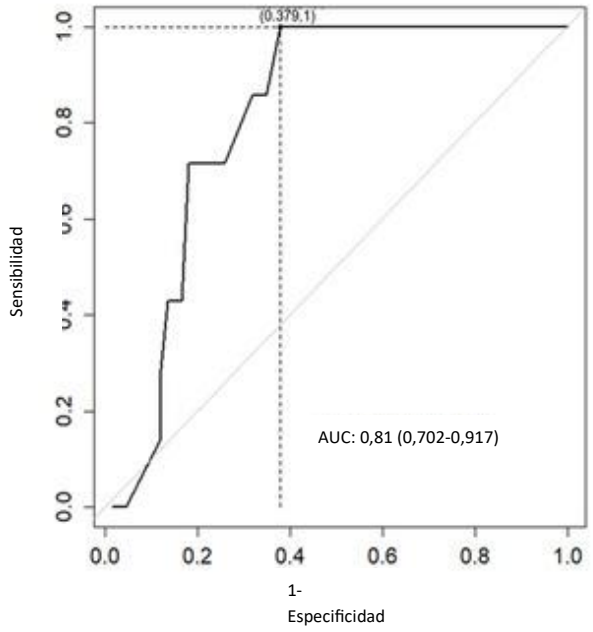
A (Regresión logística multivariada pacientes sin EC). B. (Regresión logística de pacientes con EC). Abreviaturas: EC, enfermedad celíaca; AF, ácido fólico; IF, ferritina; FE hierro; TfR, transferrina; TS: saturación de transferrina; VitB12, Vitamina B12.

4.2.7. Estudio de rendimiento diagnóstico del ADE en atrofia duodenal en EC

La IgA-TG2 y la atrofia grado 3 (a-c) son los dos criterios principales de diagnóstico de EC (89), y estudios previos encontraron una asociación entre el grado de atrofia y valores altos de ADE (274,275). ADE podría ser un marcador de EC (254,255). Por ello, se ha evaluado el rendimiento diagnóstico de ADE para predecir la atrofia en EC y hemos analizado tanto la asociación entre ADE y atrofia como con IgA-TG2.

Se ha realizado una curva ROC de rendimiento diagnóstico para verificar la relación entre el grado de atrofia duodenal (Marsh 3a-c) y el ADE: AUC 0,810 (0,702-0,917) (Figura 63) (Tabla 20).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



Análisis ROC	Valor
AUC	0,810 (0,702 – 0,917)
Punto de corte (Se=Sp)	14,2
Punto de corte (Youden)	13,7

Figura 63. Curva ROC relación entre atrofia duodenal y el ADE. Abreviaturas: ADE, Ancho de distribución eritroide: ROC, Característica operativa del receptor.

Hubo una asociación significativa (p = 0,007) entre atrofia duodenal y ADE; dando un umbral de 14,7 (13,7-17) (Tabla 20). Cuando utilizamos el umbral propuesto por Harmanci et al (ADE>17,25) se obtiene un VPP para atrofia del 100%. Si bien es necesario confirmar estos resultados con mayor número de pacientes.

Tabla 20. Correlación atrofia y ADE.

Atrofia duodenal Marsh 3	ADE	Valor p
No	13,2 (12,.8 - 13,5)	0,007
Sí	14,7 (13,7 - 17,0)	

Valores expresados en medianas y rangos intercuartílicos. Valor de p calculado con el test U de Mann-Whitney. Abreviaturas: ADE, Ancho de distribución eritroide.

Por el contrario, IgA-TG2 no se asoció con ADE (p = 0,605) (Tabla 21).

Tabla 21 Correlación IgA-TG2 y ADE.

Variable	IgA-TG2	Valor P
ADE	**-0,057**	**0,605**

Valores expresados en correlaciones de Spearman. Valor de p calculado con el test de correlaciones. Abreviaturas: ADE, Ancho de distribución eritroide.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.3 Resultados para el objetivo 4

4.3.1. Diagnóstico de EC en todos los grupos etarios

Se identificaron 294 nuevos casos de EC durante el período de 8 años (rango de edad 0,75-87,5 años). De ellos, 23 (8,01%) fueron identificados mediante cribado familiar.

Las Tablas 22 a 24 muestran los resultados de la prueba serológica de EC.

La BD y el genotipado HLA (realizados a 178 pacientes 60.54%) se observan en las Tablas 25 y 26, respectivamente. En la primera de ellas, se observa que la media de valores para la IgA-TG2 en la EC seropositivos es muy alta en menores de 5 años, que disminuye en niños mayores y adultos jóvenes y en adultos de mediana y avanzada edad, de forma estadísticamente significativa. En la segunda de ellas, se observa el comportamiento del IgA-EMA (variable categorizada según los títulos de IFI) en los celiacos seropositivos:

- Altamente significativos con relación a la titulación con respecto a la edad.
- Altamente significativa la correlación de estos títulos con la IgA-TG2.

La Tabla 25 muestra la clasificación al método de diagnóstico confirmatorio, por aplicación de guías ESPGHAN o con BD y del grado de atrofia duodenal en los pacientes biopsiados. Del global de los casos diagnosticados la biopsia fue el método utilizado para el diagnóstico en el 63,26% de los casos.

La Tabla 26 hace referencia al porcentaje de la distribución de haplotipos en las pruebas genéticas.

Las manifestaciones clínicas mostraron un patrón que ha cambiado a lo largo del tiempo, de manifestaciones clásicas a manifestaciones extraintestinales e intestinales no clásicas (ver más adelante, sección 4.3.4. Tendencias temporales en la incidencia de EC según la manifestación clínica).

Tabla 22. Resultados de IgA-TG2 para los diferentes grupos de edad

Grupos de edad	IgA-TG2	Valor p
0-4	1036,1 (1393,5)	<0,001
5-19	284,6 (543,1)	
20-44	328,1 (771,2)	
45-64	164,7 (454,3)	
65+	208,1 (562,1)	

Valores expresados en medias y desviación estándar. Valor p calculado por test de ANOVA. Abreviaturas: AC IgA-TG2, Anticuerpos antitransglutaminasa IgA.

Tabla 23. Resultados de IgA-EMA para los diferentes grupos de edad.

Grupo eda	IgA-EMA Categoría 0	IgA-EMA Categoría 1	IgA-EMA Categoría 2	IgA-EMA Categoría 3	IgA-EMA Categoría 4	Valor p
0-4	2 (3,2)	0 (0,0)	2 (3,2)	16 (25,8)	42 (67,8)	<0,001
5-19	5 (8,0)	1 (1,6)	10 (16,1)	30 (48,3)	16 (25,8)	
20-44	23 (28,4)	4 (5,0)	11 (13,6)	23 (28,4)	20 (24,7)	
45-64	13 (24,5)	2 (3,7)	12 (22,6)	18 (34,0)	8 (15,2)	
65+	9 (29,0)	4 (12,9)	7 (22,.5)	7 (22,5)	4 (12,9)	

Valores expresados en frecuencias absolutas y relativas. Valor p calculado por el test de Chi-cuadrado. Abreviaturas: EMA-IgA, anticuerpos IgA antiendomisio Categoría 0, no procede por valores de IgA-TG2 <2 U/mL; Categoría 1, IgA-EMA negativo; Categoría 2, IgA-EMA título 1:10-1:40; Categoría 3, IgA-EMA título 1:80-320; Categoría 4, IgA-EMA título 1:640-1:2560.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 24. Correlación entre IgA-EMA y IgA-TG2.

IgA-EMA	IgA- TG2	Valor p
Categoría 0	1,9 (3,8)	<0,001
Categoría 1	4,6 (2,8)	
Categoría 2	51,3 (100,5)	
Categoría 3	178,9 (346,7)	
Categoría 4	1106,1 (1312,4)	

Valores expresados en medias y desviación estándar. Valor p calculado por ANOVA test. Categoría 0, no procede por valores de IgA-TG2 <2 U/mL; Categoría 1, IgA-EMA negativo; Categoría 2, IgA-EMA título 1:10-1:40; Categoría 3, IgA-EMA título 1:80-320; Categoría 4, IgA-EMA título 1:640-1:2560. Abreviaturas: AC IgA-TG2, Anticuerpos IgA antitransglutaminasa; IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio.

Existe una correlación altamente significativa del IgA-EMA con la IgA-TG2, a todas las edades y en todos los rangos. El estudio hace diluciones tanto de IgA-TG2 como titulaciones de IgA-EMA (p <0,001) y en el 100% de los casos se confirma el diagnóstico.

La obligatoriedad de confirmar en una segunda muestra con IgA-EMA todos los casos positivos de IgA-TG2 por encima de 10 veces el LSN según las guías ESPGHAN, hace que en muchos hospitales no se puedan aplicar estas guías porque no disponen de los reactivos, ni de microscopio de fluorescencia, ni de personal experto para informarlo. Las directrices de la OMS ya lo exponen (195).

En estos casos se podría confirmar en una segunda muestra repitiendo la IgA-TG2, siempre informando un valor exacto dentro de la curva de calibración (diluir la muestra) y utilizar el IgA-EMA (antiecológica, cara y cualitativa) solo en casos con valores intermedios o dudosos de IgA-TG2 para aumentar la evidencia de cara a la biopsia. Este aspecto ya lo habíamos apuntado en el objetivo de esta Tesis enfocado al diagnóstico de EC en niños, ahora se muestra para todas las edades.

Tabla 25. Método de diagnóstico y grado de Marsh-Oberhuber*.

Clasificación de acuerdo el principal test utilizado para la confirmación diagnóstica.	%	n
BD	63,26	186
Diagnóstico por guías ESPGHAN	32,31	95
Sólo pruebas serológicas y genéticas	3,74	11
Otras biopsias		
Biopsia de piel	1,36	4
Grado de atrofia en la biopsia (grado de Marsh)		
Marsh 0	1,02	3
Marsh 1	4,76	14
Marsh 2	4,42	13
Marsh 3a	11,56	34
Marsh 3b	33,33	98
Marsh 3c	7,82	23

***Clasificación de Marsh-Oberhuber (171). Abreviaturas: BD, Biopsias duodenales; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*.**

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 26. Distribución genética.

Distribución genética	%	n
HLA DQ 2.5	77,53	138
HLA DQ 8	6,74	12
HLA DQ 2.2	6,18	11
HLA DQ 2.5 + DQ8	5,62	10
No DQ	3,93	7

Abreviaturas: ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology.*

4.3.2. Tendencias temporales en la incidencia de EC

La incidencia anual general de EC aumentó de 13,11 por 100.000 en 2012 a 20,92 por 100.000 en 2019 (Tabla 27). Incidencia media total fue de 17,00 por 100.000 (IC 95%: 15,05 – 18,94). En la tabla 28 se muestra la incidencia de EC por año atendiendo al sexo.

4.3.3. Tendencias temporales de la incidencia de EC según edad y sexo

Los resultados de la incidencia de EC por grupo de edad y sexo se resumen en la Tabla 29.

En cuanto a los grupos de edad, la incidencia infantil fue establemente alta durante todo el período de estudio en comparación con los grupos de edad restantes (Tabla 29, Figuras 64 A y B). En los grupos de edad adulta y anciana las tasas de incidencia anual aumentaron durante el período de estudio. Así, la tasa de incidencia por 100.000 personas /año fue de 6,79 en 2012 y de 16,55 en 2019. En mujeres de 45 a 64 y de 65 a 84 años se observaron aumentos significativos de la incidencia en comparación con los hombres en los mismos rangos de edad (Tabla 29, Figura 64).

Al considerar el sexo, cabe señalar tendencias temporales divergentes en la EC. Entre las mujeres, la incidencia aumentó de 2016 a 2019, mientras que, entre los hombres, la incidencia ha disminuido desde 2016 (Figura 65).

Tabla 27. Incidencia de EC por 100.000 personas/año atendiendo a etapa etaria (media ± IC 95%).

Año	Total	Niños/Adolescentes	Adultos/Ancianos
2012	13,11 (8,33 - 17,88)	53,69 (27,38 - 79,99)	6,79 (3,09 - 10,48)
2013	18,66 (12,94 - 24,37)	51,13 (25,62 - 76,99)	13,68 (8,42 - 18,93)
2014	18,36 (12,67 - 24,04)	61,46 (33,07 - 89,84)	11,67 (6,79 - 16,54)
2015	13,89 (8,91 - 18,86)	37,86 (15,49 - 60,22)	10,17 (5,59 - 14,74)
2016	15,39 (10,13 - 20,64)	55,14 (28,12 - 82,15)	9,17 (4,81 - 13,52)
2017	18,35 (12,59 - 24,10)	34,53 (13,13 - 55,92)	15,79 (10,04 - 21,53)
2018	17,52 (11,87 - 23,61)	48,27 (22,99 - 73,54)	12,63 (7,46 - 17,79)
2019	20,92 (14,73 - 27,10)	48,20 (22,95 - 73,44)	16,55 (10,62 - 22,47)

Abreviaturas: EC, Enfermedad Celiaca; IC, intervalo de confianza.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 28. Incidencia de EC por 100.000 personas/año atendiendo a sexo (media ± IC 95%).

Año	Total	Hombres	Mujeres
2012	13,11 (8,33 - 17,88)	9,31 (3,53 - 15,08)	16,70 (9,19 - 24,20)
2013	18,66 (12,94 - 24,37)	16,89 (9,08 - 24,69)	20,33 (12,02 - 28,63)
2014	18,36 (12,67 - 24,04)	14,20 (7,01 - 21,38)	22,27 (13,54 - 30,99)
2015	13,89 (8,91 - 18,86)	15,29 (7,79 - 22,78)	12,58 (5,99- 19,16)
2016	15,39 (10,13 - 20,64)	11,56 (5,02 - 18,09)	19,00 (10,87 - 27,12)
2017	18,35 (12,59 - 24,10)	17,49 (9,40 - 25,57)	19,15 (10,96 - 27,33)
2018	17,52 (11,87 - 23,61)	14,68 (7,25 - 22,20)	20,20 (11,76 - 28,63)
2019	20,92 (14,73 - 27,10)	8,84 (3,06 - 14,61)	32,24 (21,56 - 42,91)

Abreviaturas: EC, Enfermedad Celiaca; IC, Intervalo de confianza.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 29. EC Incidencia de EC por sexo y grupo de edad por 100.000 personas/año (media ± IC 95%).

	Periodo			
Edad Grupo	**2012-2013**	**2014-2015**	**2016-2017**	**2018-2019**
Mujeres				
0-4	109,62 (33,69 – 185,54)	140,02 (53,29 – 226,74)	127,26 (44,16 – 210,35)	129,35 (44,89 – 213,80)
5-19	41,33 (14,33 – 68,32)	14,05 (0,81 – 29,94)	33,04 (8,56 – 75,51)	51,33 (21,00 – 81,65)
20-44	20,14 (9,59 – 30,68)	16,65 (6,81 – 26,58)	23,97 (11,84 – 36,09)	25,26 (12,47 – 38,04)
45-64	8,4 (1,03 – 15,76)	13,17 (4,04 – 22,29)	12,91 (3,96 – 21,85)	20,63 (9,41 – 31.84)
65-84	9,2 (1,13 – 17,26)	9,46 (1,16 – 17,75)	7,82 (0,15 – 15,48)	16,07 (4,93 – 27,20)
≥85	6,92 (0,16 – 20,48)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	5,9 (0,24 – 17,46)
Hombres				
0-4	119,08 (41,32 – 196,83)	94,43 (24,50 – 164,35)	108,62 (33,39 – 183,84)	42,16 (0,02 – 89,86)
5-19	30,64 (7,94 – 53,33)	44,58 (16,95 – 72,20)	31,32 (8,12 – 54,51)	39,92 (13,84 – 64,99)
20-44	10,02 (2,59 – 17,44)	7,55 (0,93 – 14,16)	12,75 (3,91 – 21,58)	8,37 (1,03 – 15,70)
45-64	3,24 (0,63 – 7,72)	6,43 (0,12 – 12,73)	8,01 (0,99 – 15,02)	9,59 (0,91 – 17,26)
65-84	4,55 (0,75 – 10,85)	9,25 (0,18 – 18,31)	4,67 (0,08 – 11,14)	2,35 (0,12 – 6,95)
≥85	12,46 (0,01 – 36,87)	11,5 (0,01 – 34,04)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
Total				
0-4	96,92 (50,87 – 142,96)	104,61 (56,.30 – 152,91)	93,97 (47,94 – 139,99)	66,07 (27,03 – 105,10)
5-19	35,86 (18,29 – 53,42)	29,69 (13,55 – 48,82)	32,16 (15,31 – 49,00)	43,20 (23,77 – 62,62)
20-44	14,35 (8,66 – 20,63)	12,09 (6,16 – 18,01)	18,35 (10,85 – 25,84)	18,48 (10,75 – 26,20)
45-64	6,6 (2,02 – 11,17)	10,57 (4,82 – 16,31)	10,45 (4,77 – 16,12)	15,13 (8,32 – 21,93)
65-84	7,12 (1,84 – 12,39)	9,37 (3,24 – 15,49)	6,39 (1,27 – 11,50)	9,75 (3,38 – 16,11)
≥85	8,9 (0,11 – 21,23)	4,15 (0,94 – 12,88)	0,0 (0,0 – 0,0)	3,78 (0,77 – 11,18)

Abreviaturas: EC, Enfermedad Celiaca; IC, intervalo de confianza.

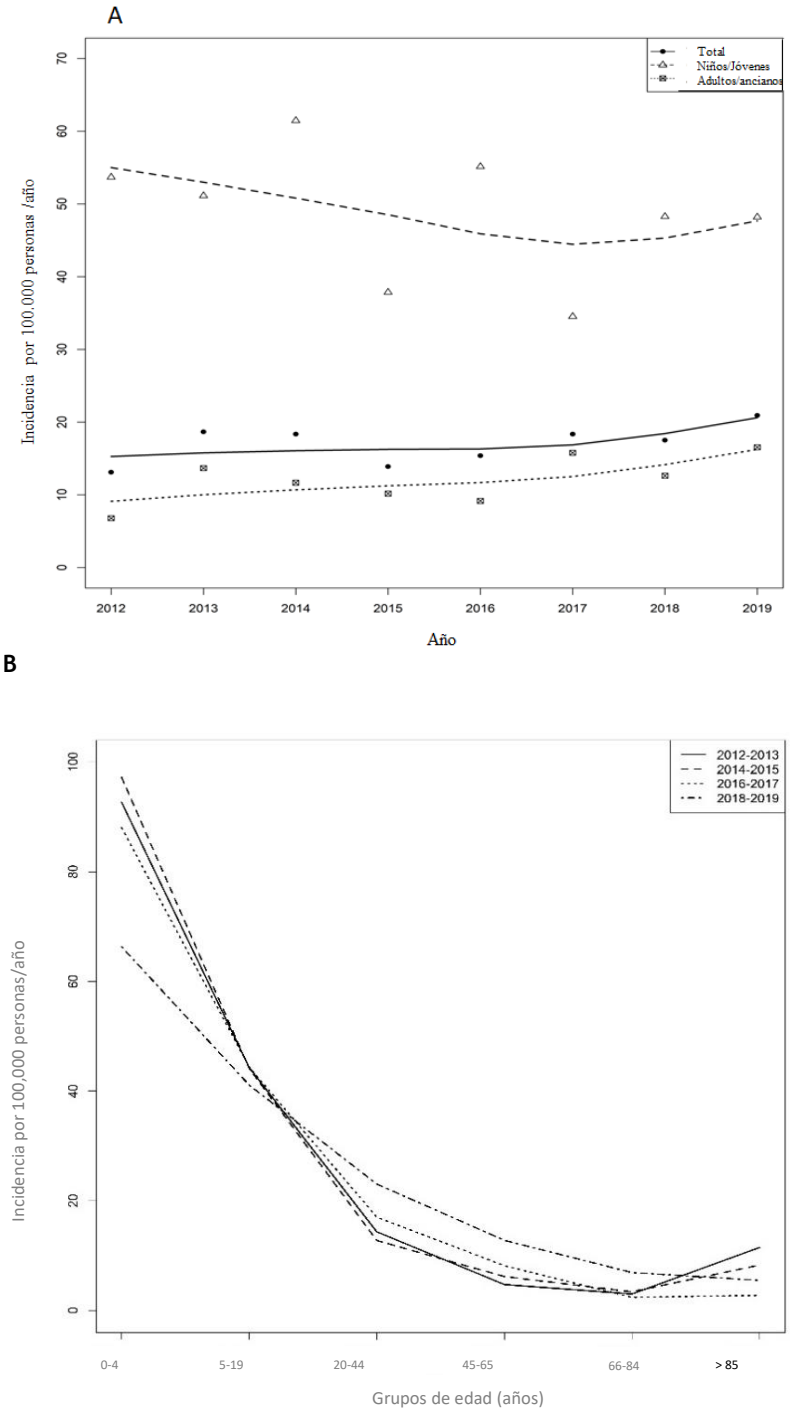


Figura 64. Loess Smoothing y predicción en (A) niños/adolescentes versus Adultos ancianos y (B) bianual por grupos de edad.

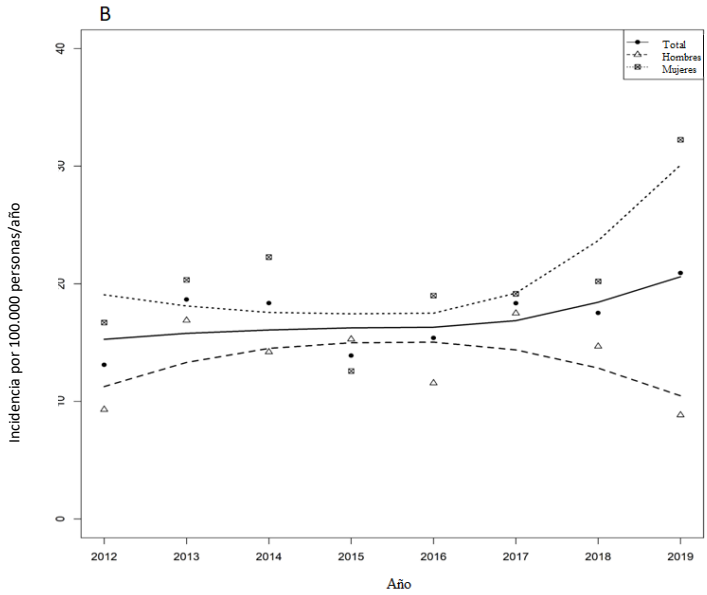


Figura 65. Loess Smoothing y predicción por sexo.

4.3.4. Tendencias temporales de la incidencia de EC según manifestaciones clínicas

Observamos un patrón de CD cambiante; disminuyendo la incidencia de manifestaciones clásicas (diarrea, pérdida de peso), y aumentando la incidencia de las extraintestinales (anemia, osteoporosis, infertilidad, etc.) e intestinales no clásicas (distensión abdominal, esofagitis, etc.) (Figura 66).

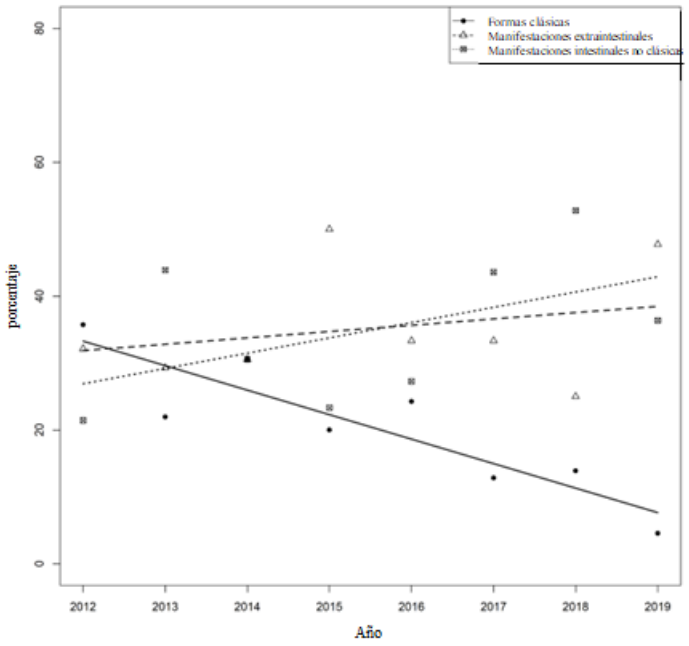


Figura 66. Líneas de regresión ANCOVA de proporción de manifestaciones de EC. Abreviaturas: ANCOVA, análisis de covarianza; EC, Enfermedad Celíaca.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.4 RESULTADOS PARA EL OBJETIVO 5

4.4.1 Plan de mejora

Se traslada a la práctica clínica, con fecha de implantación el 23 de junio de 2023, el uso de los nuevos VR postulados en esta Tesis Doctoral, diferenciando entre niños y adultos para aumentar la sensibilidad diagnóstica y disminuir el porcentaje de falsos negativos.

Este plan es aprobado en mediante un proceso de auditoría y por la responsable de calidad del programa de mejora 7-2023: "Modificación de los Valores de Referencia en niños y adultos para la Enfermedad Celíaca, basados en un estudio prospectivo propio con resultados histológicos de biopsias intestinales" e igualmente del anexo: "Algoritmo diagnóstico. Criterios informáticos. Petitorio electrónico" con el código PNT_10 Ed.3, aprobado en la fecha 30/06/2023 certificado por ENAC dentro de la norma UNE-EN-ISO 15189:2023 (Anexo 10.5).

4.4.2 Establecimiento de nuevos VR diferenciados entre niños y adultos

Para establecer el umbral de detección se estudió el rendimiento diagnóstico de IgA-TG2 en EC confirmada y IgA-TG2 y atrofia duodenal mediante curvas ROC.

Se revisaron los hallazgos histológicos de 293 biopsias de pacientes sometidos a endoscopia con biopsia, de las cuales 264 eran de adultos. Son todas las BD realizadas en el HULA durante el periodo que incluye desde enero 2012 a diciembre 2019.

Se establecieron nuevos VR diferenciando entre niños y adultos. Los criterios informáticos utilizados son:

- **En niños:**

  1) Anular el IgA-EMA si la IgA-TG2 es < 8 U/mL. No se hacen más estudios.

  2) Si el valor de IgA-TG2 es entre 8,1-79,8 U/mL se hace se hace IgA-EMA en todos los casos. Se utilizará una dilución de IgA-EMA de 1/5 como *cut-off* positivo por recomendación de las guías ESPGHAN 2020. Se activa la vía rápida.

  3) Con valores de IgA-TG2 ≥ 80 U/mL se realizan dos determinaciones en muestras diferentes: el IgA-EMA se determina en la segunda muestra, confirmatoria de IgA-TG2. En éstos se activa la vía rápida.

  4) Siempre se informa el valor exacto de IgA-TG2 haciendo las diluciones necesarias hasta obtener un valor dentro de la curva de calibración. (1ª dilución 1/20)

  5) Anular IgA-EMA en seguimientos ESPGHAN cuando en el acumulado se compruebe que la IgA-TG2 está en descenso.

  6) Se utilizará una dilución de IgA-EMA de 1/5 como *cut-off* positivo por recomendación de las guías ESPGHAN 2020

- **En adultos:**

  1) Se utiliza el *cut-off* de 5 U/mL como valor positivo (basados en curvas ROC de rendimiento diagnóstico).

  2) Valores comprendidos entre 2-5 U/mL se corresponderán con zona gris o bordeline positivo (basados en las medianas para grados histológicos bajos y consenso clínico para nuestra población).

  3) Todos los valores de IgA-Tg2 >2 U/mL se confirman con IgA-EMA para detectar seronegativos y tener más datos serológicos que indiquen la biopsia.

  4) Se utilizará una dilución de IgA-EMA de 1/5 como *cut-off* positivo por recomendación de las guías.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A continuación, en las Figuras 67-68 y las Tablas 30-32 se muestran los análisis ROC para la IgA-TG2, para la EC y la atrofia duodenal y las medidas de precisión.

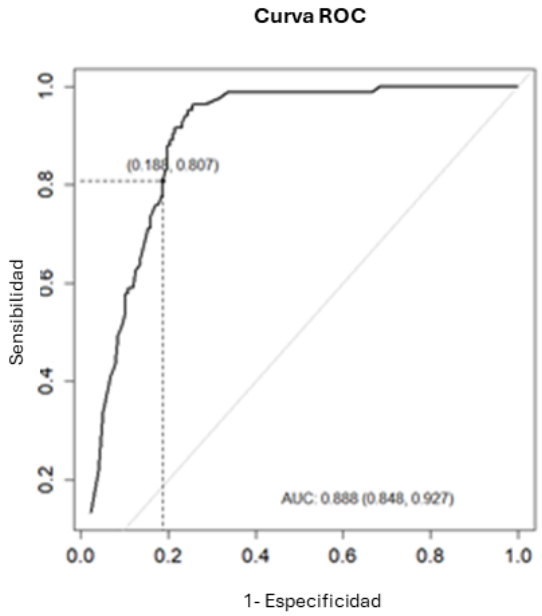


Figura 67. Análisis ROC. Rendimiento diagnóstico de transglutaminasa sobre enfermedad celiaca confirmada.

Tabla 30. Umbral y medidas de precisión IgA-TG2/EC.

Analisis ROC	Valor
AUC	0,88 (0,848 - 0,927)
Cutpoint (Youden)	9,0
Sensibilidad	0,96
Especificidad	0,74
PPV	0,64
NPV	0,97

Abreviaturas IgA-TG2, Anticuerpos IgA antitransglutaminasa 2; EC, Enfermedad Celiaca.

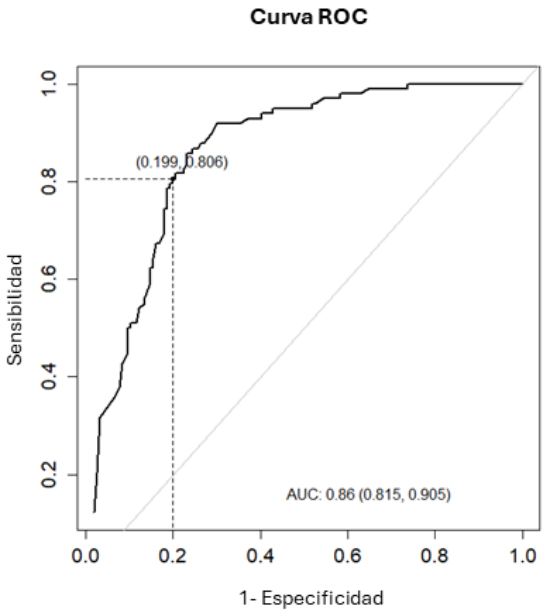


Figura 68. Análisis ROC. Rendimiento diagnóstico de transglutaminasa sobre atrofia duodenal.

Tabla 31. Umbral y medidas de precisión IgA-TG2/atrofia

Analisis ROC	Valor
AUC	0,860 (0,815 - 0,905)
Cutpoint (Youden)	8,00
Cutpoint (Se=Sp)	5,1
Sensibilidad	0,80
Especificidad	0,80
VPP	0,71
VPN	0,86

Tabla 32. Valor predictor de atrofia.

Atrofia	IgA-TG2	Valor de p
No	1,3 (0,3-4,2)	<0,001
Si	56,00 (9,4-151)	

Valores expresados en medianas y rangos intercuartilicos
Valor de p calculado con el test U de Mann-Whitney

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Para una decisión clínica aumentamos la sensibilidad admitiendo que hay falsos negativos, para una decisión biológica aumentamos la especificidad admitiendo que hay falsos positivos. Hemos buscado para adultos el punto Sensibilidad=Especificidad.

4.4.3 Análisis de modificación de valores y de seronegativos

En las Figuras 69-74 se indican los siguientes aspectos:

- La diferencia de medias de IgA-TG2 para niños y adultos (Figura 67). Como puede observarse los valores de IgA-TG2 son menores en adultos, por lo que no se deben usar los mismos VR. Nuestros datos ponen de manifiesto que existen enfermos celiacos con grados altos de atrofia duodenal con valores *bordeline* o positivos bajos. Debemos considerar estos valores y hacer una correcta derivación rápida para evitar falsos negativos.

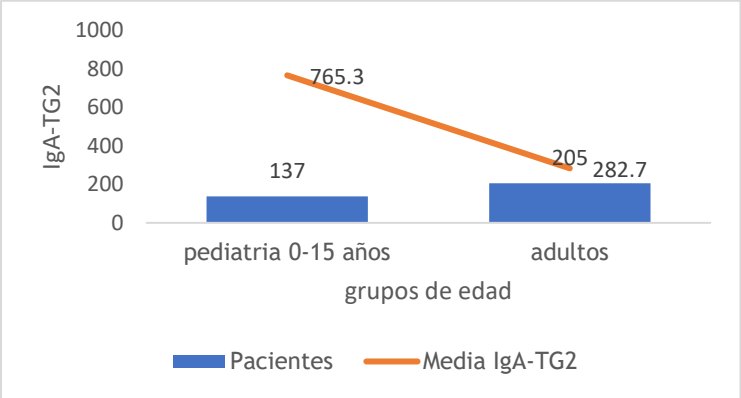


Figura 69. Diferencia de medias de IgA-TG2 para niños y adultos.

- Grados de Marsh en los distintos intervalos de valores de IgA-TG2 (Figuras 70-71). Se ha constatado que al aumentar el grado de Marsh lo hacen los valores de IgA-TG2 ($p<0,001$). Además, en grados sin atrofia (0-2) pero con EC se pueden encontrar valores de IgA-TG2 entre 2 y 4 (Tabla 33).

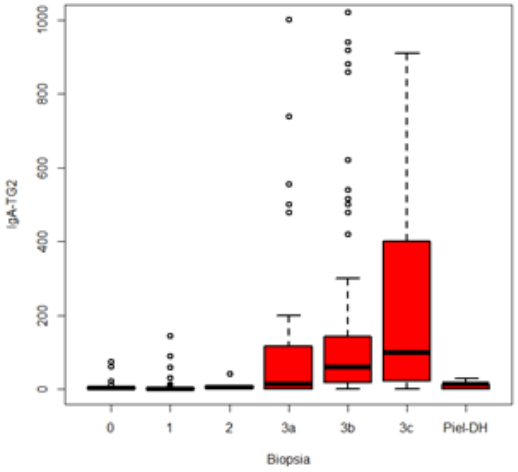


Figura 70. Valores de las medianas ±95% IC. Abreviaturas IgA-TG2, anticuerpos IgA anti tranglutaminasa 2, DH, dermatitis herptiforme.

Tabla 33. IgA-TG2 según tipo de biopsia y Grado de atrofia Marsh en la BD.

Biopsia tipo	IgA-TG2	Valor de p
0	3,1 (2,1 - 4,8)	<0,001
1	0,4 (0,2 - 2,5)	
2	4,0 (3,3 - 9,7)	
3a	14,0 (1,2 - 116)	
3b	60,0 (18,0 - 142)	
3c	98,0 (22,0 - 339)	
Piel-DH	13,0 (0,8 - 13,0)	

Valores expresados en medianas y rangos intercuartílicos. Valor de p calculado con el test de Kruskal-Wallis.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Estos valores nos darán las pautas para establecer los valores *bordeline* positivos. Se han estudiado los valores bordeline para EC, obteniendo los valores de las medianas con un IC del 95%. Se observan que son significativos para el grado de atrofia. En base a estos valores se establecen los valores *bordeline* que confirmamos con IgA-EMA para hacer el diagnóstico diferencial con otros procesos y dar más garantía a la solicitud de biopsia.

Como puede observarse en la Figura 72 en valores *bordeline* y negativos presentan igualmente diferentes grados de alteración histológica. Es por esto por lo que consideramos estudiar en profundidad y dar valor a valores bajos en adultos. En estos casos se deben valorar la clínica, y recomendamos también la genética que por su alto VPN cobra máxima importancia en el diagnóstico diferencial.

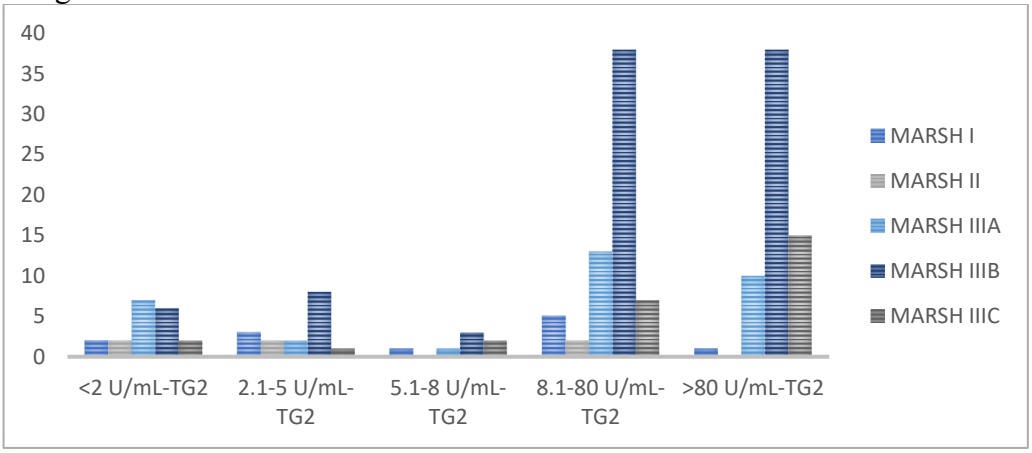


Figura 71. Clasificación de grados de Marsh para los intervalos definidos de valores de IgA-TG2. Abreviaturas: TG2, IgA Transglutaminasa 2.

Como puede observarse (Figura 72-73) en adultos, hay casos de seronegativos que tienen distintos grados de atrofia duodenal, no se puede descartar la EC en adultos con valores bajos de IgA-TG2. Sin embargo, según nuestros resultados se podrían diferenciar los verdaderos seronegativos que son los que presentan valores <2 U/mL (11.43%) y los seronegativos por considerar el mismo umbral que se utiliza para niños (13,14)

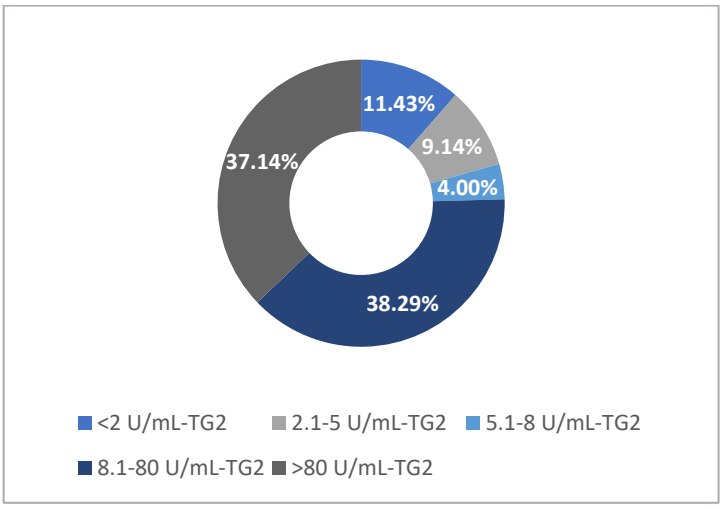


Figura 72. Porcentaje de seronegativos y seropositivos de EC en adultos. Abreviaturas: IgA-TG2, Anticuerpos IgA transglutaminasa 2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Utilizando los nuevos VR se podrían diagnosticar hasta un 13,2% más de adultos con EC.

Como puede observarse (Figura 72) en adultos, con el nuevo umbral para adultos se conseguiría detectar el 13,1 % de los considerados seronegativos utilizando el *cut-off* de niños. Para una correcta clasificación especialmente en valores bajos/bordeline es necesario confirmar la IgA-TG2 con IgA-EMA, ya que este parámetro puede ser discriminativo (junto con la clínica y la genética si está disponible) para la decisión de realizar una BD (Figura 74)

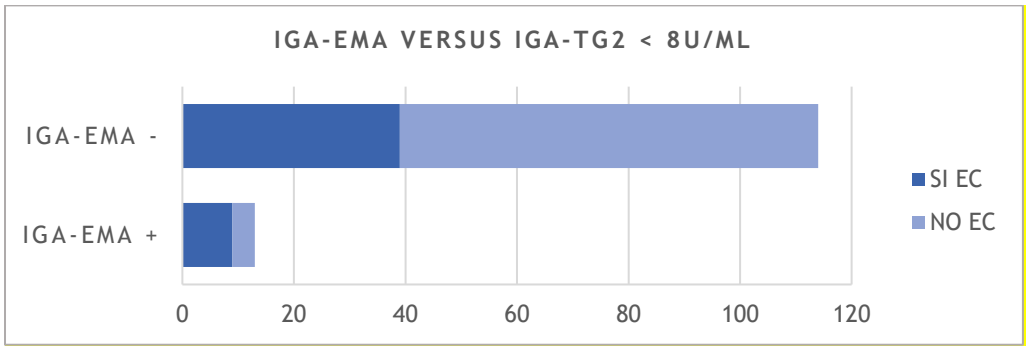
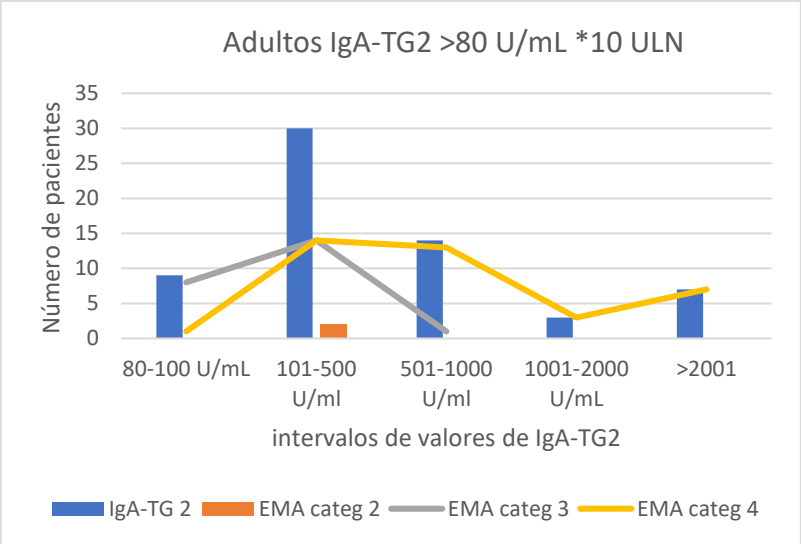


Figura 73. Valor de IgA-EMA en seronegativos para EC. Abreviaturas: IgA-EMA, anticuerpos antiendomisio IgA; EC, Enfermedad Celiaca.

Al igual que habíamos hecho para edades pediátricas (mostrado en apartados anteriores), hemos estudiado los valores altos de >IgA-TG2 (≥80 U/mL) para observar la correlación con la variable cualitativa IgA-EMA también en adultos. Se presentan gráficamente los resultados de ambas variables cuando la IgA-TG2 > 80U/mL para adultos, Observamos que los valores de IgA-EMA son positivos en el 100% de los casos a títulos altos, de la misma forma que sucedía en edad pediátrica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



IgA-EMA	categoría
No procede <2 IgA-TT2	0
Negativo	1
1:10-1:40	2
1:80-1:320	3
1:640-1:2560	4

Figura 74. Relación entre valores séricos de IgA-TG2 y títulos de IgA-EMA. Abreviaturas: IgA-EMA, anticuerpos antiendomisio IgA; IgA-TG2, anticuerpos antitransglutaminasa 2.

El IgA-EMA tiene especial utilidad para los valores bajos, aporta evidencia para tener una la confirmación bioquímica y derivar al paciente a digestivo para realizar la biopsia duodenal.

En adultos es importante tener en cuenta que la BD detecta además otras patologías asociadas. En nuestro estudio hemos detectado los hallazgos que se muestran en la Tabla 34.

Tabla 34. Hallazgos endoscópicos en EC.

Otros hallazgos endoscópicos	26,70%
Esofagitis	19,35
Gastritis	80,65%
Helicobacter Pylori	52%
Gastritis crónica/Pólipos gástricos	28%
Gastritis erosiva/metaplasia/colitis linfocítica	16%
Linfoma gástrico	4%

Por ello la decisión de la no Biopsia en adultos todavía no está aceptada ni generalizada y en su caso siempre debe hacerse en pacientes seleccionados.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.5 RESULTADOS PARA EL OBJETIVO 6

4.5.1 Integración de vía rápida en el SIL y en el IANUS

La puesta en marcha de este plan, previamente establecido como plan de mejora, se basa en la ejecución de los supuestos 3.5.2.2.

En estos supuestos establecidos por la autora de esta Tesis Doctoral desde el Laboratorio de Análisis Clínicos del HULA.

Basado en los valores bioquímicos de los biomarcadores específicos, cuando se detectan los nuevos casos de EC, se establece una alarma médica informática que genera una tele consulta no presencial al servicio de digestivo para derivación rápida del paciente al especialista en digestivo, para que realice una confirmación precoz de la EC (ESPGHAN o BD) (Anexo 10.6) y el establecimiento del tratamiento que evite complicaciones (Figura 75-76). El flujo de trabajo de la vía rápida se indica en la Figura 77.

Este sistema de alerta también se realiza en las sospechas de transgresiones con un sistema que recomienda al médico peticionario la petición de GIP en orina.

A continuación, se muestra una infografía que resume la ejecución de todos los supuestos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

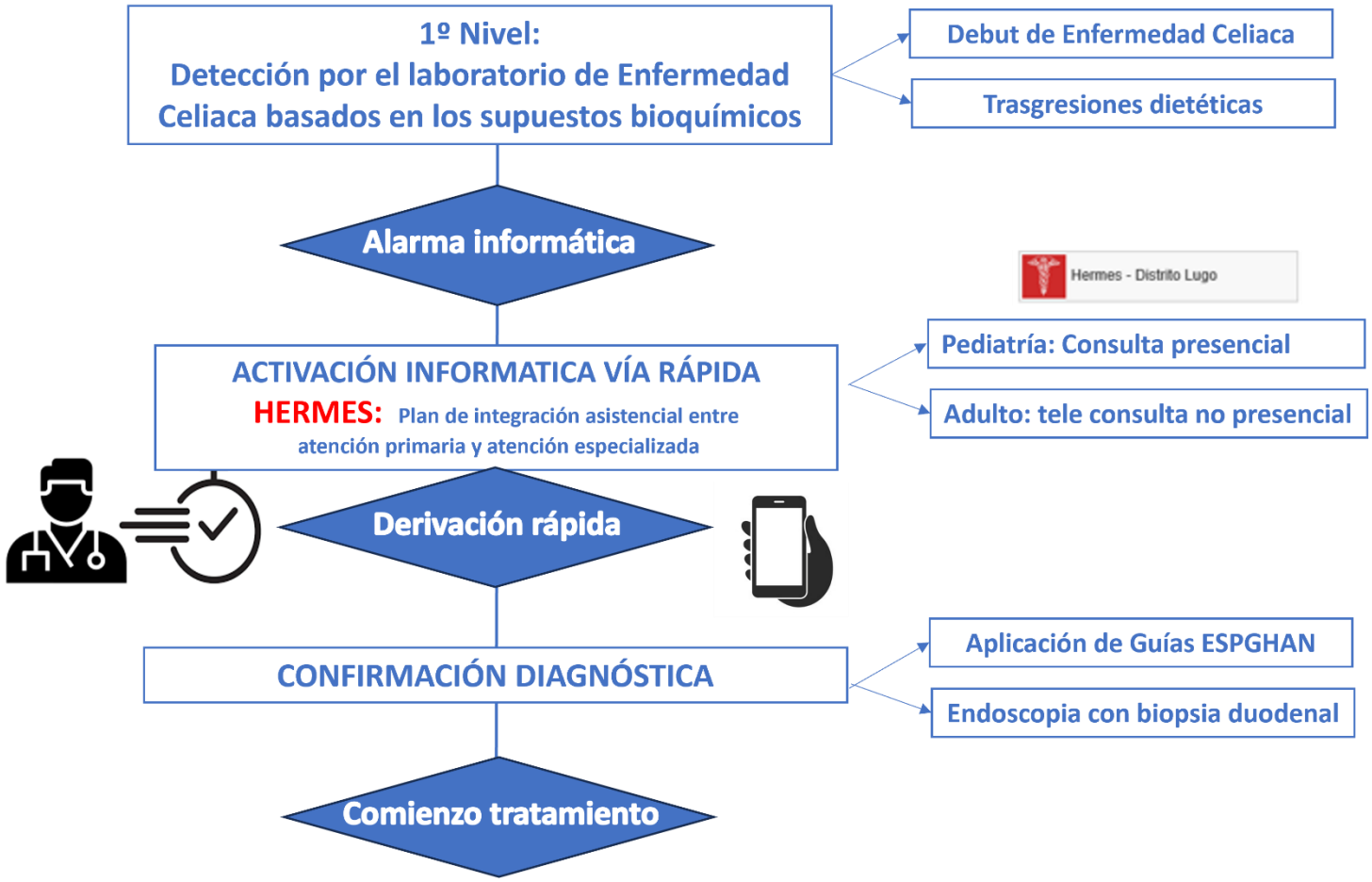
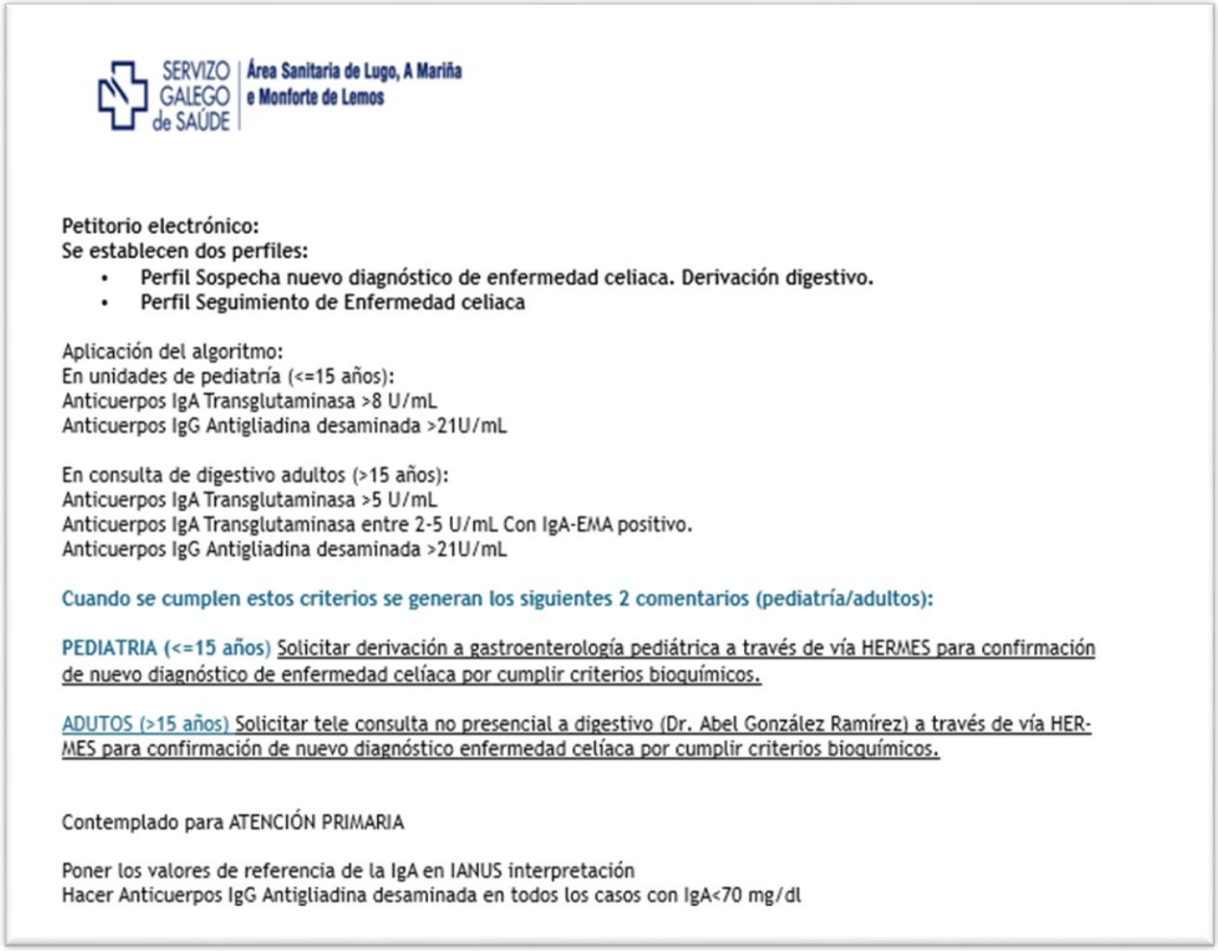


Figura 75. Infografía: establecimiento de un sistema de derivación rápida para la confirmación diagnóstico de enfermos/as celiacos/as.

Desde el laboratorio se integran en el SIL los comentarios en la figura 76 según la vía rápida que se ejecute (pediatría o adultos).



SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

Petitorio electrónico:
Se establecen dos perfiles:

- **Perfil Sospecha nuevo diagnóstico de enfermedad celiaca. Derivación digestivo.**
- **Perfil Seguimiento de Enfermedad celiaca**

Aplicación del algoritmo:
En unidades de pediatría (<=15 años):
Anticuerpos IgA Transglutaminasa >8 U/mL
Anticuerpos IgG Antigliadina desaminada >21U/mL

En consulta de digestivo adultos (>15 años):
Anticuerpos IgA Transglutaminasa >5 U/mL
Anticuerpos IgA Transglutaminasa entre 2-5 U/mL Con IgA-EMA positivo.
Anticuerpos IgG Antigliadina desaminada >21U/mL

Cuando se cumplen estos criterios se generan los siguientes 2 comentarios (pediatría/adultos):

PEDIATRIA (<=15 años) Solicitar derivación a gastroenterología pediátrica a través de vía HERMES para confirmación de nuevo diagnóstico de enfermedad celíaca por cumplir criterios bioquímicos.

ADUTOS (>15 años) Solicitar tele consulta no presencial a digestivo (Dr. Abel González Ramírez) a través de vía HERMES para confirmación de nuevo diagnóstico enfermedad celíaca por cumplir criterios bioquímicos.

Contemplado para ATENCIÓN PRIMARIA

Poner los valores de referencia de la IgA en IANUS interpretación
Hacer Anticuerpos IgG Antigliadina desaminada en todos los casos con IgA<70 mg/dl

Figura 76. Comentarios de ejecución de la vía rápida a partir de los perfiles generados en el petitorio electrónico.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

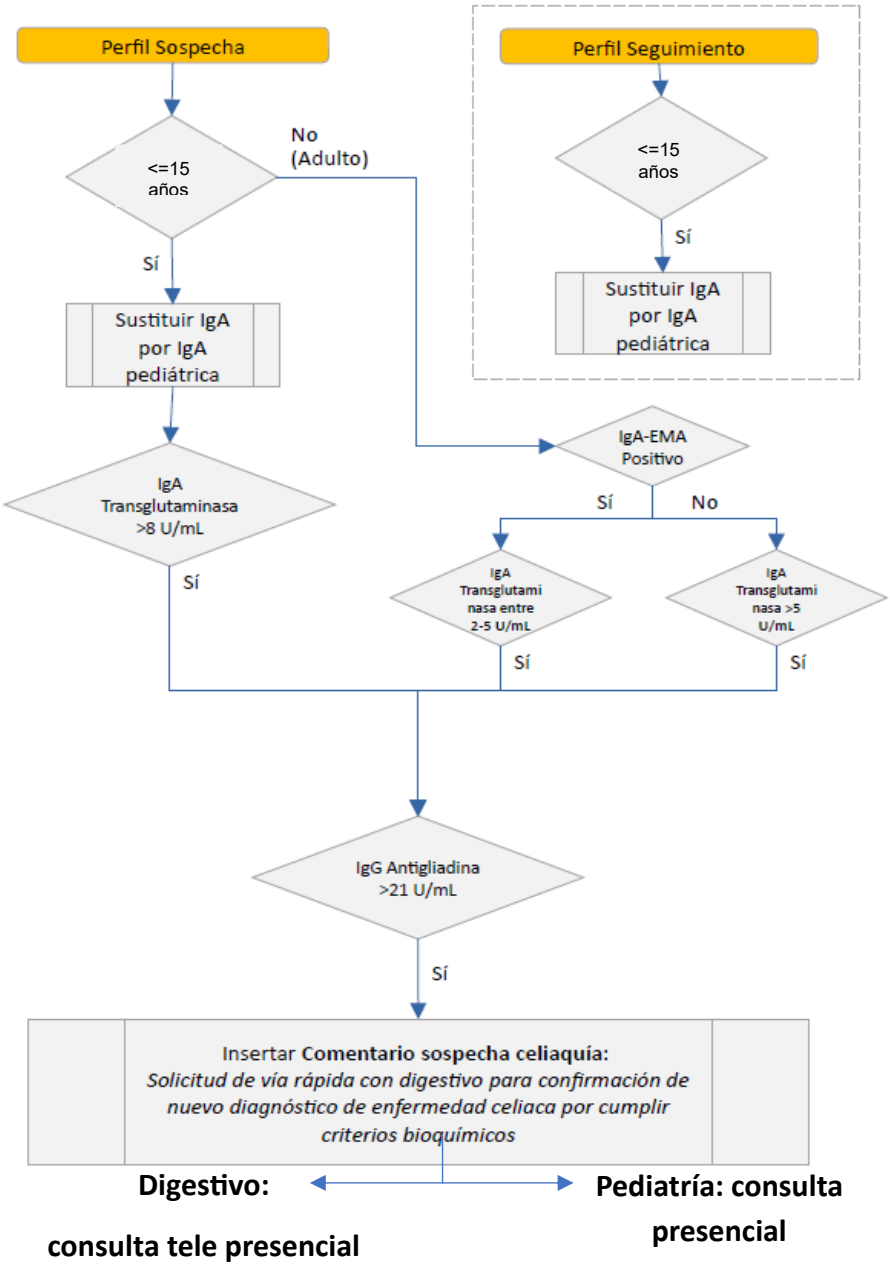


Figura 77. Flujo de trabajo establecimiento de la vía rápida.

4.5.2 Resultados preliminares de ejecución

- Desde que se estableció la vía rápida hasta el mes de febrero del presente año se ha aplicado la vía rápida en 48 pacientes. 22 (46%) han tenido derivación a pediatría y 26 (54%) a la unidad de digestivo de adultos (Figura 78).
- De los pediátricos 15 pacientes (68,2%) tienen confirmación diagnóstica y 7 en seguimiento para realizar la segunda determinación y/o realizar biopsia por no cumplir criterios ESPGHAN. Todos ellos accedieron a la unidad de gastroenterología pediátrica entre 15 días y un mes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Con respecto a los adultos 20 pacientes (76,9%) se les citó directamente a través de una consulta telepresencial para realizar la biopsia ya tienen la confirmación diagnóstica en una media de 28 días. (1 de ellos no tenía EC sino un adenoma velloso de colon) y otro rechazó la biopsia, pero se confirmó EC por la respuesta a la DLG. En la Figura 79 se muestran los resultados histológicos y de aplicación de la vía rápida.

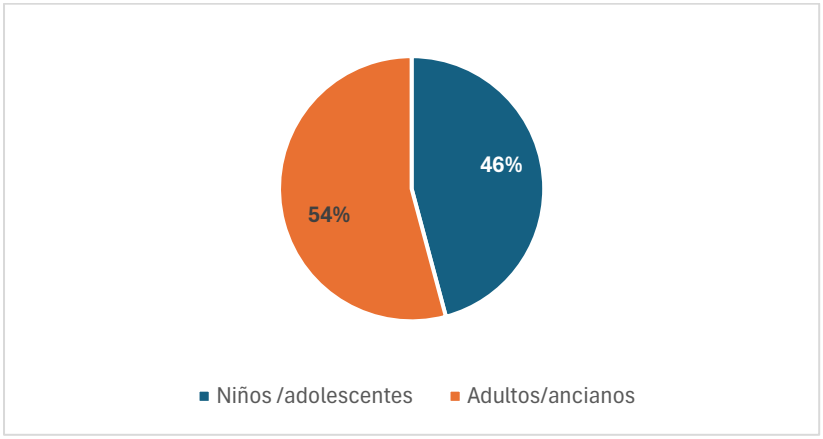


Figura 78. Aplicación de la vía rápida. Porcentaje de aplicación por edad.

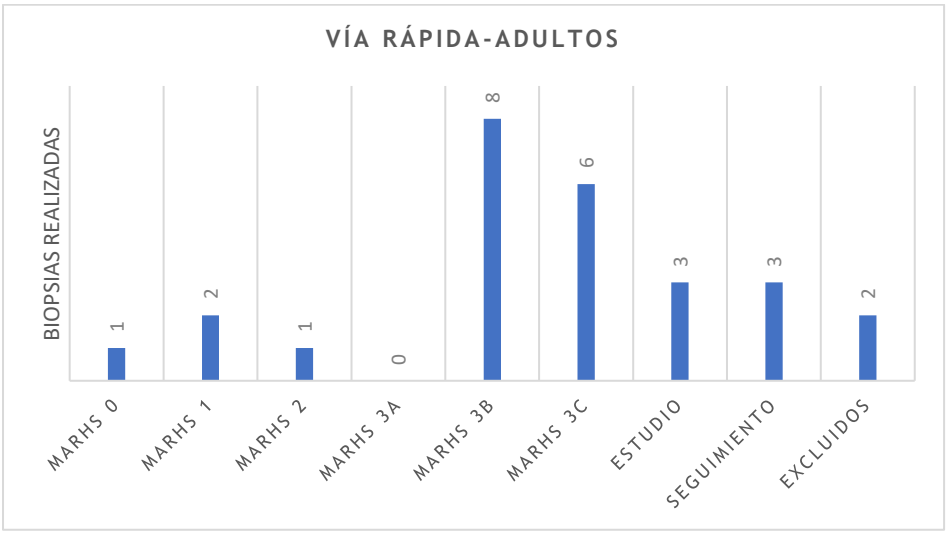


Figura 79. Casos derivados a estudio por vía rápida en adultos.

4.6 Balance general de la aplicación de los algoritmos y la modificación de las guías ESPGHAN 2020. Gestión de la demanda

Para concluir este apartado, exponemos un balance general de la aplicación de los nuevos algoritmos ESPGHAN 2020 y, proponemos un resumen que sirva para comprobar la contribución de estos algoritmos a la gestión de la demanda de las pruebas.
A lo largo del estudio se observa un aumento progresivo de las peticiones excepto en el 2020 debido al cierre de consultas por la pandemia mundial (Figura 80).
La sospecha clínica es cada vez mayor y la disponibilidad y accesibilidad a las pruebas en todas las unidades sanitarias está totalmente generalizada.
Por último, hemos calculado las diferencias de petitorios (Figura 81) cuando se han aplicado las guías 2020, especialmente las directrices que tienen que ver con los marcadores serológicos y el laboratorio, entre ellas en la directriz Nº 5 (ver apartado 1.6.1.2) que recomienda utilizar únicamente 1 técnica en el primer paso de diagnóstico utilizando la IgG-DGP sólo en el déficit de IgA. Para ello comparamos 2 años previos y posteriores a la implantación de las guías.

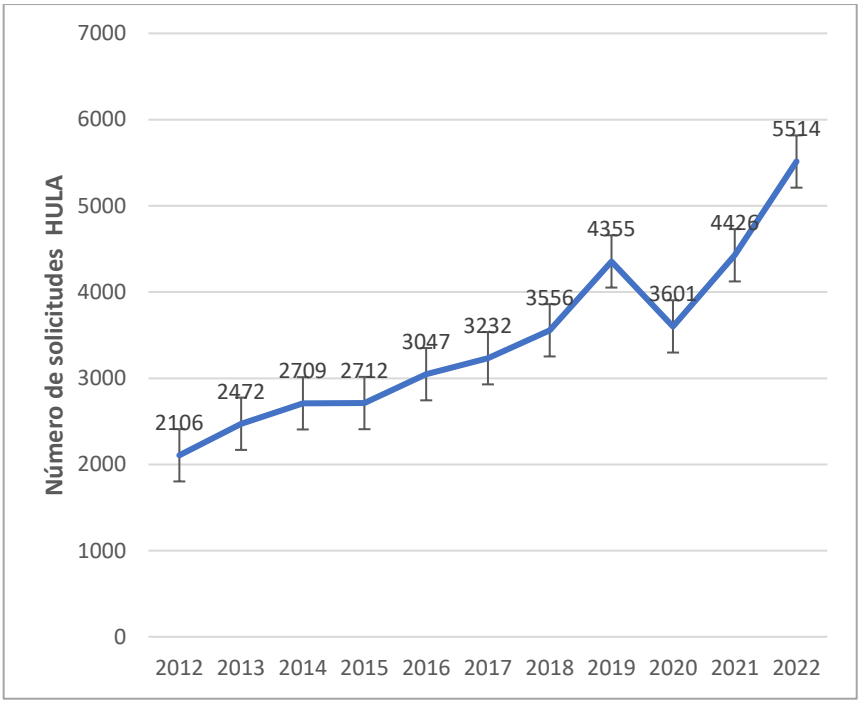


Figura 80. Aumento de peticiones desde la aplicación del algoritmo. N=37.730. Abreviaturas: HULA, Hospital Universitario Lucus Augusti.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CRITERIOS ESPGHAN 2012			
Periodo bianual	2018/2019		
AÑO	IgA-TG2	IgG-DGP	IgA-EMA
2018	3556	486	221
2019	4355	457	219
Total	**7911**	**943**	**440**
CRITERIOS ESPGHAN 2020			
Periodo bianual	2021/2022		
AÑO	IgA-TG2	IgG-DGP	IgA-EMA
2021	4426	285	209
2022	5514	310	249
Total	**9940**	**595**	**458**

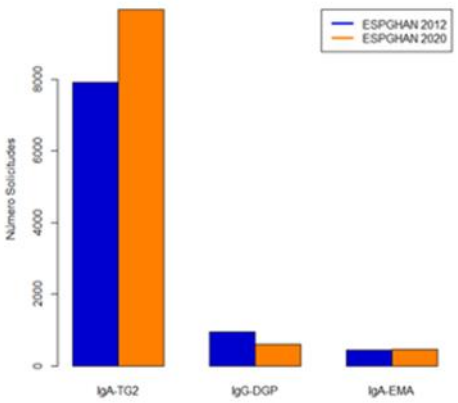


Figura 81. Diferencias en el Nº de solicitudes después de la modificación de las Guías y representación gráfica de la diferencia bianual en el número de solicitudes de los tres marcadores serológicos específicos (Guías 2012-2020).

Existen diferencias significativas entre el número de pruebas aplicadas con las dos guías. (Tabla 35)

Tabla 35. Calculo en las diferencias estadísticas basadas en la gestión de la demanda aplicando guías clínicas

Variable	ESPGHAN 2012 (7911)	ESPGHAN 2020 (9940)	p-valor
IgG-DGP			<0,001
No	6968 (8,1)	9345 (94,1)	
Sí	943 (11,9)	595 (6,9)	
IgA-EMA			0,003
No	7471 (94,5)	9482 (95,4)	
Sí	440 (5,5)	458 (4,6)	

Valores expresados en casos absolutos y porcentajes entre paréntesis. Valor de p calculado con la prueba Chi-cuadrado. Abreviaturas: ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*; IgA-EMA, anticuerpos IgA antiendomisio; IgG-DGP, antipéptidos desaminados de gliadina IgG.

Con la modificación de las guías 2012 según los criterios 2020 (ver apartado 1.6.1.2 de introducción) se ha reducido a la mitad el número de peticiones de IgG-DGP, sin alterar el número de diagnósticos y con un aumento del 8% en el total de peticiones.

La sospecha clínica es mayor, la accesibilidad a las pruebas para este diagnóstico es total en nuestra área, todos los pacientes, independientemente de su edad, de su proveniencia son sometidos a las mismas pruebas y tienen acceso a ellas, (incluyendo pruebas genéticas) en base a algoritmos por lo que creemos el coste-eficacia para el diagnóstico de esta enfermedad es un objetivo alcanzado.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 5.

DISCUSIÓN

En este apartado se recogen los contenidos de las siguientes publicaciones y programas.

1. Cabo Del Riego JM, Núñez Iglesias MJ, García-Plata González C, Paz Carreira J, Álvarez Fernández T, Dorado Díaz A, Villar Mallo N, Penedo Pita M, Novío Mallón S, Maíz Suárez L, Freire-Garabal Núñez M. Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population. Int J Environ Res Public Health. 2022 Apr 20;19(9):5020. doi: 10.3390/ijerph19095020. Anexo 10.1.

2. Cabo Del Riego JM, Núñez-Iglesias MJ, Paz Carreira J, Blanco Hortas A, Álvarez Fernández T, Novío Mallón S, Zaera S, Freire-Garabal Núñez M. Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion. Int J Environ Res Public Health. 2022 Dec 21;20(1):66. doi: 10.3390/ijerph20010066. Anexo 10.2.

3. J.M. Cabo del Riego, M.J. Núñez-Iglesias, T. Álvarez Fernández, A. Blanco-Hortas, J. Paz-Carreira, S. Novío, M. Freire-Garabal. Enfermedad celiaca del adulto: autoanticuerpos versus biopsia duodenal. Gastroenterología y Hepatología 2020, 45:33-34. Anexo 10.3

4. Julia María Cabo del Riego, María Jesús Núñez-Iglesias, Andrés Blanco Hortas, Tamara Álvarez Fernández, Silvia Novío Mallón, Sofía Zaera, José Paz Carreira, Carmen García-Plata González, José Abel González-Ramírez and Manuel Freire-Garabal Núñez. Time trend in incidence of celiac disease in a Spanish population. En fase de revisión. Anexo 10.4.

5. “Programa de mejora 7-2023: Modificación de los Valores de Referencia en niños y adultos para la Enfermedad Celíaca, basados en un estudio prospectivo propio con resultados histológicos de biopsias intestinales” igualmente del anexo: “Algoritmo diagnóstico. Criterios informáticos_petitorio electrónico” con el código-Anexo1 PNT_10 Ed.3, aprobado en la fecha 30/06/2023 certificado por ENAC dentro de la norma UNE-EN-ISO 15189:2023 y que se aplicará en el Servicio de Análisis Clínicos para la mejora en el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca y la gestión de la demanda de biomarcadores serológicos para esta enfermedad”. Anexo 10.5.

6. “Vía rápida de confirmación diagnóstica de la enfermedad celiaca” para mejorar la accesibilidad a las unidades de digestivo (pediátrico y adultos) de los pacientes que presenten autoanticuerpos específicos de enfermedad celíaca en AP y consultas de especialidades hospitalarias. Anexo 10.6.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Se han logrado notables avances en la EC (tal y como se refiere en el apartado de "Introducción"), una afección inmunomediada relativamente frecuente y subestimada que ocurre en individuos genéticamente predispuestos. Sin embargo, actualmente todavía persisten varias lagunas en el conocimiento relacionado con el diagnóstico y seguimiento del tratamiento. Entre ellas se encuentran: (a) a quién realizar pruebas de detección de la EC, cuándo y cómo confirmar el diagnóstico; (b) aunque la serología específica es muy fiable para el diagnóstico de la EC, aún existe desacuerdo entre los expertos sobre la necesidad de una biopsia intestinal para confirmar el diagnóstico; (c) según los estándares epidemiológicos, la EC es común (afecta a casi el 1% de la población mundial) y ha mostrado una incidencia creciente en las últimas décadas pero sobre la base de estudios de cohortes realizados en Finlandia y en Colorado (EE. UU.), hay pruebas de que la penetración de la enfermedad es más profunda de lo que comúnmente se supone; (d) cómo evaluar a los pacientes cuyo diagnóstico de EC no incluyó una biopsia del intestino delgado; (f) necesidad cada vez mayor de desarrollar programas para el manejo clínico adecuado de la EC (276).

En esta Tesis Doctoral se engloban los resultados derivados del diseño e implementación de un algoritmo diagnóstico de EC, aplicable a diferentes rangos de edad, del que se han derivado 4 estudios (3 publicados y 1 en fase de revisión). Finalmente, como aplicación clínica de los estudios realizados, se ha puesto en marcha una "Vía rápida de confirmación diagnóstica de la enfermedad celiaca" para mejorar la accesibilidad a las unidades de digestivo (pediátrico y adultos) de los pacientes que presenten autoanticuerpos específicos de EC en AP y consultas de especialidades hospitalarias.

Dichos resultados están vinculados a los objetivos (1)-(6) que ya han sido expuestos en el apartado correspondiente. A lo largo de este apartado, se muestra la discusión de los resultados para cada uno de los objetivos formulados en esta Tesis Doctoral y se abordarán las lagunas citadas en el primer párrafo de esta "Discusión". Además, en los capítulos siguientes se recogen las limitaciones y fortalezas y, las principales líneas de continuidad futura de nuestras investigaciones.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

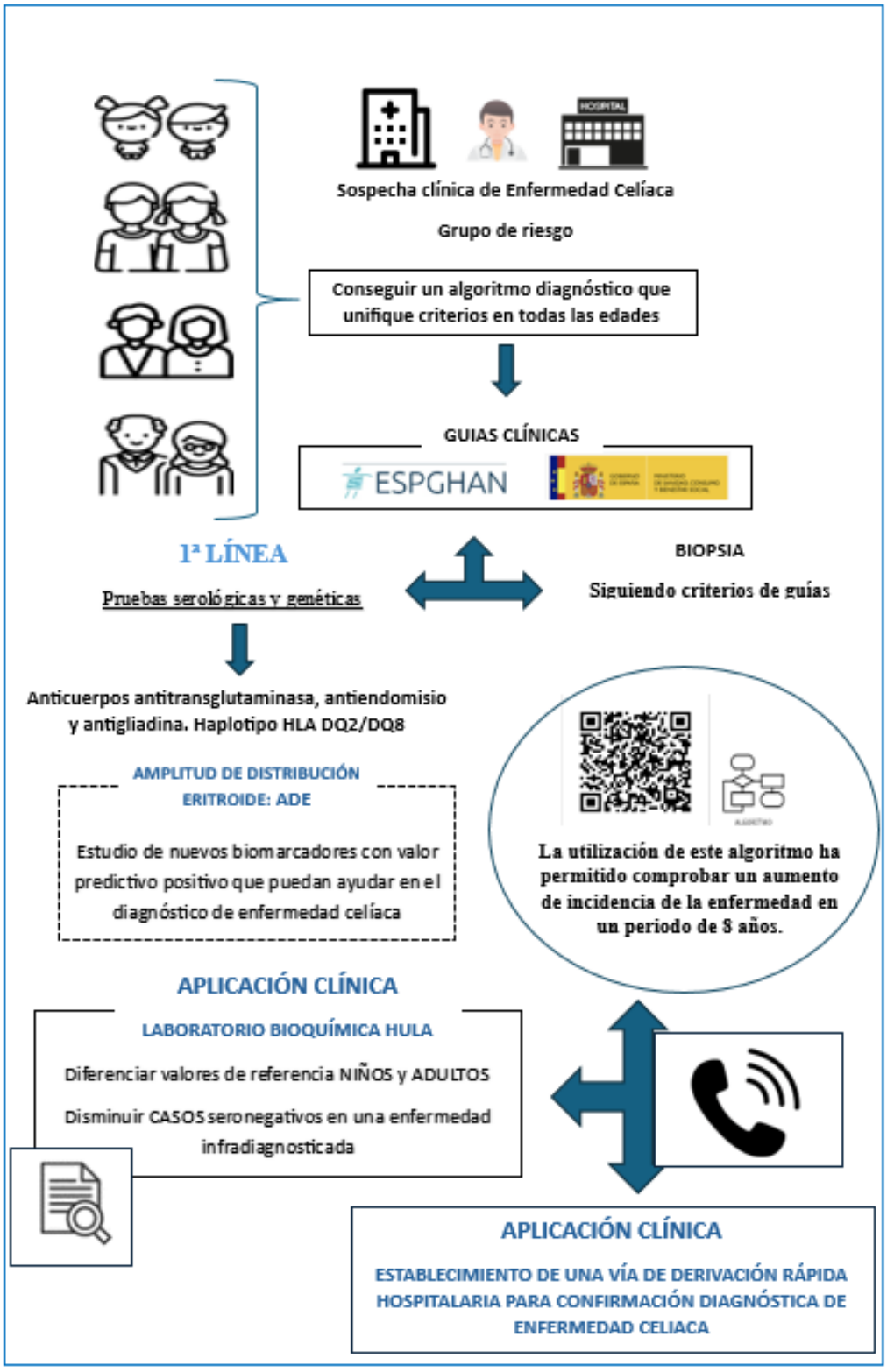


Figura 82. Esquema de los estudios de investigación derivados de esta Tesis Doctoral. Aplicación clínica derivada de los mismos: vía rápida de confirmación diagnóstica para la derivación rápida de los pacientes con nuevo diagnóstico de EC. Pacientes detectados en el laboratorio de Bioquímica Clínica través de nuestro algoritmo diagnóstico. Abreviaturas: EC, Enfermedad Celíaca; ESPGHAN, *European Society of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Hepatology*.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS VINCULADOS A LOS OBJETIVOS 1 Y 2

La optimización del diagnóstico de EC requiere la investigación de forma continua (277). El diagnóstico serológico con autoanticuerpos específicos tiene un papel esencial en el diagnóstico de la EC. A continuación, se contrastan los resultados que hemos obtenido con bibliografía de referencia:

5.1.1. Con respecto a IgA-TG2

Diferentes estudios han mostrado que la IgA-TG2 es una buena alternativa a la IgA-EMA (244,278). Es más, la IgA-TG2 es la prueba serológica recomendada de primera línea para la detección de EC, en personas mayores de 2 años; mostrando alta especificidad y sensibilidad (superior al 95%) (261,279). De modo que los niveles altos de IgA-TG2 (≥10 LSN) son una prueba confiable y precisa para diagnosticar la EC (185).

- De acuerdo con los aspectos mencionados en el párrafo anterior, hemos utilizado la prueba IgA-TG2 como prueba serológica de primera línea. En nuestro estudio, para IgA-TG2 ≥ 10 LSN, realizamos diluciones seriadas y obtuvimos cuantificaciones de valores muy altos de IgA-TG2 (nuestro rango en el estudio fue de 0,1 a 6.300 U/mL). El uso de esta técnica de dilución ha resultado ser una técnica de coste reducido, útil en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes, tal y como se describe a continuación:

  - La biopsia no es necesaria para el diagnóstico de EC en pacientes sintomáticos con IgA-TG2 ≥ 100 U/ml (245).
  - Atendiendo a la literatura (170,185,204,280) utilizamos IgA-EMA como prueba confirmatoria. Nuestros resultados mostraron que los niveles de IgA-EMA se correlacionan significativamente con IgA-TG2 cuando los niveles son ≥10 LSN.
  - IgA-TG2 es el método más utilizado para controlar la adherencia dietética (111,281). Comprobamos que se normalizó en todos los pacientes durante el seguimiento. Este biomarcador medido con esta precisión nos da gran garantía en el seguimiento de la respuesta a la DLG, con un coste mínimo.
  - IgA-TG2 es el principal marcador para el diagnóstico y seguimiento de la respuesta a la DLG. Consideramos importante proporcionar el resultado cuantitativo exacto, especialmente en niños cuyos niveles iniciales de este marcador suelen ser muy altos; tras la dilución podremos obtener el valor exacto necesario para comprobar que la DLG ha sido bien aplicada.
  - No tenemos conocimiento de la existencia estudios publicados en la literatura científica que hayan proporcionado títulos de IgA-TG2 con esta precisión. Pensamos que la dilución correcta aporta una medida de seguridad en el diagnóstico y seguimiento, y permite conocer con exactitud la respuesta serológica a la DLG.
  - Nuestros datos revelan que hasta en el 30% de los pacientes los niveles de IgA-TG2 siguen teniendo valores de anticuerpos superiores al nivel de detección en la primera consulta de seguimiento. Si no se utilizaran las diluciones seriadas no se

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

conocería la adherencia a la DLG, la recuperación bioquímica o la existencia de transgresiones.

- En pacientes con suficiente IgA, IgA-TG2 es la prueba única más predictiva y reproducible. En el caso de pacientes pediátricos <4 años, que presentaban niveles de IgA fisiológicamente bajos), utilizamos tanto IgA-TG2 como IgG-DGP; de acuerdo con recomendaciones de estudios previos (124,185,267).

- Existe desacuerdo con respecto a los estándares de diagnóstico en cuanto a la necesidad de una biopsia intestinal. Las directrices ESPGHAN, para la población pediátrica, se propusieron con el fin de evitar las biopsias sin afectar la precisión diagnóstica (170,185). En el año 2020 ESPGHAN propuso no hacer biopsia ante niveles séricos de IgA-TG2 marcadamente elevados (>10 veces el límite superior normal del ensayo), pero este enfoque no ha sido adoptado formalmente por sus homólogos pediátricos en los EE. UU., y la vía más rígida sin biopsia descrita en la guía ESPGHAN 2012 no necesariamente se implementó, incluso en Europa central (276).
- En nuestro estudio se incluyeron 5.641 pacientes pediátricos con sospecha de EC. La EC se confirmó en 113 pacientes, sin biopsia en la mayoría de los pacientes (84,1%). Con respecto a estos resultados cabe reseñar:

  - Nuestros resultados sobre diagnóstico de EC sin biopsia son más altos en comparación con los otros estudios a nivel mundial, tanto retrospectivos (280,282–285) como prospectivos (188,286–291). Según los primeros, la tasa de biopsias evitadas oscila entre 52% (26) y 77,4% (283). Con respecto a los segundos, Smarrazzo et al. concluyen que el diagnóstico de EC todavía depende de biopsia cuando las pruebas no están disponibles (289).
  - Atribuimos el mayor número de biopsias diagnósticas evitadas en nuestro estudio, en relación con los otros existentes, porque nuestro laboratorio tiene fácil acceso tanto a pruebas serológicas confiables para EMA como a pruebas genéticas.
  - Si consideramos que la biopsia representa un procedimiento invasivo y costoso (188) y que la edad media en el momento del diagnóstico de EC es de 4 años (289), las biopsias deberían reducirse tanto como sea posible.
  - En nuestro estudio la edad media fue de 5 años.
  - El 41,6% de todos los pacientes pediátricos son menores de 4 años, por lo que evitar las biopsias podría reducir la morbilidad de este procedimiento y además reducir los costes. Otro aspecto que debemos tener en cuenta es que cuanto menor sea la edad del paciente pediátrico, más profunda será la sedación que tendremos que utilizar para realizar la biopsia intestinal, incluida la anestesia general (292).

- Las pruebas de laboratorio y la evaluación bioquímica son cruciales no solo para verificar la exactitud del diagnóstico sino para el seguimiento:

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Una cuestión clave en el seguimiento es tanto la utilidad de la serología como si la disminución en los niveles de anticuerpos es evidencia suficiente para un manejo adecuado (293).

- Los pacientes deben ser monitorizados periódicamente para comprobar la normalización de los anticuerpos y de la clínica (124).

- Se debe realizar un seguimiento de los niños tras 4-6 meses del diagnóstico y posteriormente, cada año para comprobar la mejoría sintomática, el cumplimiento de la DLG, la calidad de vida y la normalización progresiva de los anticuerpos relacionados con la EC (164).

- El tiempo que tardan en normalizarse los títulos de anticuerpos depende del nivel inicial, es generalmente entre 6 y 12 meses después de iniciar la DLG (111).

- Hemos encontrado que la concentración de IgA-TG2 disminuye rápidamente después del establecimiento de la DLG, con una disminución de más del 60% respecto a los valores iniciales. Sin embargo, el 30% de los niños que presentaron concentraciones muy altas en el momento del diagnóstico tenían valores por encima del LSL (>128 U/mL). Por ello, destacamos la utilización de los valores exactos en el diagnóstico para conocer de forma precisa la disminución de los valores; especialmente en casos menos oligosintomáticos o subclínicos.

- Nosotros observamos que los niños mostraron una adecuada adherencia a la DLG y niveles decrecientes de anticuerpos celíacos. En adultos, la respuesta serológica es más lenta, como se ha estudiado y presentado en el Congreso Nacional de Laboratorio Clínico 2019 por esta autora (206).

5.1.2. Con respecto al IgA-EMA

- IgA-EMA se utiliza como prueba de confirmación (279,294). Estudios recientes han demostrado que la IgA-EMA no debe utilizarse de forma rutinaria en el cribado (sola o con IgA-TG2), sino que solo debe emplearse como prueba de confirmación en el caso de un diagnóstico incierto (positividad débil en poblaciones de alto riesgo) (295).

- Mursh et al. (278), en las directrices de ESPGHAN, postulan que si la prueba de anticuerpos EMA no está disponible localmente, se puede sustituir por un segundo anticuerpo IgA-TG2 positivo y guardar el suero para pruebas EMA posteriores.

- En nuestro estudio, verificamos que los niveles de IgA-EMA se correlacionaban de forma significativa con IgA-TG2 cuando superan ≥10 LSN. Además, en nuestro estudio se comparó IgA-TG2 (cuantitativa) con IgA-EMA (titulación cualitativa), cuando IgA-TG2 estuvo por encima del umbral de detección. Como resultado, obtuvimos una correlación significativa entre ambos niveles. Por lo tanto, cuando IgA-TG2 es ≥10 LSN, IgA-EMA no es necesaria.

- Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que ofrece datos con un rango de IgA-TG2 de 0,1 a 6.200 U/ml y títulos de IgA-EMA de 1:10 a 1:2.560) como

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

una posible simplificación de los criterios ESPGHAN. Este aspecto es de especial interés porque:

- No todos los países cuentan con los recursos e instalaciones necesarios para analizar IgA-EMA. Un estudio realizado en 13 países mediterráneos (regiones occidental y oriental de la OMS, incluida España) (289), con 1.974 pacientes pediátricos; confirmó EC en el 25,9% de ellos. Sin embargo, solo 14 pacientes fueron diagnosticados de EC según las guías ESPGHAN 2012. Por otra parte, en un cribado de EC a 40 pacientes pediátricos españoles, solamente 3 pacientes pudieron ser diagnosticados mediante los criterios ESPGHAN.
- La prueba IgA-EMA es relativamente costosa y requiere observadores experimentados para la evaluación microscópica con IFI, con posibles variaciones entre observadores.
- La IgA-EMA utiliza, como sustrato para la detección de anticuerpos, cortes de esófago de mono, lo que plantea cuestiones éticas relacionadas con el uso de especies en peligro de extinción como sustrato antigénico (111,166,277).

- Hemos estudiado la relación de los valores de IgA-TG2 con los valores de los títulos de IgA-EMA. Nuestros resultados mostraron una concordancia del 100% entre el título de EMA y los valores de IgA-TG2 medidos en escalas de valores cuantitativos y cualitativos. Este hallazgo cobra relevancia ya que:
  - Se ha demostrado que tiene una especificidad cercana al 100% para el diagnóstico de EC. Los falsos positivos para anti-IgA-TG2 normalmente muestran un título de anticuerpos bajo (menos del doble del límite) (164).
  - Gidrewicz et al. (280), destacaron la solidez de las pruebas de la EMA en títulos bajos de IgA-TG2. Estos autores observaron que la prueba de EMA mejoraba el VPP cuando la IgA-TG2 es baja o moderadamente elevada, y concluyeron que una EMA ≥1:80 lograba un VPP del 100% (280).
  - Husby consideró que, en pacientes con suficiente IgA, IgA-TG2 era la prueba única más predictiva y reproducible (185), aunque IgA-EMA funciona de manera similar en algunos laboratorios expertos y se utiliza como prueba de confirmación.
  - En este estudio, mostramos que el 100% de los pacientes (95 de 95) pacientes con IgA-TG2 ≥ 10 LSN padecían EC (VPP 100%). En todos los casos, los anticuerpos IgA-EMA fueron positivos y sus títulos fueron directamente proporcionales al valor del LSN. Se confirmó que todos los pacientes tenían normalización de los valores después de la DLG. Por tanto, consideramos que esta prueba es redundante en estos casos, y sería preferible para su confirmación en casos con valores inferiores a 10 ≥ LSN. Polanco et al., aconsejan determinar los IgA-EMA para confirmar resultados cuando los IgA-TG2 son positivos <3 veces el LSN, en una nueva extracción de muestra (84).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- En esta Tesis Doctoral se proporciona evidencia de una correlación positiva entre los niveles séricos de anticuerpos IgA-TG2 y IgA-EMA. Obtuvimos 100% de concordancia entre IgA-TG2 ≥ 10 LSN y resultados positivos para IgA-EMA. Además, hemos observado una correlación entre los valores cuantitativos de los títulos de anticuerpos IgA-TG2 U/mL y IgA-EMA ($p < 0,001$; Figura 56). Si las pruebas de la EMA no estuvieran disponibles, el diagnóstico podría garantizarse mediante valores de IgA-TG2 ≥ 10 LSN (en la segunda prueba) y pruebas serológicas después de la DLG. Es posible utilizar IgA-TG2 como marcador en dos muestras diferentes, y sugerimos que se requiera IgA-EMA solo para pacientes con títulos más bajos o resultados de anticuerpos discordantes. Este primer estudio de correlación entre marcadores específicos de la EC en niños fue estudiado refrendado en todos los rangos etarios. Tablas 22-24.

5.1.3. Con respeto al genotipado

Husby et al. (294), en las recomendaciones de la AGA, sugirieron el papel limitado de la determinación de HLA-DQ2/DQ8 en el diagnóstico de la EC. Su valor está relacionado en gran medida con su valor predictivo negativo para descartar EC en pacientes seronegativos.

Werkstetter et al. (188), en un estudio prospectivo con 645 pacientes, concluyó que no era necesario para un diagnóstico preciso. Clouzeau-Girard et al (293) demostraron que la determinación del estado de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 se puede utilizar para respaldar el diagnóstico de EC, pero no es una condición esencial para confirmar un diagnóstico. Por otra parte, la EC es improbable cuando el HLA es negativo. Además, Gidrewicz et al.(205), en un estudio con 775 pacientes con IgA-TG2 positivo, demostró que las pruebas de susceptibilidad genética no eran útiles para identificar pacientes falsos positivos.

Las pautas de ESPGHAN de 2012 (185) incluían pruebas de HLA-DQ2/DQ8 para un diagnóstico sin biopsia, pero las nuevas recomendaciones de ESPGHAN 2020 (170) sugirieron que no se requiere la tipificación de HLA en pacientes con IgA-TG2 positivo (≥10 LSN) con confirmación de ser IgA-EMA-positivo.

Nosotros en 105 casos de 113 pacientes incluidos para su estudio, encontramos que 7 de ellos no tenían DQ2/DQ8, 5 tenían uno de los dos alelos, pero 2 (una niña y un niño) no tenían ningún alelo de riesgo. Sin embargo, los valores de IgA-TG2 fueron elevados, especialmente en uno de ellos, que tenía 77 X LSN (620 U/mL) y presentaba síntomas clásicos y respuesta a la DLG. La familia rechazó la biopsia por mejoría clínica y serológica.

En nuestro estudio hemos comprobado que se podrían realizar mayores simplificaciones de las directrices de la ESPGHAN. Concretamente el supuesto 7 de esta guía (170) en la que se pregunta "¿Es necesaria la prueba de anticuerpos EMA? ¿en todos los casos se puede diagnosticar EC con omisión de biopsia. A esta cuestión los expertos recomiendan que en niños con IgA-TG2≥10 LSN de acuerdo del paciente con el enfoque sin biopsia, el diagnóstico de EC debe ser confirmado por una prueba positiva de IgA-EMA en una segunda muestra de sangre. Como se ha demostrado se podría estudiar la posibilidad de utilizar como prueba confirmatoria una nueva determinación de IgA-TG2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS VINCULADOS AL OBJETIVO 3

Los mecanismos fisiopatológicos de las anomalías hematológicas que ocurren en celíacos son complejos, por lo que los mecanismos por los cuales los pacientes con enfermedad celíaca desarrollan anemia necesitan ser explorados (296). Nosotros estudiamos la anemia en el grupo de edad adulta tardía dado que en esta edad puede ser el único hallazgo clínico que lleve al diagnóstico de EC (89) y además, en edades tardías el estudio cobra más dificultad porque es un grupo etario en el que la anemia puede ser consecuencia de causas muy variadas. Por ello, la EC debe considerarse no sólo en el diagnóstico diferencial de la anemia por deficiencia de hierro, sino también en la anemia de enfermedades crónicas(296). Para ello estudiamos 12 parámetros: 6 hematológicos y 6 bioquímicos relacionados con la etiopatogenia de la anemia.

Nosotros analizamos la utilidad del parámetro hematológico ADE como posible marcador de EC. Este es un parámetro sanguíneo que se mide de forma rutinaria, se informa automáticamente y que refleja el grado de anisocitosis. Un retraso en la eliminación de los glóbulos rojos en condiciones patológicas representa uno de los principales determinantes del aumento de la anisocitosis y el ADE asocia a diversas enfermedades que involucran los sistemas gastrointestinal y hepatobiliar (256).

Este marcador forma parte de las pruebas de hemograma en el laboratorio de rutina automatizadas que se emplea en la práctica clínica diaria, en el Laboratorio de Bioquímica Clínica del HULA en el estudio de otros trastornos.

De acuerdo con los objetivos propuestos, primero discutimos los principales resultados relacionados con la tasa de casos positivos de EC en la edad adulta media y tardía y las principales manifestaciones clínicas. Posteriormente, analizamos el uso de ADE para detectar individuos con EC.

En nuestro estudio, la tasa de casos positivos fue del 1,10%. Otros países europeos, como Finlandia, mostraron una mayor prevalencia de EC en personas de edad avanzada que la observada en adultos (297), con un 2,70 % para EC comprobada por biopsia y seropositividad.

La prevalencia estimada de EC en la edad adulta media y tardía está en el rango de 0,7% y 2,45% (66,101,298–302), dependiendo del entorno geográfico; cuadruplicándose en los últimos 22 años. Un estudio realizado en el noreste de España (Aragón) (301), refleja que la prevalencia de EC en AP oscila entre el 0,34% (45-59 años) y el 0,12% (≥90 años); siendo el 0,27% entre 60 y 74 años. En el entorno de atención terciaria en Cataluña, se ha constatado la disminución de la prevalencia de EC entre la edad adulta media y tardía, con un ligero aumento después de los 80 años (302).

La diferencia de cifras entre los diferentes estudios señalados en el párrafo anterior puede deberse a varios factores:

- Bajo índice de detección en el ámbito de la AP (301).
- Seronegatividad prolongada en personas mayores (303).
- Existencia de un patrón clínico heterogéneo (101,249,250); con presentación de síntomas sutiles (249) o pocos (250).
- Además, los trastornos asociados podrían contribuir a la EC oculta o subyacente (192).
- Por otra parte, como consecuencia de deficiencias aisladas o mixtas, los pacientes adultos y ancianos con EC pueden sufrir manifestaciones extraintestinales. Se trata, entre otras, de neuropatía (126), trastornos psiquiátricos (304) o del sistema musculoesquelético (301) (305). Así, la prevalencia de la neuropatía oscila entre el 0% y el 39%, siendo mayor en pacientes de edad avanzada y mujeres .(306) En el caso de los trastornos psiquiátricos alcanza el 16,8% en

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

adultos (307). Además cuando se realiza el diagnóstico de EC tardía (estudio en 104, edad media 63,0 años), pueden presentar deterioro cognitivo (tiempo medio de reacción en la tarea, 621,2 ± 124,0 milisegundos), ansiedad percibida (31,0%) o depresión (58,4%) (308). En nuestro estudio, observamos una prevalencia del 7,94% de trastornos psiquiátricos (ansiedad, depresión y deterioro cognitivo). Respecto a los trastornos musculoesqueléticos, otros autores constataron aumento de osteopenia u osteoporosis (del 4,9% entre 35 y 64 años al 23,2% ≥ 65 años) (250), por lo que el aumento de la prevalencia de fracturas es una manifestación común (305). En nuestro estudio, observamos una prevalencia del 7,92% en trastornos musculoesqueléticos, incluyendo osteopenia y fracturas de repetición.

Abordaremos a continuación el análisis de los resultados sobre la utilidad clínica del ADE:

- El ADE elevado se considera factor de riesgo y pronóstico en el diagnóstico de diversas enfermedades tales como demencia, infarto cerebral, enfermedades cardiovasculares, artritis reumatoide, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad por coronavirus, neumonía, diabetes, enfermedades gastrointestinales etc. (309–311).
- Respecto al ADE en EC, los estudios son escasos (254,255,273,274,312–315).

Cabe destacar que nuestro estudio es el primero que examinó específicamente el ADE, en pacientes con nuevo diagnóstico de EC en adultos/ancianos y controles emparejados por edad y sexo. Se utilizó PSM. Nuestros resultados podrían deberse al hecho de tener EC, aunque no se pueden excluir otras causas no acogidas por el PSM.

- Todos los parámetros se estudiaron como variables categóricas y continuas. El ADE resultó ser altamente significativa en enfermos celiacos en ambos estudios.
- Analizando los escasos estudios existentes en la bibliografía hemos constatado que varios de ellos mostraron un aumento del ADE en adultos con EC, utilizando el 14% como valor de corte de ADE elevado. Nosotros hemos empleado como valor de corte 14,3%. A continuación, se contrastan los principales hallazgos derivados de los estudios existentes:

  - Sategna et al. (254), en Italia observaron un aumento del ADE en el 53,7% de los adultos con diagnóstico de EC frente al 28,6% de los adultos sin EC. No obstante, el grupo de adultos sin EC estaba constituido por individuos con enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedades intestinales de diferente índole distintas de la malabsorción. Estos autores observaron la ausencia de correlación entre los valores de ADE y las puntuaciones histológicas.
  - Balaban et al.(273) (Rumania), estudiaron a 34 pacientes adultos con EC recién diagnosticada, comparando a 34 pacientes con síndrome del intestino irritable emparejados por edad y sexo con 16 pacientes con EC tratados con DLG. Observaron ADE elevado en el 79,41 % de pacientes con EC, en comparación con los pacientes con síndrome del intestino irritable y EC con DLG (17,65% y 37,5%, respectivamente).
  - Un estudio en adultos de Dinamarca con una muestra de 57.061 personas constató que 706 adultos eran anticuerpo positivo y 56.655 anticuerpo negativos frente a EC. El ADE era

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

alto en el 14,4 % y el 3,7 % de las personas con anticuerpos EC positivos y negativos, respectivamente (312).

- De manera similar, Harmanci et al. (274) en Turquia (n = 49 personas con EC recién diagnosticada, edad media 38 años), observaron ADE elevada en el 89% de los pacientes.

- Por otra parte, Yeşil et al. (315) en Turquia (n=61 pacientes con EC, 56 pacientes con enfermedad de Crohn y 44 voluntarios sanos, de 38 a 40 años de edad) observaron que el porcentaje de pacientes con ADE alto era significativamente mayor en pacientes con EC en comparación con aquellos con enfermedad de Crohn o controles.

- En nuestro estudio, comparamos pacientes con EC recién diagnosticados con pacientes sin EC, emparejados por edad y sexo. Nosotros utilizamos el valor >14,3% como valor de corte de ADE elevado, de acuerdo con los intervalos de referencia para nuestro analizador de hematología automatizado Sysmex XN (316). Observamos un ADE alto >14,3% en el 58,4% de los pacientes con EC recién diagnosticada en comparación con el 35,2% de aquellos sin EC (diferencias significativas, p <0,001).

Nosotros sugerimos que ADE podría ser una nueva ayuda en la detección de EC. La aplicabilidad clínica de los hallazgos derivados de nuestro estudio radica, a nuestro juicio, en los siguientes aspectos:

- En nuestro estudio, disponíamos de un estudio hematológico previo al diagnóstico de EC. En nuestro estudio el 58,4% de los nuevos pacientes con EC presentaban un ADE >14,3%.
- Cabe destacar que en nuestro estudio ADE elevado se asoció con la existencia de EC (OR 1,151, IC 95%: 1,046-1,275).
- Las directrices para el diagnóstico de la EC en adultos han seguido abogando por la biopsia intestinal(276) No obstante, Sociedades Científicas como la Sociedad Británica de Gastroenterología propuso directrices para evitar la biopsia en año 2020, en el contexto de la pandemia de COVID-19 (317). Por otra parte, es bien sabido que IgA-TG2 y atrofia grado III (a-c) son necesarios para el diagnóstico de EC (89). Por otra parte, ADE elevado se ha postulado como un predictor de atrofia de las vellosidades en pacientes con EC (número = 49, edad media 38 años) a un nivel de corte del 17,25% (274). Nuestros resultados son similares y si utilizamos el umbral propuesto por Harmanci obtenemos un VPP para EC del 100% aunque consideramos que sería necesario aplicar este umbral con un tamaño muestral mayor.
- Es importante señalar que, en nuestro estudio, observamos una asociación significativa entre ADE elevado y atrofia grado III, AUC 0,810 (0,702-0,917).

Para determinar cuál de los parámetros bioquímicos está más relacionado con la anemia en la enfermedad celiaca se ha evaluado etiológicamente la anemia estudiando mediante 2 regresiones logísticas multivariantes para enfermos celiacos y no celiacos, obteniendo que en EC el parámetro bioquímico que más contribuye a la anemia es el índice de ferritina y en no celiacos el índice de hierro (p=0.025 y p=0.03 respectivamente) (Tabla 22). Catassi et al en una reciente revisión publicada en el Lancet (89) apunta a estos dos parámetros el ADE y la ferritina como los más directamente relacionados con la anemia en celiaquía.

Como continuidad de nuestra investigación, próximamente analizaremos el ADE tras la adhesión a la DLG, en nuestros pacientes con EC en la edad adulta media y tardía, ya que se conoce que después de 6 (274) o 12 (254,314) meses de DLG, el ADE disminuye solo (310) o en paralelo a la restauración de los niveles séricos normales de hierro, VitB12, folato o ferritina (254,273), valores de VCM (273) y seroconversión EMA(254); reflejando cambios dinámicos de ADE y su utilidad como índice de la eficacia clínica del tratamiento.

5.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS VINCULADOS AL OBJETIVO 4

El estudio que hemos realizado en relación con el objetivo 4 formulado en esta Tesis Doctoral es el primer estudio español en el que se analiza la incidencia de EC en niños, adultos y ancianos.

Aplicando el procedimiento comentado en los puntos anteriores (este apartado y el de métodos), hemos comprobado una incidencia total creciente de EC desde 13,11 por 100.000 personas/año en el año 2012 hasta 20,92 por 100.000 personas/ año en el año 2019 (Tabla 29) apartado Resultados) Obteniendo una incidencia media total del 17 por 100.000 personas/ año.

Comparando nuestros datos con los correspondientes a otros países del sur de Europa (38) recogidos en una revisión y metaanálisis, de forma similar, se evidencia una evolución al alza de la incidencia de la EC. Por ejemplo, Italia presentaba <4,6 por 100.000 personas año y >12,7 por 100.000 personas año antes y después del año 2000, respectivamente. Sin embargo, nuestra incidencia es mayor que en la mayoría de los países (38).

Si consideramos la incidencia de EC atendiendo a la edad, en toda Europa se ha constatado un mayor aumento de la incidencia de EC en las personas mayores que en los niños <5 años (258). Nosotros, observamos una tendencia similar (Figura 70 (A) y (C), sección Resultados). Sin embargo, destacamos que nuestros datos revelan que la incidencia de EC diagnóstica en niños es una de las más altas del mundo; permaneciendo elevada, de forma estable, durante el periodo de estudio (Tabla 29 y 30).

Otros estudios en España, en edad pediátrica (23,318) o en adultos (68), han aportado datos de la incidencia de EC en última década; correspondientes a los años 90 del siglo pasado a la primera década del presente siglo. En relación con estos, nuestros resultados son similares a los mostrados en edad pediátrica, a nivel nacional, en el periodo 2006-2007 por Cilleruelo et al (23). Si tenemos en cuenta que el estudio de estos últimos autores refleja datos de hace casi dos décadas, y los comparamos con nuestros resultados, correspondientes al periodo 2012-2019, es evidente que la incidencia de la EC en edad pediátrica se ha mantenido muy elevada a lo largo del tiempo; y continúa siendo una de las más elevadas a nivel mundial.

Además, en nuestro estudio verificamos mayor incidencia en mujeres; particularmente entre el grupo etario de adultos/ancianos en relación con niños y jóvenes (54,1% vs. 67,4%). Atribuimos este hallazgo, al menos en parte, a más pruebas médicas y a una mayor prevalencia de anemia que orienta a las pruebas de EC [uno de nuestros estudios anteriores, (306)]. Del mismo modo, otros autores han constatado tendencias crecientes en las tasas de EC en mujeres en otros países (EE.UU. Condado de Olmsted, Minnesota 1990-2015; Proyecto de Epidemiología de Rochester (REP) y Registro de celíacos de Mayo Clinic) (50,319).

El marco temporal utilizado en nuestro estudio (2012-2019) estuvo determinado por tres aspectos principales: (1) publicación de la guía ESPGHAN 2012 para el diagnóstico de EC(185); (2) actualización de la guía ESPGHAN 2012 para el diagnóstico de EC publicada en 2020 (170) y (3) evitar datos de incidencia de la pandemia de Covid-19.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Según estudios que cubren aproximadamente la última mitad del siglo XX y los primeros años del siglo XXI, la incidencia de EC se está incrementando. No obstante, esos estudios muestran disparidad intra e inter países. Probablemente por la existencia de diferentes aspectos, entre os que se incluyen: algoritmo diagnóstico utilizado, coordinación entre los diferentes niveles de atención sanitaria para el diagnóstico de la EC, fuente de datos para el cálculo de la incidencia, estrategias de cribado para identificar la EC. Otros factores incluyen genética, raza, factores relacionados con el gluten, microbiota intestinal, infecciones, etc. A lo largo de esta sección abordaremos estos aspectos. Además, para finalizar nos centraremos en una cuestión de gran interés en la actualidad, el cambio descrito en el patrón de debut clínico de la EC.

5.3.1. Uso de algoritmos diagnósticos, número y la calidad de las pruebas serológicas y genéticas, fuente de datos para el cálculo de incidencia, coordinación entre los diferentes niveles de atención sanitaria para el diagnóstico de EC, estrategias de diagnóstico de EC

En esta sección analizaremos los aspectos mencionados en el encabezado y los resultados vinculados al objetivo 4 de esta Tesis Doctoral; contrastando nuestros resultados con los de otros estudios, realizados en diferentes ámbitos geográficos en los últimos 30 años.

5.3.1.1 Con respecto al algoritmo diagnóstico

- La principal fortaleza de nuestro estudio es la disponibilidad de un algoritmo único que incluye pruebas serológicas específicas para un diagnóstico preciso de EC, así como pruebas genéticas HLA; aplicando las pruebas más adecuadas a cada paciente (sospecha de EC con o sin déficit de IgA, DLG antes de confirmar el diagnóstico, etc.).
- Hasta donde sabemos, este es el primer estudio tanto en España como en el suroeste de Europa que utiliza un algoritmo de forma homogénea en una muestra amplia de pacientes, 19.564 pacientes de todas las edades de 0 a 87 años.

5.3.1.2 En relación con el número y la calidad de las pruebas serológicas y genéticas disponibles

- Pueden ser factores de confusión (37).
- En particular, se ha observado una gran variación en la precisión diagnóstica de las pruebas serológicas (37,38,320).
- Dado que las pruebas serológicas desempeñan un papel principal en el diagnóstico de la EC, la calidad de estas, en nuestro estudio, fue esencial tanto para detectar nuevos casos como para verificar la respuesta a una DLG. Tal y como se documenta en el presente estudio, este aspecto está garantizado en nuestra área de salud, entre otros aspectos, mediante la acreditación y reacreditación de las técnicas aplicadas (ver apartado Métodos).
- Nosotros utilizamos IgA-TG2 para el cribado de primer nivel en 19.564 pacientes en nuestro Laboratorio de Bioquímica Clínica, bajo procedimiento estandarizado. Por otra parte, en nuestro estudio, la prueba IgA-EMA se realizó en muestras positivas o limítrofes por alto valor predictivo positivo (acreditación UNE 15189 y uso igual observador para IgA-EMA). En los grupos de edad pediátricos se evitó la biopsia intestinal según nuestro algoritmo, basado en la ESPGHAN, cuando el niño presentaba síntomas y signos típicos de EC, así como títulos elevados de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

IgA-TG2, IgA-EMA detectable y positividad HLA-DQ2/HLA DQ8. Sin embargo, estos criterios no se utilizan en todo el mundo, donde todavía se requiere biopsia en gran medida en casos pediátricos y adultos para establecer el diagnóstico de EC (111).

5.3.1.3 Atendiendo a la fuente de datos empleada para el cálculo de incidencia

- Recientemente, una revisión sistemática y metaanálisis sobre la incidencia de EC (38) mostró que los datos para el cálculo de la incidencia procedían de diferentes fuentes, tales como registros hospitalarios; registros de EC de institutos de investigación locales o nacionales; registros de sociedades científicas o de asociaciones de EC; historias clínicas de pacientes utilizando como filtro el código ICD-9, etc.
- Cabe destacar que durante el tiempo de este estudio contribuimos de forma prospectiva al diagnóstico de cada nuevo caso de EC, así como a su registro. En nuestra base de datos se incluyeron manifestaciones clínicas (extraintestinales, gastrointestinales, etc.), pruebas serológicas, histopatológicas (MARSH modificada) o de genotipo HLA (según algoritmo de diagnóstico de EC y características específicas del paciente), resultados y tratamiento.

5.3.1.4 Considerando la coordinación entre los diferentes niveles de atención sanitaria para el diagnóstico de EC

- Un estudio español (321) que incluía laboratorios clínicos españoles de 15 comunidades autónomas, mostró una alta variabilidad en el uso de marcadores serológicos de EC en AP.
- En nuestro estudio, se utilizó un algoritmo computarizado que incluye pruebas serológicas simplificadas de acuerdo con las nuevas guías clínicas, que fue utilizado por médicos y pediatras de AP, así como por pediatras hospitalarios y gastroenterólogos.
- Además, nuestro estudio utilizó un enfoque integrador entre proveedores de atención médica para el diagnóstico de EC, como mostramos en la sección 2. Materiales y métodos (punto 3.1.3 y Tabla 11). Murray et al., (49) (1950-2001 Rochester Epidemiology Project.) o Ludvingsson et al. (50) (2000-2010, Rochester Epidemiology Project y Mayo Clinic) fueron precursores en la postulación de un enfoque diagnóstico de EC integrador entre proveedores de atención médica.

5.3.2 Estrategias de detección diagnostica de EC

- Se considera que la EC sigue sin diagnosticarse. Así, entre el 0,5% (322) y el 3,0% (258) de la población de la Unión Europea presentan incidencia y prevalencia de EC no diagnosticadas, respectivamente.
- Una revisión sistemática reciente centrada en la EC pediátrica diagnosticada y no diagnosticada en Europa, entre 1950 y 2019, incluyó 31 de 51 países europeos (258). La mayor parte de la evidencia sobre EC diagnosticada se obtuvo del norte de Europa, especialmente Suecia, y casi la mitad de la evidencia sobre EC no diagnosticada surgió del sur de Europa; principalmente de Italia y España.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Cabe señalar que el diagnóstico precoz de la EC es muy importante para la prevención de complicaciones tales como retraso del crecimiento, osteoporosis, infertilidad, enfermedades cardiovasculares o incluso cáncer (323).
- También, se debe prestar atención a las estrategias de detección para identificar la EC en individuos que pertenecen a grupos potencialmente en riesgo y evaluar no solo a los pacientes con manifestaciones gastrointestinales tradicionales sino también a los pacientes con manifestaciones extraintestinales. En el presente estudio, el cribado se realizó incluyendo a todos estos individuos. Así, las nuevas directrices para el diagnóstico de la enfermedad celíaca pediátrica de ESPHGAN (170) recomiendan realizar test de EC a quienes presentan problemas gastrointestinales (diarrea crónica o intermitente, estreñimiento o dolor abdominal, abdomen distendido, náuseas y/o vómitos recurrentes), extraintestinales (pérdida de peso pérdida, falta de crecimiento, pubertad retrasada, amenorrea, irritabilidad, fatiga crónica, neuropatía, artritis o artralgia, anemia crónica por deficiencia de hierro, disminución de la mineralización ósea (osteopenia u osteoporosis), fracturas repetitivas, estomatitis aftosa recurrente, dermatitis tipo herpetiforme erupción cutánea, defectos del esmalte dental, bioquímica hepática anormal), existencia de familiares de primer grado con EC, presencia de enfermedades autoinmunes (diabetes mellitus tipo 1, enfermedades autoinmunes de la glándula tiroides), enfermedad hepática, síndrome de Down, síndrome de Turner, síndrome de Williams-Beuren y deficiencia de IgA. De especial interés podría ser el postulado de Kvamme et al.(324), quienes proponen bajar el umbral para el diagnóstico de EC incluso en ausencia de manifestaciones digestivas, ya que si el paciente tiene la precepción que algunas de las manifestaciones citadas son compatibles con un estado saludable, la EC sigue sin ser diagnosticada.
- Cabe mencionar que, en el cribado de EC, y en concreto en familiares de primer grado, nuestra visión coincide con la de la ESPGHAN (170), el Grupo Español de Trabajo en diagnóstico de EC (124) y NICE (265). Así, identificamos el 8,0% de los nuevos casos de EC en personas cuyos familiares de primer grado tenían EC. Es de destacar la magnitud porcentual. Otros estudios en niños de familias de alto riesgo (Leiden, Países Bajos (325) basados en un modelo predictivo) mostraron una incidencia acumulada del 7,5% al 17,5% a los 3 y 10 años, respectivamente.
- A nivel de España, un estudio reciente (326) ha comprobado que se debe mejorar el cribado de familiares de personas con EC, ya que no se ha recomendado el cribado familiar en el 20% y el 40% de los casos pediátricos y adultos con EC, respectivamente.
- Otro punto de interés son las disparidades de sexo en la detección de EC y la biopsia duodenal para evaluar la EC. Algunos estudios muestran que existe mayor seropositividad entre las mujeres en comparación con los hombres o bien seropositividad similar entre ambos sexos, pero que cuando los hombres presentan diarrea o pérdida de peso tienen menos probabilidades de someterse a una biopsia duodenal. En consecuencia, la EC podría estar infradiagnosticada (327). Sin embargo, otros estudios consideran que el riesgo de EC no detectada parece ser mayor entre las mujeres que entre los hombres (RR, 1,42; IC 95 %: 1,27-1,57; P < 0,00001) (327).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.3.3. Factores genéticos relacionados

Se analizan aquellos que pueden tener especial relevancia.

- La EC tiene una alta prevalencia en los países nórdicos o en algunas zonas del norte de África donde hay una alta proporción de portadores de HLA-DQ2.5 y/o DQ8. En Europa occidental, Oriente Medio y el norte de África, la EC es común en paralelo con HLA-DQ2.5 y DQ8, que alcanzan el 20% y el 10% (37,328). En nuestra Área Sanitaria de Salud, observamos una distribución de haplotipos similar (Figura 3C) (86,88).
- Parafraseando a Iversen y Sollid (329), HLA-DQ25 se considera un "factor principal". Lo presentan alrededor del 90% de los pacientes, mostrando una distribución equitativa entre los pacientes restantes HLA-DQ2.2 y HLA-DQ8. Sin embargo, aunque los genes HLA son un factor necesario no suficiente para desarrollar EC. A favor de ese postulado está la evidencia de que sólo el 3% de los HLA-DQ2.5, de todos los individuos que albergan loci HLA-DQ8 entre los europeos que consumen gluten, desarrollan EC (330). Del mismo modo, entre los pacientes con EC en España, alrededor del 3% son negativos para HLA-DQ2.5 y HLA-DQ8 (85,176) Otros loci de riesgo distintos del HLA podrían estar implicados en la patogénesis de la EC (329,330). En este aspecto se ha estudiado los pacientes celiacos que no presentan el haplotipo completo o ninguno de los alelos. Este estudio que obtuvo un premio (87) está en marcha en España y esta autora forma parte de él (331) .

- Según ESPGHAN 2020 (170):

> "No se requieren pruebas de HLA en pacientes con IgA-TGA positivo, si califican para el diagnóstico de EC con biopsias o si tienen niveles altos de IgA-TGA en suero ≥10xULN y positividad de IgA-EMA. Una prueba negativa para HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 indica un riesgo muy bajo de EC, mientras que un resultado positivo no confirma el diagnóstico. Si no se encuentran alelos de riesgo, la EC es poco probable".

5.3.4. Factores relacionados con el gluten

Si comparamos nuestros resultados con aquellos procedentes de los escasos estudios existentes sobre la incidencia de EC, en diferentes grupos de edad, podemos constatar que son similares a los de Ludvigson et al., (50) .

Por proximidad geográfica, solo existen dos estudios publicados en Sur de Europa (Italia) (45-46). En ellos se muestra elevada incidencia de EC, aunque la nuestra es superior.

Analizaremos factores que podrían condicionar el incremento de la incidencia de EC:

- Consumo de pan y de tipo de pan
  Para debatir la posible implicación del consumo de pan y del tipo de pan, por su diferencia en el contenido de gluten, en la incidencia de EC; analizaremos estos aspectos teniendo en cuenta estudios que presentan similitud (parcial o total de resultados con el nuestro), teniendo en cuenta su ubicación geográfica y el periodo de ejecución. Aportaremos datos sobre el consumo de pan y el tipo de pan que existía

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

durante el periodo de realización de cada estudio. De no existir datos locales utilizaremos los del país correspondiente.

Teniendo en cuenta los aspectos mencionados se aportan los siguientes datos:

- En relación con el gluten, el consumo per cápita de harina de trigo (332), el uso de gluten vital como aditivo alimentario (gluten presente en carne, pescado y muchos otros alimentos) (333), la ingesta vital de gluten per cápita, las variaciones en las dietas individuales con respecto a la cantidad y los tipos de trigo consumidos, la genética del trigo y las prácticas agronómicas (como la fertilización con nitrógeno), que afectan el contenido de proteínas, podrían contribuir a determinar la "toxicidad" del trigo para las personas con la susceptibilidad genética a la EC (principalmente aquellos que portan los genes de proteínas particulares del complejo mayor de histocompatibilidad, DQ2 y DQ8). Por lo tanto, se necesitarían más investigaciones para evaluar la repercusión que tales factores puedan tener sobre la creciente incidencia de la EC.
- Nuestro estudio muestra una tendencia temporal de la incidencia de EC similar al estudio de Ludvigson et al. (50). El pan es el alimento a base de trigo más común en España (334) así como en EE.UU. (335). Galicia, es la zona geográfica de España con mayor consumo de pan. A modo de ejemplo, en 2018 el consumo de pan en Galicia fue un 30% superior a la media en España, lo que supone un consumo de 41,37 kg de pan por persona al año (336) frente a los alrededor de 20 Kg de pan por persona al año de consumo en EE.UU (335) o en Italia (337), en el mismo período.
- Si tenemos en cuenta la proximidad geográfica, a nivel europeo, dos estudios fueron realizados en Italia (45-46) en las 5 regiones de la provincia de Campania, entre 2011-2013 (45) y en Brescia (46), entre el año 2001 y el año 2003. Nuestro estudio se llevó a cabo entre el año 2012 y el año 2019. En España el consumo de pan fue de 1.200 millones de Kg y de 1070 millones de Kg en el año 2012 (inicio de nuestros estudios) y 2019 (final de los estudios que hemos realizado ligados a los objetivos 1-5). En Italia, durante el periodo de ejecución de los estudios referidos decreció el consumo de pan desde 180 gr por persona y día a 100 gr por persona y día (338)
- Si consideramos el tipo de pan consumido como potencial contribuyente al aumento que hemos observado en nuestro estudio en la incidencia de EC, podría haber contribuido que en España se ha producido una disminución del consumo de pan artesano de un 25,5% en paralelo al incremento del consumo de pan industrial (fresco o seco) (339). Así, el consumo del pan fresco integral, fresco normal, industrial fresco e industrial seco fue de 123; 1.270; 186 y 73 millones de Kg en el año 2012 frente al consumo de 89,4; 1070; 190 y 82,6 millones de Kg de cada uno de ellos en el año 2019 (334).
- El perfil de consumo de pan industrial, referido en el punto anterior, tiene especial relevancia ya que el contenido de gluten es significativamente mayor en los panes industriales (340) Recientemente, se ha realizado un estudio sobre el contenido en gluten de 48 tipos de pan muy consumidos en España, que eran vendidos en panaderías artesanales (fermentación larga) e hipermercados (fermentación corta); observándose que el contenido de gluten era significativamente menor en los panes artesanales de panaderías, excepto

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

el pan de centeno, en comparación con el pan industrial vendido en los hipermercados (340)

- De forma similar, el incremento en el consumo de pan industrial también afecta a otros países en proximidad geográfica como Italia. Sirvan como ejemplo dos modalidades de pan industrial: el pan de larga duración y el tostado, que fueron los más vendidos en Italia en 2019, con más de 37 mil toneladas vendidas y más 121 millones de euros en ventas, respectivamente (338)
- No obstante, en comparación con otros países de Europa, en España la producción de pan industrial es muy baja (19% España, 80% Reino Unido, 40% Alemania, 35% Francia)(341).
- Por otra parte, independientemente del consumo del pan, hay que considerar el consumo de harina. En España, la población mayor de 65 años es quien presenta una mayor ingesta, con un 38,1 % superior a la media nacional. Tal vez esto pueda contribuir, además de otros factores mencionados anteriormente, al incremento en la incidencia de EC en la población de dicho rango de edad. Si atendemos al consumo por Comunidad Autónoma, las tres Comunidades Autónomas con más compra harinas y sémolas son: Galicia, los archipiélagos Canario y Balear; superando el consumo de la media nacional 2,49Kg con un consumo *per cápita* de 4,0; 4,12 y 3,95 Kg *per cápita*, respectivamente (339).

- Por otra parte, han de tenerse en cuenta otros factores como la variedad de trigo y el uso de fertilizantes, la existencia de gluten en numerosos alimentos, en relación con la posible repercusión sobre la incidencia de la EC:
  - Variedad del trigo
    - El tipo de trigo, antiguo frente a moderno, puede condicionar su capacidad inmunogénica. Cabe señalar que diferentes estudios demostraron que los trigos antiguos contienen más proteínas y epítopos activos del gluten frente a EC (342). El gluten es una proteína presente en el trigo (gliadinas y gluteninas), el centeno (secalinas), la cebada (hordeínas) y la avena (aveninas), así como en sus cepas hibridadas (p. ej., espelta o kamut), que corresponden a alrededor de 70% –80% de la proteína total del grano (343). Comparando las variedades recientes con las antiguas (del siglo XIX al XX), en general, la composición del gluten ha cambiado con una disminución aproximada del 18% en gliadinas y un aumento de gluteninas del 25%. No obstante, parece que el contenido de péptidos activos en EC también está relacionado con el año de cosecha y el cultivo (344).

  - Fertilización con nitrógeno
    - Algunos autores (345) consideran que el aumento de la EC observado en varias poblaciones humanas alrededor del mundo podría estar relacionado, al menos en parte, con la intensificación de la fertilización con nitrógeno en los cultivos de trigo.
    - La harina de trigo es hexaploide, por lo que cada locus está presente en los pares de cromosomas homólogos de los tres subgenomas diferentes, A, B y D. Los epítopos inmunogénicos se encuentran en las gliadinas α- γ y ω y, en menor medida, en las gliadinas de bajo peso molecular, mientras que las

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

gluteninas de alto peso molecular son en su mayoría seguras para los pacientes con EC y, constituyen la principal familia de gluten responsable de la calidad de la masa del pan. Las proteínas gliadinas están codificadas por grandes familias de genes. Están agrupados como secuencias repetitivas en loci caracterizados, que no contienen intrones, pero sí incluyen un gran número de pseudogenes (90% en el caso de las α-gliadinas). En el trigo hexaploide, los genes de α-gliadina se agrupan en el locus Gli-2 en el brazo corto de cada uno de los cromosomas del grupo 6 y suman entre 60 y 150 copias. El brazo corto de cada uno de los cromosomas del grupo 1 contiene tanto el locus Gli-1 con alrededor de 40 γ-gliadinas y el locus Gli-3, con aproximadamente 16 ω-gliadinas, en el genoma hexaploide. Existen variantes de los epítopos inmunogénicos, que no son reconocidos por los receptores de células T en el trigo harinero hexaploide, pero en todos los genotipos se encuentran en combinación con otras variantes de epítopos altamente inmunogénicos. Existe una correlación entre el nivel de inmunogenicidad de los epítopos de gliadina y el subgenoma en el que se encuentran. Las gliadinas del genoma B tienden a ser menos inmunogénicas, mientras que las gliadinas del genoma D son más inmunogénicas. Dado este nivel de complejidad, no es sorprendente que el mejoramiento convencional por sí solo no haya logrado generar trigo "seguro sin gluten", que contenga solo gliadinas con epítopos no inmunogénicos o incluso sin gliadina en absoluto (346)

En general, el tratamiento con fertilizantes con alto contenido de nitrógeno mejora el cuerpo proteico del endospermo, el contenido de proteína de almacenamiento y la calidad del procesamiento de la harina al cambiar los niveles de expresión de genes que codifican componentes de las vías de biosíntesis de proteínas. Además, el uso de fertilizantes con nitrógeno aumenta significativamente las proporciones de glutenina a gliadina y subunidades de glutenina de alto peso molecular y subunidades de glutenina de bajo peso molecular. Por otra parte, la cantidad y composición de las proteínas de almacenamiento, así como las características de mezclado de la masa, están muy influenciadas por el nitrógeno suministrado a través de la pulverización foliar, y la fertilización con nitrógeno mejora todas las proteínas de almacenamiento (gliadinas, gluteninas de alto y bajo peso molecular). Además, el análisis cuantitativo del proteoma revela que los fertilizantes con alto contenido de nitrógeno incrementan la concentración de glutenina en comparación con la fracción de gliadina en el trigo de invierno. Así mismo, la aplicación de nitrógeno también ocasiona en un aumento estadísticamente significativo en la producción de granos entre +0,35 y +0,82 tonelada/hectárea, lo que presenta un efecto positivo sobre el contenido de gluten húmedo y la formación de proteína cruda; Por lo tanto, dan como resultado una mayor acumulación de gliadinas y gluteninas en el grano de trigo. Ya que la adición de fertilizantes nitrógeno ocasiona un aumento en la concentración de gluteninas de alto peso molecular, existe un mayor grado de formación de enlaces disulfuro y, como resultado, mejora la calidad de la elaboración del pan. También, el uso de fertilizantes con nitrógeno aumenta varios componentes de la proteína de almacenamiento del trigo (prolaminas), lo que dificulta el consumo de las personas sensibles al gluten (347).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- El trigo que crece en condiciones de mayor disponibilidad de nitrógeno en el suelo produce no solo un mayor rendimiento sino también granos y harinas con mayores concentraciones de gliadina en todos los tipos de genotipos de trigo. Dado que las gliadinas son las principales responsables directas del desencadenamiento de la EC y que la tendencia en la ingesta *per cápita* de productos del trigo en las últimas décadas ha aumentado o se ha mantenido más menos constante (según área geográfica y rango etario), ha habido un aumento en la ingesta per cápita de gliadinas a escala mundial.(345)
- Además, en las últimas décadas, la fertilización de los cultivos de cereales con nitrógeno ha aumentado, lo que ha tenido un impacto significativo en la cantidad y calidad de las proteínas de almacenamiento (gliadinas y gluteninas) y ha mejorado la calidad de la panificación. Sin embargo, esto hace que el consumo de trigo sea un desafío para los pacientes con EC (347). En particular, la fertilización de los cultivos de trigo aumentó entre 1961 y 2010, de 9,84 a 93,8 kg de nitrógeno por hectárea y año (345).

La composición de gliadina se altera como resultado del aumento de temperatura y la aplicación de fertilizante nitrógeno al cultivo de trigo en crecimiento. Como resultado de la fertilización con nitrógeno, se observa un aumento en el contenido de proteína del grano de 3,4 a 6,8 mg, lo que a su vez incrementa la fracción de gliadinas de las proteínas totales de 23% a 29%. En concreto, la aplicación de fertilizantes nitrogenados incrementa las proporciones de la fracción de gliadinas, es decir, ω: 10–19%, α + β: 42–58% y γ: 24,5–32%. Esto lleva la conclusión de que un aumento en la disponibilidad de nitrógeno mejora la síntesis de ω-gliadinas, quizás debido a su alto contenido de glutamina. Así mismo, la expresión de genes de γ-gliadina en granos de trigo en crecimiento está fuertemente controlada por la disponibilidad de nitrógeno (347). El aumento en el contenido de gliadina está directamente relacionado con la mejora en el contenido de nitrógeno del grano y la proporción de proteínas. Después de fertilizar los cultivos de trigo con nitrógeno, la cantidad de gliadina encontrada en la harina aumenta en un 38% y la relación gliadina/glutenina también aumenta en un 18%. Es más, el aumento de la dosis de nitrógeno resulta en un aumento de albúminas, globulinas y gliadinas ω y α/β en el grano. Al aumentar la cantidad de fertilizante con nitrógeno aplicado a las parcelas de campo se observa una mayor expresión de transcripciones de ω-gliadinas y mayores proporciones de ω-5 gliadinas. Sin embargo, cuando el endospermo almidonado está expuesto a altos niveles de nitrógeno, los patrones espaciales de producción y deposición de ω-gliadina aumentan diferencialmente. El aumento significativo de la gliadina polimérica ω-5 puede aumentar los polímeros totales de glutenina, que también son los componentes principales responsables de causar el tipo más común de anafilaxia inducida por ejercicio dependiente del trigo (347).

- Si el vínculo sugerido entre la intensificación de la fertilización con nitrógeno y la expansión de la EC se demuestra en futuros estudios experimentales, tendremos una herramienta importante para controlar y prevenir la expansión de la EC (345).

- Actualmente, el único tratamiento es una DLG, excluyendo todo el trigo, la cebada y el centeno (89) Diariamente, la DLG es difícil de seguir ya que el gluten de trigo se añade a una amplia gama de productos alimenticios (333) ya que el trigo es una gran parte de la alimentación diaria y se añade a muchos productos manufacturados por sus

propiedades físicas, pues confiere viscosidad, volumen y espesor. Más de la mitad de los productos comercializados contienen gluten como espesante o aglutinante, contaminación cruzada o adulteración. Además, los productos libres de gluten son menos saludables, con bajos niveles de proteínas y nutrientes, además de altos niveles de sal, mientras que se necesitan muchos aditivos para simular las propiedades reológicas únicas del gluten de trigo (348).

5.3.5 Otros factores relacionados con la mayor o menor incidencia de la EC

Otros factores pueden contribuir a cambios en la incidencia de EC:

- El uso de antibióticos en el primer año de vida incrementa el riesgo de EC(76). España tiene un alto consumo de antibióticos. No obstante, España es el tercer país (uso animal, reducción del 69,5%) y el primero (uso humano, reducción del 17%) que muestra una mayor reducción en el uso de antibióticos entre los países europeos (349). En concreto, disminuyó el consumo global de antibióticos en una población pediátrica del noroeste español (2005-2018, dispensación en farmacias comunitarias de prescripción de medicamentos)(350) Esa mejora podría deberse a la implementación de Programas de Administración de Antimicrobianos (ASPS) con la participación de instituciones, proveedores de atención médica e individuos(351).
- Además, el micro medio gastrointestinal y algunos agentes infecciosos (92,352–355) parecen estar asociados con un mayor o menor riesgo de EC. H. pylori, mayor protección contra la atrofia de las vellosidades en personas infectadas con EC (355). La prevalencia de la infección por H. pylori y los subtipos de H. pylori muestran una gran variabilidad entre países en toda Europa. Probablemente podría deberse a diferencias sociodemográficas, socioeconómicas y dietéticas (356). España muestra una prevalencia de H. pylori similar a la de otros países del sur de Europa como Italia [54,9 (48,6-61,1 IC 95%) frente a 56,2 (46,9-65,4 IC 95%)](356). En cuanto a los subtipos de H. pylori, el subtipo cagA+ se asocia con Marsh 0-1 en pacientes con EC (357). En la población adulta española la seroprevalencia de H. pylori, considerada como la seropositividad entre al menos cuatro proteínas bacterianas, es elevada (53,3% para cagA+(358).

5.3.6. Cambio en el patrón de inicio clínico de la EC

Un último aspecto que mencionar es que, en nuestro estudio, según los dos síntomas clásicos de la EC (diarrea y pérdida de peso), la incidencia de la EC clásica disminuyó a lo largo del periodo de estudio, entre 2012 y 2019. Observamos un patrón cambiante en las manifestaciones de la EC, desde síntomas gastrointestinales tradicionales a "no clásicos" s (Figura 66 sección Resultados).

En comparación con otras áreas geográficas nuestros resultados son similares a los mostrados por Ludvigson et al. (50) en EE.UU.

Cuando se aborda el cambio en la presentación clínica de la EC a lo largo de los años, se sugieren diferentes causas, entre las que se incluye la estrategia diagnóstica, el conocimiento creciente por parte de los profesionales del perfil clínico poco sintomático o con manifestaciones no clásicas, etc. que ya se mencionan previamente en esta discusión.

Teniendo en cuenta que nuestro estudio de incidencia en todos los grupos de edad fue realizado entre el año 2012 y 2019, analizaremos a continuación algunos aspectos que se

USC DE COMPOSTELA

recogen en torno al cambio en las manifestaciones de EC en una reciente revisión realizada por Popp y Mäki en el año 2019 (359) y en otras publicaciones previas al año 2019 (360):

- En la década de 1960, la EC en edad pediátrica se manifestaba típicamente con diarrea prolongada, síndrome de malabsorción y retraso del crecimiento, a menudo antes de los 2 años. Sin embargo, durante las décadas de 1970 y 1980 se hizo evidente un cambio en la presentación de la EC con desaparición de la forma clásica. En Finlandia, sin embargo, a partir de 1970 se observó que, además de la desaparición de la forma clásica de EC en niños pequeños, aumentaron las tasas de incidencia de las formas más leves de la enfermedad, lo que dio lugar a un aumento de la edad en el momento del diagnóstico de 2 a 8 años. Esto también fue evidente en el Reino Unido, donde el patrón cambiante de la enfermedad parecía ser un hecho. La EC infantil tendía a presentarse a una edad pediátrica más avanzada. Cuando la EC se manifiesta durante las últimas etapas de la infancia, los síntomas pueden ser gastrointestinales; sin embargo, la enfermedad suele ser mono sintomática y se presenta con estatura baja, pubertad retrasada y dolor articular o anemia debido a una deficiencia aislada de hierro. Los síntomas gastrointestinales también pueden ser leves o inexistentes. Si los profesionales de la salud solo diagnostican la EC clásica que se presenta a una edad temprana y en niños mayores con síntomas gastrointestinales, solo se detecta la punta del iceberg de todos los pacientes con EC, lo que resulta epidemiológicamente en cifras bajas de incidencia y prevalencia. Estos pacientes clínicamente silenciosos, es decir, niños sin síntomas o signos que sugieran EC, también exhiben una manifestación de lesión de la mucosa del intestino delgado desencadenada y dependiente del gluten. Requieren una mayor concienciación de los profesionales sanitarios y una estrategia de búsqueda de casos para un diagnóstico precoz. Específicamente, las pruebas de autoanticuerpos celíacos pueden determinar una enfermedad subyacente inducida por el gluten, lo que produce una alta sensibilidad y especificidad. La existencia de pacientes clínicamente silenciosos se hizo evidente cuando se realizaron pruebas de provocación con gluten a pacientes previamente diagnosticados y bien tratados, además de la detección de EC para ciertos grupos de riesgo, como aquellos con diabetes tipo 1 o de familiares de grado con EC (361)
- Un gran estudio europeo en el que participaron 38 centros y 5.871 niños con EC diagnosticada, entre 1975 y 1990, confirmó que había habido un aumento medio general en la edad en el momento del diagnóstico de 2 años en 1975 a 4 años en 1990 (360) siendo Suecia la excepción (362)
- Así mismo, se ha descrito que el patrón cambiante de EC ocurre en diferentes momentos dentro y fuera de diferentes países europeos:

  - En la región italiana de Nápoles, por ejemplo, no se observó ningún cambio en la edad en el momento del diagnóstico entre 1973 y 1986 (363).
  - Contrariamente, en otras partes de Italia, sin embargo, se observó un aumento en la edad (360) disminuyendo las formas clásicas de EC a finales de los años 1990 y principios de los años 2000 y aumentando significativamente las formas silenciosas, lo que resultó también en un aumento de la edad en el momento del diagnóstico (364).
  - En los Países Bajos, no se observó cambio en el patrón de presentación entre 1975 y 1994 (365) pero una mayor conciencia y reconocimiento de la EC infantil finalmente cambió la presentación clínica durante los años 1993-2000 (366).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- En el Reino Unido, se observaron cambios considerables, debido principalmente a la detección selectiva de anticuerpos séricos. También se observó una disminución en la proporción de pacientes que presentaban manifestaciones gastrointestinales y un aumento en el número de pacientes sin síntomas, entre el año 1999 y el año 2004 (367) Durante los años 2005-2011, más del 50% de los niños diagnosticados con EC presentaban pocos o ningún síntoma (54).

- El mismo tipo de patrón clínico cambiante se ha observado en Grecia (368) y Estonia (369) y Suecia. No obstante cabe reseñar que en Suecia, sólo después de mediados de la década de 1990, cuando terminó la epidemia sueca, que afectó a lactantes pequeños entre 1985 y 1995 (362).

- En Finlandia, entre 1975 y 1990, se encontraron grandes diferencias en las tasas de incidencia de EC al comparar Helsinki con Tampere (360) ya que los profesionales de AP en la capital de Finlandia no tenía el conocimiento de la EC clínicamente silenciosa. Sin embargo, más tarde, en Helsinki, se descubrió que el número de pacientes con EC se multiplicó por seis entre el año 2000 y el año 2005, con una edad media en el momento del diagnóstico que aumentó a 7,2 años Al comparar los dos países vecinos, Finlandia y Suecia, según las características clínicas de la EC, entre 1985 y 1989, las diferencias encontradas fueron notables: en Suecia, se observaron con mayor frecuencia síntomas clínicos clásicos y se realizó el diagnóstico antes de los 2 años, mientras que, en Finlandia los síntomas variaban mucho más y el diagnóstico a menudo se hacía después de los 8 años (370). Sin embargo, la presentación de la EC en los niños finlandeses parece haber alcanzado una meseta en los últimos años.

- También se observó patrón cambiante de presentación de EC en América del Norte (59) (61) Turquía (371) o India (372), etc.

- En edad geriátrica, el espectro clínico de la EC es muy variable, desde malabsorción severa y generalizada con importante pérdida de peso hasta deficiencia nutricional de un solo nutriente como hierro o calcio, configurando así el cuadro clínico de anemia ferropénica y osteopenia u osteoporosis severa. el cual, en los ancianos, se desconoce el patrón de presentación gastrointestinal es menos común que en los adultos más jóvenes; sin embargo, en la población de edad avanzada, la deficiencia de micronutrientes a menudo puede representar el único síntoma en el momento de la presentación (101).
- Los síntomas, cuando se presentan en personas mayores, son leves, lo que dificulta el diagnóstico. La diarrea, la pérdida de peso y el dolor abdominal son más comúnmente indicativos de síndrome del intestino irritable en el paciente de edad avanzada que la EC. De hecho, aunque la EC es la causa más común de esteatorrea en personas mayores de 50 años, la malabsorción es bien tolerada en las personas. mayores de 65 años. La diarrea es leve o intermitente y, ocasionalmente, el paciente celíaco de edad avanzada puede presentar estreñimiento (101).
- Además, los pacientes celíacos geriátricos pueden acudir al médico con una enfermedad autoinmune, como hipotiroidismo, o con una enfermedad maligna, como linfoma. En este caso, la EC puede presentarse sin síntomas, como EC silenciosa. Por otra parte, las manifestaciones hematológicas son frecuentes y hasta el 80% de los pacientes ancianos con EC pueden presentar anemia(101).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Desde el punto de vista clínico, diagnosticar la EC en personas mayores resulta bastante complicado, no sólo para los médicos de familia sino también para los gastroenterólogos. De hecho, muy a menudo los pacientes presentan síntomas clínicos leves, y si esto se asocia con un bajo nivel de sospecha de EC en personas mayores, se realizará un examen clínico para confirmar o descartar afecciones más graves (como malignidad). Además, la fragilidad de los pacientes mayores hace que en ocasiones estén sujetos a trastornos del estado de ánimo y sus hábitos intestinales pueden depender de estos cambios, especialmente en pacientes que padecen síndrome de intestino irritable, o, además, pueden deberse al proceso de envejecimiento. Por estas razones, los pacientes mayores con EC a menudo tienen un retraso diagnóstico promedio de alrededor de 15 a 17 años. Además, un signo como la anemia en los ancianos es altamente sospechoso de cáncer de colon más que de EC. Otras enfermedades (síndrome de sobrecrecimiento bacteriano, isquemia intestinal e insuficiencia pancreática exocrina) pueden presentarse con síndrome de malabsorción, y también puede presentarse o imitar la EC en pacientes celíacos debido a su edad avanzada. Por tanto, un diagnóstico diferencial completo y preciso es la base del proceso diagnóstico que conduce a la EC en los ancianos (101).

5.4 DISCUSIÓN PARA EL OBJETIVO 5

Nuestro estudio comprende casos de EC consecutivos en todas las edades y pone de manifiesto que la EC celiaca del adulto tiene unos valores de marcadores específicos más bajos respecto a la pediátrica. También existen diferencias en la sintomatología clínica y un menor grado de lesión intestinal. Rodrigo et al observaron un claro retraso diagnóstico de EC que era mucho mayor en adultos con una mediana de 4 años respecto a niños que presentaban una mediana de 1 año existiendo diferencias significativas en ambos grupos de edad. (373)

Con el objetivo de aumentar la sensibilidad de los IgA-TG2 en la población adulta se buscó un nuevo valor de corte a la baja.

La validez diagnóstica de los ensayos fue calculada por análisis de la curva ROC de rendimiento diagnóstico en pacientes sometidos a endoscopia superior con BD estableciendo un nivel de seguridad por debajo de la cual se encuentran el 98 % de los resultados de la población general (263) resultando un valor de corte para adultos cuatro veces inferior al pediátrico**.** En este contexto se ha obtenido IgA-TG2 >5 U/mL como límite de normalidad, considerando entre 2-5 valor bordeline positivo estableciéndose positivo cuando se confirmaba con IgA-EMA en distinta muestra. Este cut-off de 2U/mL es el mismo propuesto por Mariné et al en adultos (302). Estos autores estudiaron a 1868 personas reclutados en un departamento de salud laboral, los cuales se sometieron a análisis de IgA-TG2 y IgA-EMA y, en caso de ser positivos, se les realizó biopsia duodenal, genotipado DQ2/DQ8, registro de características clínicas, análisis de sangre y densitometría. En este caso se estableció que > 98% de los individuos tenían IgA-TG2 < 2 U/mL, por lo que este valor se estableció como límite de corte de normalidad.

Utilizando estos nuevos valores se pretende aumentar el nivel de seguridad diagnostica y realizar una búsqueda activa de nuevos casos de EC. Nuestro datos revelan hasta un 24.57 % de pacientes seronegativos en adultos utilizando el cut-off habitual de 8U/mL (utilizado para

aplicar las guías ESPGHAN), de ellos el 13,14 % presentan valores de IgA-TG2 entre 2-8U/mL (el 4 % de estos entre 5,1-8 U/mL y el 9,14 % entre 2.1-5U/mL), por lo que estos pacientes serian testados y derivados para el diagnóstico de EC evitando comorbilidades por el retraso en el diagnóstico.

Hemos evaluado estos valores para para estudiar la correlación del grado de atrofia, y determinar si sería posible, en casos seleccionados o difíciles, establecer en adultos el diagnóstico sin biopsia. En pacientes adultos sintomáticos que muestran positividad para IgA-TG2 con IgA-EMA como prueba confirmatoria y susceptibilidad genética, los títulos de IgA-TG2 se correlacionaron con la histología. Los criterios se comportaron de manera similar al estudio en niños con los criterios ESPGHAN, un límite calculado de x11 LSN mostró una relación con atrofia $p<0.001$ para un valor de IgA-TG2 de 56 U/mL. También estudiamos la correlación de la atrofia parcial/total en las biopsias para todos los pacientes adultos utilizando los mismos valores de IgA-TG2 que se utilizan en nuestro laboratorio para aplicar las directrices ESPGHAN en niños es decir >80U/mL (≥16 LSN con el nuevo umbral aplicado en adultos) y la atrofia vellositaria parcial/total estuvo presente en el 98% de los casos, con un único caso que presentaba un Marsh 1. Este caso fue posteriormente reclasificado con una segunda biopsia en Marsh 3b con lo que se puede afirmar que el VPP es 100% en los adultos aplicando los mismos criterios que en niños. Sin embargo, la biopsia en muchas ocasiones es necesaria para el diagnóstico de otros procesos asociados como colitis linfocítica etc. Estos resultados fueron presentados como comunicación oral por esta autora en el último Congreso Nacional de Enfermedad Celiaca celebrado en Madrid en el 2022 (374).

En este contexto nuestros resultados son similares a los de Efthymakis et al en el 2017 que estudian si las directrices pediátricas ESPGHAN se podrían utilizar para adultos, con un número similar de biopsias estudiadas, y encuentran una correlación positiva cuando se utiliza ≥16 LSN. Sin embargo, una fortaleza de nuestro estudio es que incluimos también los pacientes seronegativos (375).

En este contexto se está realizando un estudio a nivel nacional cuyo promotor es el hospital la Paz de Madrid en el que participan la Sociedad Española de Laboratorio Clínico y la Sociedad Española de Inmunología en el que esta autora es la investigadora principal en el HULA en el que pretende definir un umbral para cada prueba de anticuerpos IgA antitransglutaminasa (376).

Una vez establecidos estos nuevos valores se integran en un plan de mejora dentro del laboratorio acreditado con la norma UNE-EN-ISO15189 y se integran en el petitorio electrónico y en el sistema IANUS del SERGAS. (anexo 6) e incluido el acta de revisión del sistema de calidad por la dirección del hospital 2023. Este plan de mejora fue sometido a una auditoría interna y externa y aprobado, por lo que los nuevos VR fueron integrados en el SIL del laboratorio, en nuestro catálogo de pruebas y en el IANUS. Igualmente, presentados en el congreso Nacional de Laboratorio Clínico de Zaragoza 2023 (377).

5.5. DISCUSIÓN PARA EL OBJETIVO 6

En el caso de que la biopsia sea necesaria, se requiere su realización sin demora. En particular, dada la relevancia de comenzar una DLG precozmente, y más si cabe en adultos ya que, en muchas ocasiones, llevan años sin diagnóstico presentando diversos trastornos (tales como anemias crónicas, alteraciones psicológicas, déficits de nutrientes) que conducen a osteoporosis precoz, hepatitis, infertilidad etc., y, que revierten con la DLG.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En nuestro sistema de salud se requiere una derivación desde AP, que puede prolongarse en el tiempo. Tras ella, se establece una cita para endoscopia que no se considera urgente. Por tales motivos, transcurren muchos meses desde que se detecta la alteración bioquímica y se instaura el tratamiento con la existencia varios problemas:

- Comorbilidades y nuevas enfermedades asociadas
- Agravamiento de las existentes con necesidad de medicamentos, hierro o vitaminas.
- Déficit de Calcio y malabsorción de vitamina D que lleva a una osteoporosis prematura
- Si el paciente opta por la DLG antes de la confirmación definitiva es probable que la biopsia de un resultado falso negativo o un grado inferior de Marsh.

Para intentar paliar dichos problemas y, como aplicación práctica de esta Tesis Doctoral, la autora de esta ha puesto en marcha desde el laboratorio un sistema de vía rápida de confirmación diagnóstica para la derivación rápida de los pacientes con nuevo diagnóstico de EC de los pacientes detectados en el laboratorio de Bioquímica Clínica través de nuestro algoritmo diagnóstico (Figura 49-51)

Este protocolo se ha llevado a cabo con la aprobación de la Dirección Médica del hospital, la Gerencia de AP, la Jefatura de Servicio de Análisis Clínicos y la coordinación de dos especialistas en gastroenterología, pediátrica y de adultos. Ha sido también necesaria la integración por parte de informática para el sistema de alerta y de citaciones por teleconsulta no presencial.

La "vía rápida" ha sido incluida en un innovador modelo de sistema con el nombre de la deidad griega Hermes, que consta de 29 rutas rápidas y cubre cien enfermedades diferentes, incluida la EC. Es un modelo que regula el flujo de pacientes desde el médico de familia hasta el especialista del hospital, así como que prioriza en función de la urgencia del caso (establecida por criterios claros acordados por los proveedores de atención médica).

A nivel de España, un estudio sobre diagnóstico de EC (326) [estudio sobre la encuesta de calidad de vida, adultos diagnosticados en la edad adulta (n=343) o en la infancia (n=58) y sus padres (n=139)] mostró que el retraso en el diagnóstico fue desde 6 meses a 2 años en la infancia y la edad adulta, respectivamente. En nuestro estudio (véase apartado correspondiente a los objetivos 5 y 6) en virtud de utilización de una "vía rápida" se ha reducido el tiempo de confirmación diagnóstica mediante biopsia. La confirmación diagnóstica incluida la biopsia duodenal, si es necesaria, se realiza en aproximadamente 1 mes, incluyendo las pruebas bioquímicas confirmatorias y los resultados histológicos.

Esta vía rápida se activa desde el laboratorio a través de reglas expertas informáticas que seleccionan los pacientes candidatos a la misma, aplicando los nuevos VR y por lo tanto posibilitando el diagnóstico precoz de pacientes con sospecha de enfermedad celiaca. Una vez detectado los casos positivos se establece un nexo con el médico peticionario y con los servicios de digestivo.

Por ello, uno de los puntos fuertes de este planteamiento de vía rápida, original y diferente a otras ya establecidas, es que es el Laboratorio de Bioquímica y concretamente el área de autoinmunidad y alergia, el que actúa como primer nivel en la detección de los nuevos casos de enfermedad celíaca y la vía rápida se establece en función de criterios bioquímicos para todas las especialidades. Esto es muy importante, porque es el laboratorio el que recibe todos los petitorios de todos los pacientes que integran el área sanitaria, desde AP que comprende 7 áreas sanitarias (Lugo, Os Ancares, Fonsagrada, Meira, sarria, Terra Chá y a Ulloa) y desde todas las especialidades de atención Hospitalaria, aproximadamente 1500-1800 peticiones diarias. Como estos anticuerpos específicos se procesan únicamente en el hospital, en la sección que dirige esta autora, es esta unidad hospitalaria, la que tiene acceso a todos los pacientes con

sospecha de EC provenientes de las diferentes especialidades médicas. Ya que como se ha dicho esta una enfermedad camaleónica que puede debutar con síntomas que abarcan todo el espectro médico y todas las edades, lo cual es importante para no perder casos activos, oligosintomáticos o con valores *bordeline* de anticuerpos.

Por otro lado, una vez detectado los casos mediante esta vía se derivan de forma rápida a las unidades que deben realizar el diagnóstico de confirmación:

- En pediatría en gastroenterología pediátrica (Dra. Carmen García-Plata Fernández), que aplicará las guías ESPGHAN 2020 de forma inmediata, y que además proporciona un acceso directo a los familiares de primer grado del estudio completo de autoanticuerpos específicos y pruebas genéticas desde la propia consulta de pediatría, por lo que, se hace un estudio global familiar. Gracias a este tipo de gestión, hemos detectado hasta un 8% de familiares con EC en los nuevos diagnósticos de niños con EC que no estaban diagnosticados. El estudio de estos casos y su caracterización genética fue objeto de un TFG presentado en esta Universidad y que esta autora fue cotutora. (88). También presentamos un caso clínico impactante de una presentación familiar el en Congreso Nacional de Enfermedad Celiaca 2021. (162)
- En adultos en la unidad de Digestivo (Dr. José Abel González Rodríguez) que tras una tele consulta no presencial con el paciente, solicitará la biopsia para establecer el diagnostico confirmatorio de adulto y el grado de atrofia duodenal. En pacientes adultos y fundamentalmente en el estudio de valores bordeline (de especial interés para valores de IgA-TG2 entre 2-8 U/mL) se solicitará un análisis de haplotipos HLA-DQ2/DQ8 de cara a aumentar la evidencia diagnostica en grados bajos de Marsh, como propone Caio et al (164), como recomendación de primer nivel en pacientes seronegativos.

Para esta autora, esta vía rápida va incluso más allá del diagnóstico precoz, porque implica también la atención global del enfermo celiaco, la personalización y el seguimiento de la enfermedad. Y ello ha sido posible gracias a la colaboración de 3 servicios que funcionan como una unidad integradora, que trabajamos juntos en el diagnóstico y seguimiento de la EC.

Además, pensamos que tendrá que la aplicación de estos resultados generará un impacto muy positivo en la Sanidad Pública, reducirán las interconsultas a especialistas, análisis clínicos y tendrá un importante beneficio económico, pero sobre todo mejorará la calidad de vida de los pacientes, muchas veces de edades avanzadas, con historias clínicas de largos años de derivaciones médicas sin un diagnóstico claro que ha generado mucha ansiedad y depresión.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 6

LIMITACIONES Y FORTALEZAS

Los estudios incluidos en esta Tesis Doctoral, muestra algunas limitaciones debido a que la población es predominantemente caucásica. Por tanto, nuestros datos no pueden extrapolarse a otras poblaciones.

Las principales fortalezas de nuestro estudio son:

- Como ya hemos descrito, los desafíos y oportunidades más importantes para el diagnóstico y seguimiento de la EC, requieren la coordinación de esfuerzos en el laboratorio y en la clínica y la recopilación sistemática de datos, que excede las capacidades de los investigadores que trabajan de forma aislada. Por ello, la colaboración interdisciplinar, como la mostrada en esta Tesis Doctoral, es de vital importancia. Consideramos una fortaleza, el enfoque integral de atención médica con la disponibilidad de un algoritmo aplicable único bajo criterios de calidad de acreditación. En nuestro estudio se utilizó un algoritmo computarizado estándar utilizado por los médicos y pediatras de AP, así como por los pediatras y gastroenterólogos del hospital (ver sección Métodos). Murray et al. (53) (Proyecto de Epidemiología de Rochester 1950-2001) o Ludvigsson et al. (54) (2000-2010, Proyecto Epidemiológico de Rochester y Mayo Clinic) fueron precursores al postular un enfoque integrador entre proveedores de atención médica.

- La transferencia de la investigación a la práctica asistencial:

    - La adaptación de las guías clínicas a la práctica diaria habitual, tanto de las guías 2012 que supusieron un gran avance para la instauración en el HULA del diagnóstico de EC sin biopsia en niños y adolescentes con criterios de seguridad, como de la actualización de dichos criterios con la adaptación a las guías 2020.
    - Con la propuesta de valores de corte diferenciados y biomarcadores para el diagnóstico de la EC, para intentar reducir el número de biopsias.
    - Con la instauración diagnóstica de una vía rápida de confirmación diagnóstica, en el caso de que se requiera la BD.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 7.

CONTINUIDAD DE NUESTRAS INVESTIGACIONES

Durante las últimas décadas, el campo de la EC ha tenido muchos logros de investigación que celebrar. Hemos adquirido un enorme conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad, que es una de las pocas enfermedades autoinmunes para las que el antígeno incitador se puede administrar de forma segura, con la capacidad de rastrear las respuestas de las células T específicas del antígeno. Por tanto, la EC es un modelo muy atractivo para la tolerancia inmunitaria específica de antígeno y otras terapias. Existen grandes oportunidades para realizar investigaciones sobre la EC con un potencial de alto retorno de la inversión.

Quedan muchos retos pendientes y desafíos que debemos afrontar para conseguir un diagnóstico precoz, un tratamiento y un seguimiento correcto, que mejore las condiciones de los enfermos, disminuya las comorbilidades y minimice la carga sanitaria asistencial y económica de esta enfermedad que en estos momentos es un problema de salud pública.

A continuación, se exponen los principales retos y cuáles de ellos estamos trabajando en este momento.

7.1 EN LA ETIOPATOGENIA

Fundamentalmente implica la investigación genética y dilucidar el papel de la microbiota, implicando:

- Realizar una predicción genética más precisa en familiares de pacientes y grupos de riesgo con EC.
- Hemos comenzado a partir de la instauración de la vía rápida confirmatoria con la caracterización genética de los enfermos adultos con valores *bordeline* y bajos de IgA-TG2, así como para los seronegativos.
- Encontrar nuevas regiones genómicas asociadas con el riesgo genético a desarrollar enfermedad.
- Incluir de estas variantes patogénicas en algoritmos de predicción de riesgo que permitan un diagnóstico de individuos con una alta predisposición genética antes de la aparición de los síntomas, lo que redundará en una mejora en su calidad de vida y en una disminución de los costes sanitarios
- Conocer y profundizar en el papel de la disbiosis (cambios en la composición y diversidad de la microbiota intestinal) en la pérdida de tolerancia del huésped a los péptidos del gluten. Participamos actualmente en un estudio Interhospitalario Hospital Clínico de Madrid para estudiar la disbiosis especialmente en los enfermos no DQ2/DQ8.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.2 EN LA CLÍNICA

Especialmente se basa en la búsqueda activa de casos por parte de los profesionales sanitarios:

- Buscar EC en especialidades todavía poco estudiadas como neurología y psiquiatría.
- Gestionar biomarcadores específicos mediante algoritmos para detección de casos silentes y oligosintomáticos. Nuestro algoritmo incluye la determinación de IgA-EMA a todos los casos con valores >2 IgA-TG2, con lo hemos conseguido aumentar el número de diagnósticos especialmente falsos negativos.
- Aclarar la importancia de la hipovitaminosis D y su papel como inductor de cambios en la homeostasis intestinal, barrera epitelial y disbiosis como mecanismos precipitantes de los síntomas en la enteropatía por gluten.

7.3 EN EL DIAGNÓSTICO

- Especialmente:
- Seguir mejorando y ampliado la búsqueda activa de casos, preferiblemente utilizando algoritmos de detección computarizados integrados nuestro sistema de registro de **salud electrónico.**
- Crear registros prospectivos de pacientes con atrofia vellositaria seronegativa y búsqueda de biomarcadores.
- Continuar aplicando los nuevos indicadores que aporten VPP (ADE) tras la DLG en nuestros pacientes con EC en la edad adulta media y tardía.
- Aplicar un enfoque de gestión adaptado a los desafíos particulares que presentan los pacientes celíacos de edad avanzada ya que todavía hay poca sospecha clínica con enfermedades de larga evolución y gran deterioro físico y psicológico.
- Confirmar el papel de los depósitos subepiteliales de IgA y de los linfogramas intraepiteliales por citometría de flujo en series largas de pacientes.
- Determinar un posible umbral para hacer un diagnóstico sin biopsia en adultos seleccionados. En este aspecto varios autores como Fush et al (378) han propuesto la posibilidad pretest para diagnóstico sin biopsia en adultos. Nosotros hemos estudiado al respecto este supuesto y hemos obtenido un cut-off de seguridad para nuestra población y, en este momento estamos participando en un estudio interhospitalario con el objetivo de obtener un umbral para los diferentes tipos de técnicas diagnósticas. (376).

7.4 EN EL TRATAMIENTO

Se trata de profundizar y desarrollar las estrategias vigentes y:

- Profundizar en las estrategias terapéuticas en las que ya se está trabajando, que están encaminadas especialmente a
    - Cambiar el gluten inmunogénico de los cereales por otro no inmunogénico de origen transgénico,
    - Administrar enzimas por vía oral para hidrolizar el gluten inmunogénico una vez ingerido,
    - Eliminar o reducir la respuesta del sistema inmunitario frente al gluten inmunogénico mediante una vacuna terapéutica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Desarrollar nuevas estrategias terapéuticas alternativas a la DLG de acuerdo con los conocimientos actuales de la patogenia de la enfermedad.
- Coordinación entre servicios e incorporar dietistas y nutricionistas y aportar un enfoque integral en el seguimiento.
    - Estandarizar la determinación de marcadores con criterios uniformes de seguimiento, que impliquen a los pacientes y a los médicos de AP y detecten precozmente las posibles transgresiones voluntarias e involuntarias. Para ello recalcamos la importancia de:
        - Realizar diluciones seriadas en aquellos casos con valores de IgA-TG2 que superen el límite de detección de la prueba, especialmente en niños, porque es la única manera de hacer un seguimiento real y objetivo de la respuesta a la DLG.
        - Facilitar el acceso a pruebas de transgresión dietética como los GIP en orina o heces a los médicos de AP, para estudiar la adherencia a la DLG y en su defecto valorar la posibilidad de la complicación más grave de la EC (ECR) o de otros trastornos asociados a EC.
    - Desarrollar plataformas digitales y aplicaciones móviles y la telemedicina para la correcta adherencia a la dieta y la detección precoz de posibles transgresiones.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 8

CONCLUSIONES

1) Se puede evitar la biopsia en pacientes pediátricos y la prueba IgA-EMA, basado en la fuerza de la correlación entre IgA-TG2 y el estadio del daño de la mucosa.
2) En el caso de IgA-TG2 ≥ 10 LSN, las diluciones seriadas constituyen una medida de seguridad en el diagnóstico y seguimiento de la EC, y permiten conocer con exactitud la respuesta serológica a la adherencia a la DLG, la recuperación bioquímica o la existencia de transgresiones.
3) Cuando IgA-TG2 es ≥10 LSN, IgA-EMA no es necesaria; lo que implica reducción de costes, evita el uso antiecológico de esófago de mono como sustrato antigénico y aumenta el número de hospitales en los que el diagnostico sin biopsia sería posible, por no disponer de microscopio de fluorescencia o personal especializado para su análisis.
4) Existe concordancia del 100% entre el título de IgA-EMA y los valores de IgA-TG2 medidos en escalas de valores cuantitativos y cualitativos. Por ello, se postula la realización de IgA-EMA solo para pacientes con títulos más bajos IgA-TG2 o resultados de anticuerpos discordantes. Esto es aplicable tanto en edad pediátrica donde se requiere esta prueba confirmatoria, como en edad adulta y geriátrica, en los que las medias de autoanticuerpos son más bajas.
5) El ADE en personas mayores de 45 años y ancianos/as con EC es predictor de atrofia grado III.
6) El ADE podría ser considerado como un biomarcador de EC.
7) El uso de un algoritmo estandarizado para el diagnóstico de EC en edad pediátrica, adulta y geriátrica con pruebas serológicas de primera línea seguidas de biopsia, si fuera obligatoria, confirma el aumento de la incidencia de EC durante el período de 8 años estudiado.
8) La incidencia de la EC en niños/as es muy alta (>50 por100.000/personas/año) y se mantiene a lo largo del periodo de estudio. Mientras que, la incidencia en adultos/as y ancianos/as casi se ha triplicado en 8 años; probablemente por la búsqueda activa de casos, la disponibilidad de pruebas de laboratorio y la aplicación de algoritmos estandarizados.
9) Se han aplicado en la práctica clínica los nuevos VR que hemos postulado, diferenciando entre edad pediátrica y adulta para aumentar la sensibilidad diagnóstica y disminuir el porcentaje de falsos negativos.
10) Los nuevos VR se aplican en el Servicio de Análisis Clínicos del HULA para la mejora en el diagnóstico precoz de la EC y la gestión de la demanda de biomarcadores serológicos para esta enfermedad.
11) Como resultado de la implementación de la vía rápida de confirmación diagnóstica de EC, se ha constatado la reducción del tiempo de espera para la confirmación diagnóstica

mediante biopsia en adultos/as y la aplicación de guías ESPGHAN en edad pediátrica, consiguiendo una confirmación en el diagnóstico con una media de 30 días y reduciendo el tiempo de espera.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPITULO 9.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fasano A, Catassi C. Clinical practice. Celiac disease. N Engl J Med. 2012;367(25):2419-26.

2. Green PHR, 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.

3. Ludvigsson JF, Montgomery SM, Ekbom A, Brandt L, Granath F. Small-intestinal histopathology and mortality risk in celiac disease. JAMA. 2009;302(11):1171-8.

4. Volta U, Caio G, Stanghellini V, De Giorgio R. The changing clinical profile of celiac disease: a 15-year experience (1998-2012) in an Italian referral center. BMC Gastroenterology. 2014;14(1):194.

5. Volta U, Bai JC, De Giorgio R. The role of serology in the diagnosis of coeliac disease. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2023;16(2):118-28.

6. Gee Samuel. On the coeliac affection. Bartholomew's Hospital Reports. 1988;(3):24: 17-20.

7. Dicke WK, Weijers HA, Kamer JHVD. Coeliac Disease The Presence in Wheat of a Factor Having a Deleterious Effect in Cases of Coeliac Disease. Acta Paediatrica. 1953;42(1):34-42.

8. Shiner M. Duodenal biopsy. Lancet. 1956;270(6906):17-9.

9. Stokes PL, Holmes GKT, Asquith P, Mackintosh P, Cooke WT. Histocompatibility antigens associated with adult celiac disease. The Lancet. 1972;300(7769):162-4.

10. Falchuk ZM, Rogentine GN, Strober W. Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. The Journal of Clinical Investigation. 1972;51(6):1602-5.

11. 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.

12. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Medicine. 1997;3(7):797-801.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

13. Kaukinen K, Collin P, Laurila K, Kaartinen T, Partanen J, Mäki M. Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. Scand J Gastroenterol. 2007;42(12):1428-33.

14. García Nieto. V. Cámaras celíacas y patocativismo o la historia de la enfermedad celíaca en España. Rodrigo L y Peña AS editores; 2013. 45-59 p.

15. Cavengt S. Infantilismo Digestivo. La Pediatría Española. 1926;15:93-109.

16. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PHR, Hadjivassiliou M, et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. BMC Med. 2012;10:13.

17. Leonard MM, Sapone A, Catassi C, Fasano A. Celiac Disease and Nonceliac Gluten Sensitivity: A Review. JAMA. 2017;318(7):647-56.

18. Castillo-Rodal AI, Furuzawa-Carballeda J, Peláez-Luna M, Castro-Gómez J, López-Vidal Y, Uscanga L. More fuel to the fire: some patients with non-celiac self-reported wheat sensitivity exhibit adaptive immunological responses in duodenal mucosa. BMC Gastroenterol. 2020;20(1):414.

19. Expósito Miranda M, García-Valdés L, Espigares-Rodríguez E, Leno-Durán E, Requena P. Non-celiac gluten sensitivity: Clinical presentation, etiology and differential diagnosis. Gastroenterol Hepatol. 2023;46(7):562-71.

20. Mansueto P, Seidita A, D'Alcamo A, Carroccio A. Non-celiac gluten sensitivity: literature review. J Am Coll Nutr. 2014;33(1):39-54.

21. Dubé C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garritty C, et al. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systematic review. Gastroenterology. 2005;128(4 Suppl 1):S57-67.

22. 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):823-836.e2.

23. Cilleruelo ML, Roman-Riechmann E, Sanchez-Valverde F, Donat E, Manuel-Ramos J, Martín-Orte E, et al. Spanish National Registry of Celiac Disease: Incidence and Clinical Presentation. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2014;59(4):522-6.

24. Riestra S, Fernández E, Rodrigo L, Garcia S, Ocio G. Prevalence of Coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening. Scand J Gastroenterol. 2000;35(4):398-402.

25. 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. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2004;1(39):80-4.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

26. García Novo MD, Garfia C, Acuña Quirós MD, Asensio J, Zancada G, Barrio Gutiérrez S, et al. Prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors in the autonomous community of Madrid. Rev Esp Enferm Dig. 2007;99(6):337-42.

27. Ivarsson A, Persson LA, Nyström L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. Acta Paediatr. 2000;89(2):165-71.

28. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. Arch Intern Med. 2003;163(3):286-92.

29. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. Am J Med. 2010;123(8):691-3.

30. Mardini HE, Westgate P, Grigorian AY. Racial Differences in the Prevalence of Celiac Disease in the US Population: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2009-2012. Dig Dis Sci. 2015;60(6):1738-42.

31. Choung RS, Larson SA, Khaleghi S, Rubio-Tapia A, Ovsyannikova IG, King KS, et al. Prevalence and Morbidity of Undiagnosed Celiac Disease From a Community-Based Study. Gastroenterology. 2017;152(4):830-839.e5.

32. Queiroz MS, Nery M, Cançado EL, Gianella-Neto D, Liberman B. Prevalence of celiac disease in Brazilian children of short stature. Braz J Med Biol Res. enero de 2004;37(1):55-60.

33. Singh AD, Singh P, Farooqui N, Strand T, Ahuja V, Makharia GK. Prevalence of celiac disease in patients with short stature: A systematic review and meta-analysis. J Gastroenterol Hepatol. 2021;36(1):44-54.

34. Teresi S, Crapisi M, Vallejo MDC, Castellaneta SP, Francavilla R, Iacono G, et al. Celiac Disease Seropositivity in Saharawi Children: A Follow-up and Family Study. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2010;50(5):506-9.

35. Lionetti E, Gatti S, Pulvirenti A, Catassi C. Celiac disease from a global perspective. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2015;29(3):365-79.

36. Coton T, Grassin F, Maslin J, Gidenne S, Sarret D, Petitjeans F, et al. [Celiac disease: special features in Africa. Description of 8 cases in Djibouti (horn of Africa)]. Med Trop (Mars). 2008;68(2):144-8.

37. Kang JY, Kang AHY, Green A, Gwee KA, Ho KY. Systematic review: worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. Aliment Pharmacol Ther. 2013;38(3):226-45.

38. King JA, Jeong J, Underwood FE, Quan J, Panaccione N, Windsor JW, et al. Incidence of Celiac Disease Is Increasing Over Time: A Systematic Review and Meta-analysis. Am J Gastroenterol. 2020;115(4):507-25.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

39. Grode L, Bech BH, Jensen TM, Humaidan P, Agerholm IE, Plana-Ripoll O, et al. Prevalence, incidence, and autoimmune comorbidities of celiac disease: a nation-wide, population-based study in Denmark from 1977 to 2016. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2018;30(1):83-91.

40. 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.

41. Fowell AJ, Thomas PW, Surgenor SL, Snook JA. The epidemiology of coeliac disease in East Dorset 1993-2002: an assessment of the «coeliac iceberg», and preliminary evidence of case clustering. QJM. 2006;99(7):453-60.

42. Zingone F, West J, Auricchio R, Maria Bevilacqua R, Bile G, Borgheresi P, et al. Incidence and distribution of coeliac disease in Campania (Italy): 2011-2013. United European Gastroenterol J. 2015;3(2):182-9.

43. Lanzini A, Villanacci V, Apillan N, Lanzarotto F, Pirali F, Amato M, et al. Epidemiological, clinical and histopathologic characteristics of celiac disease: results of a case-finding population-based program in an Italian community. Scand J Gastroenterol. 2005;40(8):950-7.

44. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. Am J Gastroenterol. 2008;103(9):2360-5; quiz 2366.

45. Gutschmidt S, Sandforth F, Janicke I, Lüders CJ, Niedobitek F, Stein H, et al. Incidence of endemic sprue in Berlin (West). A retrospective study based on biopsy findings. Z Gastroenterol. 1987;25(10):662-7.

46. Burger JPW, Roovers EA, Drenth JPH, Meijer JWR, Wahab PJ. Rising incidence of celiac disease in the Netherlands; an analysis of temporal trends from 1995 to 2010. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 2014;49(8):933-41.

47. Ussher R, Yeong ML, Stace N. Coeliac disease: incidence and prevalence in Wellington 1985-92. N Z Med J. 1994;107(978):195-7.

48. Cook B, Oxner R, Chapman B, Whitehead M, Burt M. A thirty-year (1970-1999) study of coeliac disease in the Canterbury region of New Zealand. N Z Med J. 2004;117(1189):U772.

49. Murray JA, Dyke CV, Plevak MF, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton LJ. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950–2001. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2003;1(1):19-27.

50. Ludvigsson JF, Rubio-Tapia A, van Dyke CT, Melton LJ, Zinsmeister AR, Lahr BD, et al. Increasing incidence of celiac disease in a North American population. Am J Gastroenterol. 2013;108(5):818-24.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

51. Kivelä L, Caminero A, Leffler DA, Pinto-Sanchez MI, Tye-Din JA, Lindfors K. Current and emerging therapies for coeliac disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2021;18(3):181-95.

52. Beitnes ACR, Vikskjold FB, Jóhannesdóttir GB, Perminow G, Olbjørn C, Andersen SN, et al. Symptoms and Mucosal Changes Stable During Rapid Increase of Pediatric Celiac Disease in Norway. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017;64(4):586-91.

53. Tapsas D, Hollén E, Stenhammar L, Fälth-Magnusson K. Unusually High Incidence of Paediatric Coeliac Disease in Sweden during the Period 1973 - 2013. PLoS One. 2015;10(12):e0144346.

54. Whyte LA, Jenkins HR. The epidemiology of coeliac disease in South Wales: a 28-year perspective. Arch Dis Child. 2013;98(6):405-7.

55. Lister M, Wood P, Henderson P, Gillett P. The rising incidence of childhood coeliac disease: A 7-year regional cohort study. Coeliac UK's Research Conference; 2018.

56. López-Rodríguez MJ, Canal Macías ML, Lavado García JM, Sánchez Belda M, Robledo Andrés P, Pedrera Zamorano JD. Epidemiological changes in diagnosed coeliac disease in a population of Spanish children. Acta Paediatr. 2003;92(2):165-9.

57. Van Kalleveen MW, de Meij T, Plötz FB. Clinical spectrum of paediatric coeliac disease: a 10-year single-centre experience. Eur J Pediatr. 2018;177(4):593-602.

58. Stewart MJ, Shaffer E, Urbanski SJ, Beck PL, Storr MA. The association between celiac disease and eosinophilic esophagitis in children and adults. BMC Gastroenterol. 2013;13:96.

59. McGowan KE, Castiglione DA, Butzner JD. The changing face of childhood celiac disease in North America: impact of serological testing. Pediatrics. 2009;124(6):1572-8.

60. Rajani S, Huynh HQ, Turner J. The changing frequency of celiac disease diagnosed at the Stollery Children's Hospital. Can J Gastroenterol. 2010;24(2):109-12.

61. Almallouhi E, King KS, Patel B, Wi C, Juhn YJ, Murray JA, et al. Increasing Incidence and Altered Presentation in a Population-based Study of Pediatric Celiac Disease in North America. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017;65(4):432-7.

62. Virta LJ, Kaukinen K, Collin P. Incidence and prevalence of diagnosed coeliac disease in Finland: results of effective case finding in adults. Scand J Gastroenterol. 2009;44(8):933-8.

63. Virta LJ, Saarinen MM, Kolho KL. Declining trend in the incidence of biopsy-verified coeliac disease in the adult population of Finland, 2005-2014. Aliment Pharmacol Ther. 2017;46(11-12):1085-93.

64. Sher KS, Fraser RC, Wicks AC, Mayberry JF. High risk of coeliac disease in Punjabis. Epidemiological study in the south Asian and European populations of Leicestershire. Digestion. 1993;54(3):178-82.

65. Hurley JJ, Lee B, Turner JK, Beale A, Jenkins HR, Swift GL. Incidence and presentation of reported coeliac disease in Cardiff and the Vale of Glamorgan: the next 10 years. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2012;24(5):482-6.

66. West J, Fleming KM, Tata LJ, Card TR, Crooks CJ. Incidence and prevalence of celiac disease and dermatitis herpetiformis in the UK over two decades: population-based study. Am J Gastroenterol. 2014;109(5):757-68.

67. Tosic Z, Salkic N, Krizic N, Djedovic S, Fijuljanin M, Barakovic D. Celiac disease in adult population in Tuzla region of Bosnia and Herzegovina: a 3-year surveillance (2007-2009). Med Arch. 2013;67(5):333-5.

68. Fernández A, González L, Fuente JDL. Coeliac disease: clinical features in adult populations. Rev esp enferm dig. 2010;102(8):466-71.

69. Stewart M, Andrews CN, Urbanski S, Beck PL, Storr M. The association of coeliac disease and microscopic colitis: a large population-based study. Aliment Pharmacol Ther. junio de 2011;33(12):1340-9.

70. Silano M, Volta U, Mecchia AM, Dessì M, Di Benedetto R, De Vincenzi M, et al. Delayed diagnosis of coeliac disease increases cancer risk. BMC Gastroenterol. 2007;7:8.

71. Biesiekierski JR. What is gluten? J Gastroenterol Hepatol. 2017;32:78-81.

72. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107(26):11971-5.

73. 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.

74. Szajewska H, Shamir R, Mearin L, Ribes-Koninckx C, Catassi C, Domellöf M, et al. Gluten Introduction and the Risk of Coeliac Disease: A Position Paper by the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2016;62(3):507-13.

75. Troncone R, Auricchio S. Rotavirus and celiac disease: clues to the pathogenesis and perspectives on prevention. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007;44(5):527-8.

76. Myléus A, Hernell O, Gothefors L, Hammarström ML, Persson LÅ, Stenlund H, et al. Early infections are associated with increased risk for celiac disease: an incident case-referent study. BMC Pediatr. 2012;12:194.

77. 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.

78. Canova C, Zabeo V, Pitter G, Romor P, Baldovin T, Zanotti R, et al. Association of maternal education, early infections, and antibiotic use with celiac disease: a population-based birth cohort study in northeastern Italy. Am J Epidemiol. 2014;180(1):76-85.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

79. Lundin KEA, Wijmenga C. Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015;12(9):507-15.

80. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. Nat Rev Immunol. 2002;2(9):647-55.

81. Arranz E, Garrote JA. HLA en la enfermedad celíaca. An Pediatr Contin. 2004;2(3):163-6.

82. Ocaña Pérez, E. Moléculas de histocompatibilidad y enfermedades asociadas. 2016.

83. Liu E, Lee HS, Aronsson CA, Hagopian WA, Koletzko S, Rewers MJ, et al. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. N Engl J Med. 2014;371(1):42-9.

84. Polanco Allué I, Ribes Koninckx C. La enfermedad celiaca: Presente y Futuro. 2.ª ed. Ergón Creación, S.A.; 2017.

85. Núñez C, Garrote JA, Arranz E, Bilbao JR, Fernández Bañares F, Jiménez J, et al. Recommendations to report and interpret HLA genetic findings in coeliac disease. Rev Esp Enferm Dig. 2018;110(7):458-61.

86. Cabo-del Riego JM, García-Plata Rodríguez P C, Álvarez Fernández T, Penedo Pita M, Máiz Suarez D. Estudio de incidencia de haplotipos HLA DQ2/DQ8 en el área sanitaria de Lugo. IV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca. Valencia. 2014;

87. Nuñez Pardo Vera C, Arau B, Martinez Ojinaga-Nodal E, Cabo del Riego JM, Farrais Villalba S, Et al. XVIII Premio de Investigación Sobre Patologías por Sensibilidad al Gluten/Trigo. Proyecto: "Caracterización de la enfermedad celíaca no HLA-DQ 2.5." La Asociación de Celíacos y Sensibles al Gluten; 2021.

88. Ferreiro-Mazón, P. Tipificación del HLA en niños celíacos del área de Lugo y porcentaje de familiares celiacos. Bachelor's Thesis. Medicine Degree. School of Medicine and Dentistry.University of Santiago de Compostela. 2017.

89. Catassi C, Verdu EF, Bai JC, Lionetti E. Coeliac disease. Lancet. 2022;399(10344):2413-26.

90. Cañete F. Enfermedad celíaca de presentación tardía en pacientes adultos. Rev UN Med. 2020;9(1):1-20.

91. León AJ, Garrote JA, Blanco-Quirós A, Calvo C, Fernández-Salazar L, Del Villar A, et al. Interleukin 18 maintains a long-standing inflammation in coeliac disease patients. Clin Exp Immunol. 2006;146(3):479-85.

92. Caio G, Lungaro L, Segata N, Guarino M, Zoli G, Volta U, et al. Effect of Gluten-Free Diet on Gut Microbiota Composition in Patients with Celiac Disease and Non-Celiac Gluten/Wheat Sensitivity. Nutrients. 2020;12(6):1832.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

93. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. J Clin Pathol. 2009;62(3):264-9.

94. Weber TK, Polanco I. Gastrointestinal microbiota and some children diseases: a review. Gastroenterol Res Pract. 2012;1-12.

95. Koletzko S, Lee HS, Beyerlein A, Aronsson CA, Hummel M, Liu E, et al. Cesarean Section on the Risk of Celiac Disease in the Offspring: The Teddy Study. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2018;66(3):417-24.

96. Recalde Cuestas, Travella, E. A, Mártinez Vargas, A. Enfermedad celíaca. La medicina de los Niños. 1935;36:326-41.

97. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PHR, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. Gut. 2013;62(1):43-52.

98. West J, Logan RFA, Hill PG, Khaw K. The Iceberg of Celiac Disease: What Is Below the Waterline? Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2007;5(1):59-62.

99. Durazzo M, Ferro A, Brascugli I, Mattivi S, Fagoonee S, Pellicano R. Extra-Intestinal Manifestations of Celiac Disease: What Should We Know in 2022? JCM. 2022;11(1):258.

100. Rodrigo Sáez,L, Pérez Martínez,I. Adult celiac disease - a common, significant health problem worldwide. ISSN 1130-0108. 2010;112(8):461-5.

101. Cappello M, Morreale GC, Licata A. Elderly Onset Celiac Disease: A Narrative Review. Clin Med Insights Gastroenterol. 2016;9:41-9.

102. Ching CK, Lebwohl B. Celiac Disease in the Elderly. Curr Treat Options Gastroenterol. 2022;20(3):238-49.

103. Patel D, Kalkat P, Baisch D, Zipser R. Celiac disease in the elderly. Gerontology. 2005;51(3):213-4.

104. Cabo Del Riego JM, Nuñez Iglesias MJ, Álvarez Fernández T, Penedo Pita M, Paz Carreira J, Maiz Suarez D. Presentación tardía de la enfermedad celíaca: particularidades clínicas y bioquímicas. VII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca. Huesca. 2021.

105. Cabo Del Riego JM, Zaera S, Núñez Iglesias MJ, Álvarez Fernández T, Villar Mallo N, Mateo Guerra A, et al. Autoimmune diseases , including allergy: Anemia of the elderly: Let´s always think about celiac disease. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2021;59(s1):s201-12.

106. Reunala T, Salmi TT, Hervonen K, Kaukinen K, Collin P. Dermatitis Herpetiformis: A Common Extraintestinal Manifestation of Coeliac Disease. Nutrients. 2018;10(5):602.

107. Therrien A, Kelly CP, Silvester JA. Celiac Disease: Extraintestinal Manifestations and Associated Conditions. J Clin Gastroenterol. 2020;54(1):8-21.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

108. Rodrigo L, Beteta-Gorriti V, Alvarez N, Gómez de Castro C, de Dios A, Palacios L, et al. Cutaneous and Mucosal Manifestations Associated with Celiac Disease. Nutrients. 2018;10(7):800.

109. Abenavoli L, Dastoli S, Bennardo L, Boccuto L, Passante M, Silvestri M, et al. The Skin in Celiac Disease Patients: The Other Side of the Coin. Medicina (Kaunas). 2019;55(9):578.

110. Pinto-Sánchez MI, Bercik P, Verdu EF, Bai JC. Extraintestinal manifestations of celiac disease. Dig Dis. 2015;33(2):147-54.

111. Kelly CP, Bai JC, Liu E, Leffler DA. Advances in diagnosis and management of celiac disease. Gastroenterology. 2015;148(6):1175-86.

112. Bhatia BK, Millsop JW, Debbaneh M, Koo J, Linos E, Liao W. Diet and psoriasis, part II: celiac disease and role of a gluten-free diet. J Am Acad Dermatol. 2014;71(2):350-8.

113. Bramanti E, Cicciù M, Matacena G, Costa S, Magazzù G. Clinical Evaluation of Specific Oral Manifestations in Pediatric Patients with Ascertained versus Potential Coeliac Disease: A Cross-Sectional Study. Gastroenterol Res Pract. 2014;2014:1-9.

114. Macho VMP, Coelho AS, Veloso E Silva DM, de Andrade DJC. Oral Manifestations in Pediatric Patients with Coeliac Disease - A Review Article. Open Dent J. 2017;11:539-45.

115. Nieri M, Tofani E, Defraia E, Giuntini V, Franchi L. Enamel defects and aphthous stomatitis in celiac and healthy subjects: Systematic review and meta-analysis of controlled studies. Journal of Dentistry. 2017;65:1-10.

116. Hallaji, Z., Akhyani, M, Ehsani, AH, oormohammadpour, P. Ehsani, A.H.; Noormohammadpour, P.; Gholamali, F.; Bagheri, M.; Jahromi, J. Prevalence of anti-gliadin antibody in patients with alopecia areata: A case-control study. Univ Med J. 2011;738-42.

117. Talarico V, Giancotti L, Mazza GA, Miniero R, Bertini M. Iron Deficiency Anemia in Celiac Disease. Nutrients. 2021;13(5):1695.

118. Martín-Masot R, Nestares MT, Diaz-Castro J, López-Aliaga I, Alférez MJM, Moreno-Fernandez J, et al. Multifactorial Etiology of Anemia in Celiac Disease and Effect of Gluten-Free Diet: A Comprehensive Review. Nutrients. 2019;11(11):2557.

119. Abu Daya H, Lebwohl B, Lewis SK, Green PH. Celiac disease patients presenting with anemia have more severe disease than those presenting with diarrhea. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013;11(11):1472-7.

120. Mahadev S, Laszkowska M, Sundström J, Björkholm M, Lebwohl B, Green PHR, et al. Prevalence of Celiac Disease in Patients With Iron Deficiency Anemia-A Systematic Review With Meta-analysis. Gastroenterology. 2018;155(2):374-382.e1.

121. 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.

122. Smukalla S, Lebwohl B, Mears JG, Leslie LA, Green PH. How often do hematologists consider celiac disease in iron-deficiency anemia? Results of a national survey. Clin Adv Hematol Oncol. 2014;12(2):100-5.

123. Green PHR. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. Gastroenterology. 2005;128(4 Suppl 1):S74-78.

124. Grupo de trabajo del Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca.Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS). 2018.

125. Cooke WT, Smith WT. Neurological disorders associated with adult coeliac disease. Brain. 1966;89(4):683-722.

126. Mearns ES, Taylor A, Thomas Craig KJ, Puglielli S, Leffler DA, Sanders DS, et al. Neurological Manifestations of Neuropathy and Ataxia in Celiac Disease: A Systematic Review. Nutrients. 2019;11(2):380.

127. Pennisi M, Bramanti A, Cantone M, Pennisi G, Bella R, Lanza G. Neurophysiology of the "Celiac Brain": Disentangling Gut-Brain Connections. Front Neurosci. 2017;11:498.

128. Laurikka P, Nurminen S, Kivelä L, Kurppa K. Extraintestinal Manifestations of Celiac Disease: Early Detection for Better Long-Term Outcomes. Nutrients. 2018;10(8):1015.

129. Hadjivassiliou M, Croall ID, Zis P, Sarrigiannis PG, Sanders DS, Aeschlimann P, et al. Neurologic Deficits in Patients With Newly Diagnosed Celiac Disease Are Frequent and Linked With Autoimmunity to Transglutaminase 6. Clin Gastroenterol Hepatol. 2019;17(13):2678-2686.e2.

130. Rouvroye MD, Zis P, Van Dam AM, Rozemuller AJM, Bouma G, Hadjivassiliou M. The Neuropathology of Gluten-Related Neurological Disorders: A Systematic Review. Nutrients. 2020;12(3):822.

131. Casella G, Bordo BM, Schalling R, Villanacci V, Salemme M, Di Bella C, et al. Neurological disorders and celiac disease. Minerva Gastroenterol Dietol. 2016;62(2):197-206.

132. Shen TCD, Lebwohl B, Verma H, Kumta N, Tennyson C, Lewis S, et al. Peripheral neuropathic symptoms in celiac disease and inflammatory bowel disease. J Clin Neuromuscul Dis. 2012;13(3):137-45.

133. Cicarelli G, Della Rocca G, Amboni M, Ciacci C, Mazzacca G, Filla A, et al. Clinical and neurological abnormalities in adult celiac disease. Neurol Sci. 2003;24(5):311-7.

134. Hernández-Lahoz C, Rodrigo L. [Gluten-related disorders and demyelinating diseases]. Med Clin (Barc). 2013;140(7):314-9.

135. Clappison E, Hadjivassiliou M, Zis P. Psychiatric Manifestations of Coeliac Disease, a Systematic Review and Meta-Analysis. Nutrients. 2020;12(1):142.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

136. Zelnik N, Pacht A, Obeid R, Lerner A. Range of neurologic disorders in patients with celiac disease. Pediatrics. 2004;113(6):1672-6.

137. Accomando S, Fragapane ML, Montaperto D, Trizzino A, Amato GM, Calderone F, et al. Coeliac disease and depression: two related entities? Dig Liver Dis. 2005;37(4):298-9.

138. Campagna G, Pesce M, Tatangelo R, Rizzuto A, La Fratta I, Grilli A. The progression of coeliac disease: its neurological and psychiatric implications. Nutr Res Rev. 2017;30(1):25-35.

139. van Hees NJM, Van der Does W, Giltay EJ. Coeliac disease, diet adherence and depressive symptoms. J Psychosom Res. 2013;74(2):155-60.

140. Niederhofer H, Pittschieler K. A preliminary investigation of ADHD symptoms in persons with celiac disease. J Atten Disord. 2006;10(2):200-4.

141. Haggård L, Glimberg I, Lebwohl B, Sharma R, Verna EC, Green PHR, et al. High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis: Systematic review and meta-analysis. Liver Int. 2021;41(11):2693-702.

142. Sainsbury A, Sanders DS, Ford AC. Meta-analysis: Coeliac disease and hypertransaminasaemia. Aliment Pharmacol Ther. 2011;34(1):33-40.

143. Nardecchia S, Auricchio R, Discepolo V, Troncone R. Extra-Intestinal Manifestations of Coeliac Disease in Children: Clinical Features and Mechanisms. Front Pediatr. 2019;7:56.

144. Tersigni C, Castellani R, de Waure C, Fattorossi A, De Spirito M, Gasbarrini A, et al. Celiac disease and reproductive disorders: meta-analysis of epidemiologic associations and potential pathogenic mechanisms. Hum Reprod Update. 2014;20(4):582-93.

145. Moleski SM, Lindenmeyer CC, Veloski JJ, Miller RS, Miller CL, Kastenberg D, et al. Increased rates of pregnancy complications in women with celiac disease. Ann Gastroenterol. 2015;28(2):236-40.

146. Kumar A, Meena M, Begum N, Kumar N, Gupta RK, Aggarwal S, et al. Latent celiac disease in reproductive performance of women. Fertility and Sterility. 2011;95(3):922-7.

147. Collin P, Kaukinen K, Välimäki M, Salmi J. Endocrinological disorders and celiac disease. Endocr Rev. 2002;23(4):464-83.

148. Perez-Castrillon JL, Andres-Calvo M, Izquierdo-Delgado E, Mendo M, Luis DD, Duenas-Laita A. Celiac Disease and Osteoporosis: A Review. TOBONEJ. 2009;1(1):23-7.

149. Barquilla García A, Mediavilla Bravo JJ, Comas Samper JM, Seguí Díaz M, Carramiñana Barrera F, Zaballos Sánchez FJ. Recomendaciones de la Sociedad Americana de Diabetes para el manejo de la diabetes mellitus. SEMERGEN - Medicina de Familia. 2010;36(7):386-91.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

150. Ventura A, Ronsoni MF, Shiozawa MBC, Dantas-Corrêa EB, Canalli MHB da S, Schiavon L de L, et al. Prevalence and clinical features of celiac disease in patients with autoimmune thyroiditis: cross-sectional study. Sao Paulo Med J. 2014;132(6):364-71.

151. Lakhotia M, Pahadia HR, Kumar H, Singh J, Tak S. A Case of Autoimmune Polyglandular Syndrome (APS) Type II with Hypothyroidism, Hypoadrenalism, and Celiac Disease - A Rare Combination. J Clin Diagn Res. 2015;9(4):667-70.

152. Van den Driessche A, Eenkhoorn V, Van Gaal L, De Block C. Type 1 diabetes and autoimmune polyglandular syndrome: a clinical review. Neth J Med. 2009;67(11):376-87.

153. Saari A, Harju S, Mäkitie O, Saha MT, Dunkel L, Sankilampi U. Systematic growth monitoring for the early detection of celiac disease in children. JAMA Pediatr. 2015;169(3):e1525.

154. Meazza C, Pagani S, Laarej K, Cantoni F, Civallero P, Boncimino A, et al. Short stature in children with coeliac disease. Pediatr Endocrinol Rev. 2009;6(4):457-63.

155. Tortora R, Capone P, De Stefano G, Imperatore N, Gerbino N, Donetto S, et al. Metabolic syndrome in patients with coeliac disease on a gluten-free diet. Aliment Pharmacol Ther. 2015;41(4):352-9.

156. Kabbani TA, Goldberg A, Kelly CP, Pallav K, Tariq S, Peer A, et al. Body mass index and the risk of obesity in coeliac disease treated with the gluten-free diet. Aliment Pharmacol Ther. 2012;35(6):723-9.

157. Parada A, Aguirre C, Pérez-Bravo F. [Overweight and obesity in celiac disease: expression of the interleukin profile Th17]. Nutr Hosp. 2018;35(4):957-61.

158. Cabo Del Riego JM, Álvarez Fernández T, Garrido Sánchez JJ, Garcia-Plata C, Penedo Pita M, Maiz Suarez D. Enfermedad celíaca asociada a obesidad mórbida. V Congreso de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca. Barcelona. Gastroenterologia Y Hepatologia. 2016;39(Especial Congreso):50.

159. Garrido Sánchez JJ, Alvárez Fernandez, Tamara, Cabo Del Riego JM, Penedo Pita M, Maiz Suarez D, Gonzalez Vilanova M, et al. Osteopenia severa y anemia en mujer anciana. XII Congreso Nacional del Laboratorio Clínico. XII Congreso Nacional del Laboratorio Clínico; 2018.

160. Popp A, Mäki M. Gluten-Induced Extra-Intestinal Manifestations in Potential Celiac Disease-Celiac Trait. Nutrients. 1 de febrero de 2019;11(2):320.

161. Cabo-del Riego, JM, Paz Carreira J, Penedo Pita M, Maiz Suarez D. Enfermedad celíaca silente. A propósito de un caso detectado en nuestro laboratorio. Casos Clínicos. Asociacion Española de Biopatología Médica.; 2012. 1-5 p.

162. Cabo Del Riego JM, Nuñez Iglesias MJ, Garcia-Plata C, Álvarez Fernández T, Penedo Pita M, Maiz Suarez D. Enfermedad celíaca de presentación familiar. A propósito de un caso.VII Congreso Nacional De Enfermedad Celiaca. Barcelona. VII Congreso Nacional De Enfermedad Celiaca; 2021.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

163. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, Card TR, Ciacci C, Ciclitira PJ, et al. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. Gut. 2014;63(8):1210-28.

164. 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.

165. Korponay-Szabó IR, Dahlbom I, Laurila K, Koskinen S, Woolley N, Partanen J, et al. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. Gut. 2003;52(11):1567-71.

166. 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.

167. Agardh D. Antibodies Against Synthetic Deamidated Gliadin Peptides and Tissue Transglutaminase for the Identification of Childhood Celiac Disease. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2007;5(11):1276-81.

168. Richter T, Bossuyt X, Vermeersch P, Uhlig HH, Stern M, Hauer A, et al. Determination of IgG and IgA antibodies against native gliadin is not helpful for the diagnosis of coeliac disease in children up to 2 years old. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012;55(1):21-5.

169. Parizade M, Shainberg B. Positive deamidated gliadin peptide antibodies and negative tissue transglutaminase IgA antibodies in a pediatric population: to biopsy or not to biopsy. Clin Vaccine Immunol. 2010;17(5):884-6.

170. 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. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2020;70(1):141-56.

171. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. European Journal of Gastroenterology & Hepatology. 1999;11(10):1185.

172. Cabo-del Riego, JM, Penedo Pita M, Maiz Suarez D. Plan de Mejora. 2020: Cambio en el petitorio de perfil de enfermedad celiaca para seguir las recomendaciones de las guías ESPGHAN. 2020.

173. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. Am J Gastroenterol. 2013;108(5):656-77.

174. Broide E, Matalon S, Kriger-Sharabi O, Richter V, Shirin H, Leshno M. Cost effectiveness of routine duodenal biopsies in iron deficiency anemia. WJG. 2016;22(34):7813.

175. Ruiz-Ramírez P, Carreras G, Fajardo I, Tristán E, Carrasco A, Salvador I, et al. Intraepithelial Lymphocyte Cytometric Pattern Is a Useful Diagnostic Tool for Coeliac

USC
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Disease Diagnosis Irrespective of Degree of Mucosal Damage and Age-A Validation Cohort. Nutrients. 2021;13(5):1684.

176. Fernández-Bañares F, Arau B, Dieli-Crimi R, Rosinach M, Nuñez C, Esteve M. Systematic Review and Meta-analysis Show 3% of Patients With Celiac Disease in Spain to be Negative for HLA-DQ2.5 and HLA-DQ8. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2017;15(4):594-6.

177. Melero Ruiz J, García Cerrada M, Vargas Pérez ML, Fernández De Mera JJ, Muñoz Sanjuán MI, González Roíz C, et al. Utilidad del recuento e inmunofenotipaje de los linfocitos intraepiteliales de la mucosa intestinal en el diagnóstico de la enfermedad celiaca. Revista del Laboratorio Clínico. 2011;4(1):15-22.

178. Roy G, Fernández-Bañares F, Corzo M, Gómez-Aguililla S, García-Hoz C, Núñez C. Intestinal and blood lymphograms as new diagnostic tests for celiac disease. Front Immunol. 2022;13:1-11.

179. Koskinen O, Collin P, Lindfors K, Laurila K, Mäki M, Kaukinen K. Usefulness of small-bowel mucosal transglutaminase-2 specific autoantibody deposits in the diagnosis and follow-up of celiac disease. J Clin Gastroenterol. 2010;44(7):483-8.

180. Ontiveros N, Tye-Din JA, Hardy MY, Anderson RP. Ex-vivo whole blood secretion of interferon (IFN)-γ and IFN-γ-inducible protein-10 measured by enzyme-linked immunosorbent assay are as sensitive as IFN-γ enzyme-linked immunospot for the detection of gluten-reactive T cells in human leucocyte antigen (HLA)-DQ2·5(+) -associated coeliac disease. Clin Exp Immunol. 2014;175(2):305-15.

181. Brottveit M, Ráki M, Bergseng E, Fallang LE, Simonsen B, Løvik A, et al. Assessing possible celiac disease by an HLA-DQ2-gliadin Tetramer Test. Am J Gastroenterol. 2011;106(7):1318-24.

182. Branchi F, Locatelli M, Tomba C, Conte D, Ferretti F, Elli L. Enteroscopy and radiology for the management of celiac disease complications: Time for a pragmatic roadmap. Dig Liver Dis. 2016;48(6):578-86.

183. Pennazio M, Spada C, Eliakim R, Keuchel M, May A, Mulder CJ, et al. Small-bowel capsule endoscopy and device-assisted enteroscopy for diagnosis and treatment of small-bowel disorders: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline. Endoscopy. 2015;47(4):352-76.

184. 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. 2020;92(2):110.e1-110.e9.

185. 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. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2012;54(1):136-60.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

186. Cabo-del Riego, JM, Garcia-Plata C, Álvarez Fernández T, rodríguez de la Riva P, Penedo Pita M. Aplicación de las guías ESPGHAN para el diagnóstico sin biopsia de enfermedad celiaca. Experiencia en el Hospital Lucus Augusti de Lugo. IV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca. Valencia. 2014.

187. Cabo-del Riego, JM, Garcia-Plata C, Paz, Carreira J, Nuñez Iglesias MJ, Freire-Garabal Núñez M, Garrido Sánchez JJ, et al. Evaluación de la aplicación de las guías ESPGHAN en el diagnóstico de la enfermedad celiaca durante el periodo 2012-2017 en Lugo.VI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca - SEEC.Valencia. 2018.

188. 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.

189. Egner W, Shrimpton A, Sargur R, Patel D, Swallow K. ESPGHAN guidance on coeliac disease 2012: multiples of ULN for decision making do not harmonise assay performance across centres. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012;55(6):733-5.

190. Johnston RD, Chan YJ, Mubashar T, Bailey JR, Paul SP. No-biopsy pathway following the interim BSG guidance reliably diagnoses adult coeliac disease. Frontline Gastroenterol. 2022;13(1):73-6.

191. Downey L, Houten R, Murch S, Longson D, Guideline Development Group. Recognition, assessment, and management of coeliac disease: summary of updated NICE guidance. BMJ. 2015;351:h4513.

192. Freeman HJ. Adult celiac disease in the elderly. WJG. 2008;14(45):6911-4.

193. Cabo del Riego JM, Penedo Pita M, Maiz Suarez D. Plan de Mejora. 2020. Implantación de una nueva prueba diagnóstica en el Phadia 250 de ThermoFisher® para la determinación de Anccuerpos anti- transglutaminasa IgG. 2020.

194. Ludvigsson JF, Card TR, Kaukinen K, Bai J, Zingone F, Sanders DS, et al. Screening for celiac disease in the general population and in high-risk groups. United European Gastroenterol J. 2015;3(2):106-20.

195. Bai JC, Fried M, Corazza GR, Schuppan D, Farthing M, Catassi C, et al. World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease. J Clin Gastroenterol. 2013;47(2):121-6.

196. Comino I, Real A, Vivas S, Síglez MÁ, Caminero A, Nistal E, et al. Monitoring of gluten-free diet compliance in celiac patients by assessment of gliadin 33-mer equivalent epitopes in feces. Am J Clin Nutr. 2012;95(3):670-7.

197. Oxentenko AS, Rubio-Tapia A. Celiac Disease. Mayo Clin Proc. 2019;94(12):2556-71.

198. Dickey W, Kearney N. Overweight in celiac disease: prevalence, clinical characteristics, and effect of a gluten-free diet. Am J Gastroenterol. 2006;101(10):2356-9.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

199. Shepherd SJ, Gibson PR. Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. J Hum Nutr Diet. 2013;26(4):349-58.

200. Chou R, Bougatsos C, Blazina I, Mackey K, Grusing S, Selph S. Screening for Celiac Disease: Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. JAMA. 2017;317(12):1258.

201. Codex Alimentarius, International Food Standars. Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten CODEX STAN 118-1979. Available online: http://www.codexalimentarius.net (accessed on 2 January 2017). [Internet]. Disponible en: http://www.codexalimentarius.net

202. FACE F de A de C de E. Informe de precios de productos específicos para personas celiacas 2023 [Internet]. Ministerio de Derechos Sociales y agenda 2030; 2023 p. 14. Disponible en: www.celiacos.org

203. Tovoli F, Faggiano C, Raiteri A, Giamperoli A, Catenaro T, Sansone V, et al. Risk of Drop-Out from Follow-Up Evaluations for Celiac Disease: Is It Similar for All Patients? Nutrients. 2022;14(6):1223.

204. Rubio-Tapia A, Ludvigsson JF, Brantner TL, Murray JA, Everhart JE. The Prevalence of Celiac Disease in the United States. American Journal of Gastroenterology. 2012;107(10):1538-44.

205. Gidrewicz D, Trevenen CL, Lyon M, Butzner JD. Normalization Time of Celiac Serology in Children on a Gluten-free Diet. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017;64(3):362-7.

206. Cabo del Riego JM, Villar Mallo N, Núñez Iglesias MJ, Paz Carreira J, Garrido Sánchez JJ, Álvarez Fernández T, et al. Respuesta serológica a la dieta sin gluten en pacientes celiacos en nuestro hospital. XIII Congreso Nacional del Laboratorio Clínico. 2017. 2019.

207. Mulder CJJ, Elli L, Lebwohl B, Makharia GK, Rostami K, Rubio-Tapia A, et al. Follow-Up of Celiac Disease in Adults: «When, What, Who, and Where». Nutrients. 2023;15(9):2048.

208. Morón B, Bethune MT, Comino I, Manyani H, Ferragud M, López MC, et al. Toward the assessment of food toxicity for celiac patients: characterization of monoclonal antibodies to a main immunogenic gluten peptide. PLoS One. 2008;3(5):e2294.

209. Mamone G, Di Stasio L, Vitale S, Picascia S, Gianfrani C. Analytical and functional approaches to assess the immunogenicity of gluten proteins. Front Nutr. 2022;9:1-14.

210. Tye-Din JA, Galipeau HJ, Agardh D. Celiac Disease: A Review of Current Concepts in Pathogenesis, Prevention, and Novel Therapies. Front Pediatr. 2018;6:350.

211. Polanco Allué I. [Microbiota and gastrointestinal diseases]. An Pediatr (Barc). diciembre de 2015;83(6):443.e1-5.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

212. Leffler DA, Kelly CP, Green PHR, Fedorak RN, DiMarino A, Perrow W, et al. Larazotide acetate for persistent symptoms of celiac disease despite a gluten-free diet: a randomized controlled trial. Gastroenterology. 2015;148(7):1311-1319.e6.

213. Keillor JW, Apperley KYP. Transglutaminase inhibitors: a patent review. Expert Opin Ther Pat. 2016;26(1):49-63.

214. Federación de asociaciones de celiacos de España FACE [Internet]. 2024. Disponible en: https://celiacos.org/

215. Sánchez-Muniz FJ, Ángeles Rodríguez Montealegre, Paloma Celada, Sara Bastida. Acerca de la enfermedad celiaca. Breve historia de la celiaquía. JOURNAL OF NEGATIVE AND NO POSITIVE RESULTS. 2018;3(12):980-97.

216. Taczanowska A, Schwandt A, Amed S, Tóth-Heyn P, Kanaka-Gantenbein C, Volsky SK, et al. Celiac disease in children with type 1 diabetes varies around the world: An international, cross-sectional study of 57 375 patients from the SWEET registry. J Diabetes. 2021;13(6):448-57.

217. Elfström P, Montgomery SM, Kämpe O, Ekbom A, Ludvigsson JF. Risk of thyroid disease in individuals with celiac disease. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(10):3915-21.

218. Bartoloni E, Bistoni O, Alunno A, Cavagna L, Nalotto L, Baldini C, et al. Celiac Disease Prevalence is Increased in Primary Sjögren's Syndrome and Diffuse Systemic Sclerosis: Lessons from a Large Multi-Center Study. J Clin Med. 2019;8(4):540.

219. Catassi C, Fabiani E, Corrao G, Barbato M, De Renzo A, Carella AM, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma in celiac disease. JAMA. 2002;287(11):1413-9.

220. Card TR, West J, Holmes GKT. Risk of malignancy in diagnosed coeliac disease: a 24-year prospective, population-based, cohort study. Aliment Pharmacol Ther. 2004;20(7):769-75.

221. Pelizzaro F, Marsilio I, Fassan M, Piazza F, Barberio B, D'Odorico A, et al. The Risk of Malignancies in Celiac Disease-A Literature Review. Cancers (Basel). 2021;13(21):5288.

222. 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.

223. De Marchi S, Chiarioni G, Prior M, Arosio E. Young adults with coeliac disease may be at increased risk of early atherosclerosis. Aliment Pharmacol Ther. 2013;38(2):162-9.

224. Conroy M, Allen N, Lacey B, Soilleux E, Littlejohns T. Association between coeliac disease and cardiovascular disease: prospective analysis of UK Biobank data. BMJ Med. 2023;2(1):e000371.

225. van Gils T, Nijeboer P, van Wanrooij RL, Bouma G, Mulder CJJ. Mechanisms and management of refractory coeliac disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015;12(10):572-9.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

226. Green PHR, Cellier C. Celiac disease. N Engl J Med. 2007;357(17):1731-43.

227. Penny HA, Baggus EMR, Rej A, Snowden JA, Sanders DS. Non-Responsive Coeliac Disease: A Comprehensive Review from the NHS England National Centre for Refractory Coeliac Disease. Nutrients. 2020;12(1):216.

228. Hollon JR, Cureton PA, Martin ML, Puppa ELL, Fasano A. Trace gluten contamination may play a role in mucosal and clinical recovery in a subgroup of diet-adherent non-responsive celiac disease patients. BMC Gastroenterol. 2013;13:40.

229. Mooney PD, Evans KE, Singh S, Sanders DS. Treatment failure in coeliac disease: a practical guide to investigation and treatment of non-responsive and refractory coeliac disease. J Gastrointestin Liver Dis. 2012;21(2):197-203.

230. Vivas Alegre S, Ruiz De Morales JM. Enfermedad celíaca refractaria. Gastroenterología y Hepatología. 2008;31(5):310-6.

231. Roshan B, Leffler DA, Jamma S, Dennis M, Sheth S, Falchuk K, et al. The Incidence and Clinical Spectrum of Refractory Celiac Disease in a North American Referral Center. American Journal of Gastroenterology. 2011;106(5):923-8.

232. Malamut G, Cellier C. Refractory Celiac Disease. Gastroenterol Clin North Am. 2019;48(1):137-44.

233. Al-Toma A, Goerres MS, Meijer JWR, Peña AS, Crusius JBA, Mulder CJJ. 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.

234. Malamut G, El Machhour R, Montcuquet N, Martin-Lannerée S, Dusanter-Fourt I, Verkarre V, et al. IL-15 triggers an antiapoptotic pathway in human intraepithelial lymphocytes that is a potential new target in celiac disease-associated inflammation and lymphomagenesis. J Clin Invest. 2010;120(6):2131-43.

235. Woodward J. Improving outcomes of refractory celiac disease - current and emerging treatment strategies. Clin Exp Gastroenterol. 2016;9:225-36.

236. Goerres MS, Meijer JWR, Wahab PJ, Kerckhaert J a. M, Groenen PJTA, Van Krieken JHJM, et al. Azathioprine and prednisone combination therapy in refractory coeliac disease. Aliment Pharmacol Ther. 2003;18(5):487-94.

237. Al-Toma A, Goerres MS, Meijer JWR, von Blomberg BME, Wahab PJ, Kerckhaert JAM, et al. Cladribine therapy in refractory celiac disease with aberrant T cells. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006;4(11):1322-7.

238. Al-toma A, Visser OJ, van Roessel HM, von Blomberg BME, Verbeek WHM, Scholten PET, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory celiac disease with aberrant T cells. Blood. 2007;109(5):2243-9.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

239. Catassi C. El mapa mundial de la enfermedad celíaca. Acta gastroenterológica latinoamericana. 2005;35(1):46-55.

240. Singh A, Pramanik A, Acharya P, Makharia GK. Non-Invasive Biomarkers for Celiac Disease. J Clin Med. 2019;8(6):885.

241. Riddle MS, Murray JA, Porter CK. The incidence and risk of celiac disease in a healthy US adult population. Am J Gastroenterol. 2012;107(8):1248-55.

242. Adriaanse MPM, Mubarak A, Riedl RG, Ten Kate FJW, Damoiseaux JGMC, Buurman WA, et al. Progress towards non-invasive diagnosis and follow-up of celiac disease in children; a prospective multicentre study to the usefulness of plasma I-FABP. Sci Rep. 2017;7(1):8671.

243. Saginur M, AlRefaee FA, Spady DW, Girgis SA, Huynh HQ, Prosser CI, et al. Antitissue transglutaminase antibody determination versus upper endoscopic biopsy diagnosis of paediatric celiac disease. Paediatrics & Child Health. 2013;18(5):246-50.

244. Dahlbom I, Korponay-Szabó IR, Kovács JB, Szalai Z, Mäki M, Hansson T. Prediction of Clinical and Mucosal Severity of Coeliac Disease and Dermatitis Herpetiformis by Quantification of IgA/IgG Serum Antibodies to Tissue Transglutaminase. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2010;50(2):140-6.

245. Mubarak A, Wolters VM, Gerritsen SA, Gmelig-Meyling FH, Ten Kate FJ, Houwen RH. A Biopsy Is Not Always Necessary to Diagnose Celiac Disease. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2011;52(5):554-7.

246. Alessio MG, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, et al. Correlation Between IgA Tissue Transglutaminase Antibody Ratio and Histological Finding in Celiac Disease. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2012;55(1):44-9.

247. Mir BA, Majeed T, Singh A, Rajput MS, Kumar A, Chauhan A. Emerging Biomarkers for Screening and Management of Celiac Disease. Biomed Res Int. 2022;2022:2756242.

248. Schauer F, Tasiopoulou G, Schuster D, Behrens M, Müller S, Kiritsi D. Primate liver tissue substrate in indirect immunofluorescence diagnostics for patients with dermatitis herpetiformis and celiac disease. Front Immunol. 2023;14:1104360.

249. Collin P, Vilppula A, Luostarinen L, Holmes GKT, Kaukinen K. Review article: coeliac disease in later life must not be missed. Aliment Pharmacol Ther. 2018;47(5):563-72.

250. Shiha MG, Marks LJ, Sanders DS. Diagnosing coeliac disease in the elderly: a United Kingdom cohort study. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2020;13(1):37-43.

251. Spencer M, Lenhart A, Baker J, Dickens J, Weissman A, Read AJ, et al. Primary care physicians are under-testing for celiac disease in patients with iron deficiency anemia: Results of a national survey. Connor JR, editor. PLoS ONE. 2017;12(9):e0184754.

252. Katsumi A, Abe A, Tamura S, Matsushita T. Anemia in older adults as a geriatric syndrome: A review. Geriatrics Gerontology Int. 2021;21(7):549-54.

253. Romano AD, Paglia A, Bellanti F, Villani R, Sangineto M, Vendemiale G, et al. Molecular Aspects and Treatment of Iron Deficiency in the Elderly. IJMS. 2020;21(11):3821.

254. Sategna Guidetti C, Scaglione N, Martini S. Red cell distribution width as a marker of coeliac disease: a prospective study. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2002;14(2):177-81.

255. Guglielmi V, Manchisi M, Pellegrini V, Tutino M, Guerra V. [RDW: new screening test for coeliac disease?]. Minerva Med. 2002;93(5):419-21.

256. Goyal H, Lippi G, Gjymishka A, John B, Chhabra R, May E. Prognostic significance of red blood cell distribution width in gastrointestinal disorders. WJG. 2017;23(27):4879.

257. WHO One Health. [Internet]. 2017. Disponible en: https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/one-health

258. Roberts SE, Morrison-Rees S, Thapar N, Benninga MA, Borrelli O, Broekaert I, et al. Systematic review and meta-analysis: the incidence and prevalence of paediatric coeliac disease across Europe. Aliment Pharmacol Ther. 2021;54(2):109-28.

259. Newnham ED. Coeliac disease in the 21st century: paradigm shifts in the modern age: Shifting treatment paradigms in coeliac disease. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2017;32:82-5.

260. West J, Otete H, Sultan AA, Crooks CJ. Changes in Testing for and Incidence of Celiac Disease in the United Kingdom: A Population-based Cohort Study. Epidemiology. 2019;30(4):e23-4.

261. Green PHR, Lebwohl B, Greywoode R. Celiac disease. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2015;135(5):1099-106.

262. Bonamico M, Thanasi E, Mariani P, Nenna R, Luparia RPL, Barbera C, et al. Duodenal Bulb Biopsies in Celiac Disease: A Multicenter Study. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2008;47(5):618-22.

263. Mariné M, Fernández-Bañares F, Alsina M, Farré C, Cortijo M, Santaolalla R, et al. Impact of mass screening for gluten-sensitive enteropathy in working population. World J Gastroenterol. 2009;15(11):1331-8.

264. Hill ID, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg E, Levy J, Reilly N, et al. NASPGHAN Clinical Report on the Diagnosis and Treatment of Gluten-related Disorders. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2016;63(1):156-65.

265. NICE. Coeliac disease Quality standard [QS 134]. Quality statement 1: Serological testing for coeliac disease [Internet]. 2016. Disponible en: https://www.nice.org.uk/guidance/qs134/chapter/Quality-statement-1-Serological-testing-for-coeliac-disease

266. US Preventive Services Task Force, Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Barry MJ, Davidson KW, et al. Screening for Celiac Disease: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. JAMA. 2017;317(12):1252-7.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

267. Arigliani M, Rech Morassutti F, Fabris M, Melli P, Tonutti E, Cogo P. Coeliac disease in infants: antibodies to deamidated gliadin peptide come first! Ital J Pediatr. 2017;43(1):70.

268. Kleinman, K, McDaniel, L., Molloy, M. Manual Harriet Lane de pediatría. The Johns Hopkins Hospital, 22 ed.; Elsevier Colección: Amsterdam, The Netherlands, 2021. Elsevier; 2021. 1146 p.

269. World Health Organization (WHO). Haemoglobin Concentrations for the Diagnosis of Anaemia and Assessment of Severity. WHO/NMH/NHD/MNM/11.1A [Internet]. 2021. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85839/WHO_NMH_NHD_MNM_11.1_eng.pdf

270. Spanish Society of Laboratory Medicine SEQCM [Internet]. 2022. Disponible en: https://www.seqc.es/

271. Penny HA, Raju SA, Lau MS, Marks LJ, Baggus EM, Bai JC, et al. Accuracy of a no-biopsy approach for the diagnosis of coeliac disease across different adult cohorts. Gut. 2021;70(5):876-83.

272. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2019 [Internet]. 2022. Disponible en: ttps://www.R-project.org/

273. Balaban DV, Popp A, Ionita Radu F, Jinga M. Hematologic Manifestations in Celiac Disease—A Practical Review. Medicina. 2019;55(7):373.

274. Harmanci O, Kav T, Sivri B. Red Cell Distribution Width Can Predict Intestinal Atrophy in Selected Patients With Celiac Disease: RDW in Celiac Disease. J Clin Lab Anal. 2012;26(6):497-502.

275. Berry N, Basha J, Varma N, Varma S, Prasad KK, Vaiphei K, et al. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology: A prospective study from India. JGH Open. 2018;2(5):196-200.

276. Pinto-Sanchez MI, Silvester JA, Lebwohl B, Leffler DA, Anderson RP, Therrien A, et al. Society for the Study of Celiac Disease position statement on gaps and opportunities in coeliac disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. diciembre de 2021;18(12):875-84.

277. Lindfors K, Ciacci C, Kurppa K, Lundin KEA, Makharia GK, Mearin ML, et al. Coeliac disease. Nat Rev Dis Primers. 2019;5(1):3.

278. Murch S, Jenkins H, Auth M, Bremner R, Butt A, France S, et al. Joint BSPGHAN and Coeliac UK guidelines for the diagnosis and management of coeliac disease in children. Archives of Disease in Childhood. 2013;98(10):806-11.

279. Van Der Windt DAWM, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CMF, Van Der Horst HE. Diagnostic Testing for Celiac Disease Among Patients With Abdominal Symptoms: A Systematic Review. JAMA. 2010;303(17):1738.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

280. Gidrewicz D, Potter K, Trevenen CL, Lyon M, Butzner DJ. Evaluation of the ESPGHAN Celiac Guidelines in a North American Pediatric Population. American Journal of Gastroenterology. 2015;110(5):760-7.

281. Ludvigsson JF, Ciacci C, Green PH, Kaukinen K, Korponay-Szabo IR, Kurppa K, et al. Outcome measures in coeliac disease trials: the Tampere recommendations. Gut. 2018;67(8):1410-24.

282. Schirru E, Danjou F, Cicotto L, Rossino R, Macis MD, Lampis R, et al. Anti-Actin IgA Antibodies Identify Celiac Disease Patients with a Marsh 3 Intestinal Damage among Subjects with Moderate Anti-TG2 Levels. BioMed Research International. 2013;2013:1-6.

283. Klapp G, Masip E, Bolonio M, Donat E, Polo B, Ramos D, et al. Celiac Disease: The New Proposed ESPGHAN Diagnostic Criteria Do Work Well in a Selected Population. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2013;56(3):251-6.

284. 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(1):24.

285. Donat E, Ramos JM, Sánchez-Valverde F, Moreno A, Martinez MJ, Leis R, et al. ESPGHAN 2012 Guidelines for Coeliac Disease Diagnosis: Validation Through a Retrospective Spanish Multicentric Study. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2016;62(2):284-91.

286. Hopper AD, Cross SS, Hurlstone DP, McAlindon ME, Lobo AJ, Hadjivassiliou M, et al. Pre-endoscopy serological testing for coeliac disease: evaluation of a clinical decision tool. BMJ. 2007;334(7596):729.

287. Sugai E. Celiac disease serology in patients with different pretest probabilities: Is biopsy avoidable? WJG. 2010;16(25):3144.

288. Wolf J, Petroff D, Richter T, Auth MKH, Uhlig HH, Laass MW, et al. Validation of Antibody-Based Strategies for Diagnosis of Pediatric Celiac Disease Without Biopsy. Gastroenterology. 2017;153(2):410-9.

289. Smarrazzo A, Misak Z, Costa S, Mičetić-Turk D, Abu-Zekry M, Kansu A, et al. Diagnosis of celiac disease and applicability of ESPGHAN guidelines in Mediterranean countries: a real life prospective study. BMC Gastroenterol. 2017;17(1):17.

290. Oyaert M, Vermeersch P, De Hertogh G, Hiele M, Vandeputte N, Hoffman I, et al. Combining antibody tests and taking into account antibody levels improves serologic diagnosis of celiac disease. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) [Internet]. 2015;53(10). Disponible en: https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2013-1099/html

291. Panetta F, Torre G, Colistro F, Ferretti F, Daniele A, Diamanti A. Clinical accuracy of anti-tissue transglutaminase as screening test for celiac disease under 2 years: Anti-tissue transglutaminase under 2 years. Acta Paediatrica. 2011;100(5):728-31.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

292. 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. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2012;54(2):229-41.

293. Clouzeau-Girard H, Rebouissoux L, Taupin JL, Le Bail B, Kalach N, Michaud L, et al. HLA-DQ Genotyping Combined With Serological Markers for the Diagnosis of Celiac Disease: Is Intestinal Biopsy Still Mandatory? Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2011;52(6):729-33.

294. 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.

295. Elli L, Ferretti F, Orlando S, Vecchi M, Monguzzi E, Roncoroni L, et al. Management of celiac disease in daily clinical practice. European Journal of Internal Medicine. 2019;61:15-24.

296. Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PHR. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology. Am J Hematol. 2007;82(11):996-1000.

297. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, et al. Increasing prevalence of coeliac disease over time. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2007;26(9):1217-25.

298. Kalkan Ç, Karakaya F, Soykan I. Similarities and differences between older and young adult patients with celiac disease: Celiac disease in elderly. Geriatr Gerontol Int. 2017;17(11):2060-7.

299. Vilppula A, Kaukinen K, Luostarinen L, Krekelä I, Patrikainen H, Valve R, et al. Increasing prevalence and high incidence of celiac disease in elderly people: a population-based study. BMC Gastroenterol. 2009;9:1-5.

300. Mukherjee R, Egbuna I, Brar P, Hernandez L, McMahon DJ, Shane EJ, et al. Celiac disease: similar presentations in the elderly and young adults. Dig Dis Sci. 2010;55(11):3147-53.

301. Fueyo-Díaz R, Magallón-Botaya R, Masluk B, Palacios-Navarro G, Asensio-Martínez A, Gascón-Santos S, et al. Prevalence of celiac disease in primary care: the need for its own code. BMC Health Serv Res. 2019;19(1):578.

302. Mariné M, Farre C, Alsina M, Vilar P, Cortijo M, Salas A, et al. The prevalence of coeliac disease is significantly higher in children compared with adults: Changing prevalence of coeliac disease in Catalonia. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2011;33(4):477-86.

303. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo 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.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

304. Jackson JR, Eaton WW, Cascella NG, Fasano A, Kelly DL. Neurologic and psychiatric manifestations of celiac disease and gluten sensitivity. Psychiatr Q. 2012;83(1):91-102.

305. Ludvigsson JF, Michaelsson K, Ekbom A, Montgomery SM. Coeliac disease and the risk of fractures - a general population-based cohort study. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2006;25(3):273-85.

306. Cabo Del Riego JM, Núñez-Iglesias MJ, Paz Carreira J, Blanco Hortas A, Álvarez Fernández T, Novío Mallón S, et al. Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion. IJERPH. 2022;20(1):66.

307. Häuser W. Anxiety and depression in adult patients with celiac disease on a gluten-free diet. WJG. 2010;16(22):2780.

308. Croall ID, Sanders DS, Hadjivassiliou M, Hoggard N. Cognitive Deficit and White Matter Changes in Persons With Celiac Disease: A Population-Based Study. Gastroenterology. 2020;158(8):2112-22.

309. Fava C, Cattazzo F, Hu ZD, Lippi G, Montagnana M. The role of red blood cell distribution width (RDW) in cardiovascular risk assessment: useful or hype? Ann Transl Med. 2019;7(20):581-581.

310. Ananthaseshan S, Bojakowski K, Sacharczuk M, Poznanski P, Skiba DS, Prahl Wittberg L, et al. Red blood cell distribution width is associated with increased interactions of blood cells with vascular wall. Sci Rep. 2022;12(1):13676.

311. Wang J, Xiao Q, Li Y. ΔRDW: A Novel Indicator with Predictive Value for the Diagnosis and Treatment of Multiple Diseases. IJGM. 2021;Volume 14:8667-75.

312. Kårhus LL, Kriegbaum M, Grand MK, Lind BS, Møllehave LT, Rumessen JJ, et al. Biochemical abnormalities among patients referred for celiac disease antibody blood testing in a primary health care setting. Sci Rep. 2022;12(1):6407.

313. Brusco G, Di Stefano M, Corazza GR. Increased red cell distribution width and coeliac disease. Dig Liver Dis. 2000;32(2):128-30.

314. Mitchell RMS, Robinson TJ. Monitoring dietary compliance in coeliac disease using red cell distribution width. Int J Clin Pract. 2002;56(4):249-50.

315. Yeşil A, Senateş E, Bayoğlu IV, Erdem ED, Demirtunç R, Kurdaş Övünç AO. Red cell distribution width: a novel marker of activity in inflammatory bowel disease. Gut Liver. 2011;5(4):460-7.

316. L. Van Pelt J, Klatte S, Hwandih T, Barcaru A, Riphagen IJ, Linssen J, et al. Reference intervals for Sysmex XN hematological parameters as assessed in the Dutch Lifelines cohort. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2022;60(6):907-20.

317. Rees CJ, East JE, Oppong K, Veitch A, McAlindon M, Anderson J, et al. Restarting gastrointestinal endoscopy in the deceleration and early recovery phases of COVID-19

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

pandemic: Guidance from the British Society of Gastroenterology. Clin Med. 2020;20(4):352-8.

318. Vitoria Cormenzana JC, Sojo Aguirre A, Martín Bejarano E, Zuazo Zamalloa E, Corera Sánchez M, Escudero Jiménez F. [Incidence of celiac disease in Vizcaya]. An Esp Pediatr. 1991;35(4):251-3.

319. Makharia GK, Chauhan A, Singh P, Ahuja V. Review article: Epidemiology of coeliac disease. Aliment Pharmacol Ther. 2022;56(S1).

320. Elwenspoek MMC, Jackson J, O'Donnell R, Sinobas A, Dawson S, Everitt H, et al. The accuracy of diagnostic indicators for coeliac disease: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2021;16(10):e0258501.

321. Salinas M, López-Garrigós M, Flores E, Leiva-Salinas C. Big differences in primary care celiac disease serological markers request in Spain. Biochem Med (Zagreb). 2017;27(1):231-6.

322. Altobelli E, Paduano R, Petrocelli R. Burden of Celiac Disease in Europe: a review of its childhood and adulthood prevalence and incidence as of September 2014. Annali di Igiene Medicina Preventiva e di Comunità. 2014;(6):485-98.

323. Kårhus LL, Skaaby T, Petersen J, Madsen AL, Thuesen BH, Schwarz P, et al. Long-term Consequences of Undiagnosed Celiac Seropositivity. Am J Gastroenterol. 2020;115(10):1681-8.

324. Kvamme JM, Sørbye S, Florholmen J, Halstensen TS. Population-based screening for celiac disease reveals that the majority of patients are undiagnosed and improve on a gluten-free diet. Sci Rep. 2022;12(1):12647.

325. Meijer CR, Auricchio R, Putter H, Castillejo G, Crespo P, Gyimesi J, et al. Prediction Models for Celiac Disease Development in Children From High-Risk Families: Data From the PreventCD Cohort. Gastroenterology. 2022;163(2):426-36.

326. Casellas Jordá F, Argüelles Arias F, Burgos R, van der Hofstadt Rovira M. National survey on the experiences of people with celiac disease in Spain. The CELIAC-SPAIN project. Rev Esp Enferm Dig. 2020;112(5):343-54.

327. 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. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2019;17(10):1954-1968.e13.

328. Viken MK, Flåm ST, Skrivarhaug T, Amundsen SS, Sollid LM, Drivvoll AK, et al. HLA class II alleles in Norwegian patients with coexisting type 1 diabetes and celiac disease: VIKEN ET AL . HLA. 2017;89(5):278-84.

329. Iversen R, Sollid LM. The Immunobiology and Pathogenesis of Celiac Disease. Annu Rev Pathol. 2023;18:47-70.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

330. Sallese M, Lopetuso LR, Efthymakis K, Neri M. Beyond the HLA Genes in Gluten-Related Disorders. Front Nutr. 2020;7:575844.

331. Nuñez Pardo Vera C, Ballester Clau R, Castillejo de Villasante G, Martínez-Ojínaga Nodal E, Vargas Pérez, M, Cabrera C, et al. Frecuencia y características de la enfermedad celiaca HLA-DQ2.5/DQ8 negativa en España. VI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca - SEEC; 2018.

332. Kasarda DD. Can an increase in celiac disease be attributed to an increase in the gluten content of wheat as a consequence of wheat breeding? J Agric Food Chem. 2013;61(6):1155-9.

333. Verrill L, Zhang Y, Kane R. Food label usage and reported difficulty with following a gluten-free diet among individuals in the USA with coeliac disease and those with noncoeliac gluten sensitivity. J Hum Nutr Diet. 2013;26(5):479-87.

334. Trenda E. Statista. Bread consumption volume in Spain from 2008 to 2022. Disponible en: https://www.statista.com/statistics/443940/bread-consumption-volume-in-spain/ [Internet]. 2022. Disponible en: https://www.statista.com/statistics/443940/bread-consumption-volume-in-spain/

335. Nils-Gerrit W. Per capita consumption of the bread and cereal products in the U.S. 2017-2027. Statista Market Insights. Disponible en: https://www.statista.com/forecasts/1374278/size-of-the-bread-and-cereal-product-market-in-the-united-states. [Internet]. 2023. Disponible en: ttps://www.statista.com/forecasts/1374278/size-of-the-bread-and-cereal-product-market-in-the-united-states

336. Ministerio de agricultura, Pesca y Alimentación. Informe del consumo alimentario en España 2018. Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación. [Internet]. Gobierno de España; 2019. Disponible en: :http://publicacionesoficiales.boe.es

337. Statista Market Insights. Breat-Italy. [last update May 2023][Acces: June 2023]. Available in: https://www.statista.com/outlook/cmo/food/bread-cereal-products/bread/italy [Internet]. 2023. Disponible en: https://www.statista.com/outlook/cmo/food/bread-cereal-products/bread/italy

338. Statista. Daily per capita bread consumption per person in Italy from 1861 to 2014. Disponible en: https://www.statista.com/statistics/615916/daily-bread-consumption-per-person-in-italy. [Internet]. 2024. Disponible en: https://www.statista.com/statistics/615916/daily-bread-consumption-per-person-in-italy

339. Informe del consumo alimentario en España 2021. Ministerio de Agricultura, Pesca y <alimentación. Gobierno de España. NIPO: 003191619 [Internet]. p. 662. Disponible en: http://publicacionesoficiales.boe.es

340. Marín-Sanz M, Sánchez-León S, León E, Barro F. Comparative characterization of the gluten and fructan contents of breads from industrial and artisan bakeries: a study of food products in the Spanish market. Food & Nutrition Research. 2022;66.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

341. Brandt MJ. Industrial production of sourdoughs for the baking branch – An overview. International Journal of Food Microbiology. 2019;302:3-7.

342. Shewry PR, Hassall KL, Grausgruber H, Andersson AAM, Lampi A -M., Piironen V, et al. Do modern types of wheat have lower quality for human health? Nutr Bull. 2020;45(4):362-73.

343. Brouns F, Geisslitz S, Guzman C, Ikeda TM, Arzani A, Latella G, et al. Do ancient wheats contain less gluten than modern bread wheat, in favour of better health? Nutr Bull. 2022;47(2):157-67.

344. Pronin D, Börner A, Weber H, Scherf KA. Wheat (*Triticum aestivum* L.) Breeding from 1891 to 2010 Contributed to Increasing Yield and Glutenin Contents but Decreasing Protein and Gliadin Contents. J Agric Food Chem. 2020;68(46):13247-56.

345. Penuelas J, Gargallo-Garriga A, Janssens IA, Ciais P, Obersteiner M, Klem K, et al. Could Global Intensification of Nitrogen Fertilisation Increase Immunogenic Proteins and Favour the Spread of Coeliac Pathology? Foods. 4 de noviembre de 2020;9(11):1602.

346. Jouanin A, Schaart JG, Boyd LA, Cockram J, Leigh FJ, Bates R, et al. Outlook for coeliac disease patients: towards bread wheat with hypoimmunogenic gluten by gene editing of α- and γ-gliadin gene families. BMC Plant Biol. 2019;19(1):333.

347. Mandal S, Verma AK. Wheat Breeding, Fertilizers, and Pesticides: Do They Contribute to the Increasing Immunogenic Properties of Modern Wheat? GastrointestDisord. 2021;3(4):247-64.

348. De La Calle I, Ros G, Peñalver Miras R, Nieto G. Celiac disease: causes, pathology, and nutritional assessment of gluten-free diet. A review. Nutr Hosp. 2020;37(5):1043-51.

349. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios AEMPS [Internet]. 2023. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/

350. Calle-Miguel L, Iglesias Carbajo AI, Modroño Riaño G, Pérez Méndez C, García García E, Rodríguez Nebreda S, et al. Evolution of antibiotic consumption in pediatric outpatients of Asturias, Spain (2005–2018). Anales de Pediatría. 2021;95(6):438-47.

351. Albañil Ballesteros MR, Rodríguez Arranz C, Jiménez Alés R, Ares Álvarez J, Muñoz Hiraldo E, Lupiani Castellanos P, et al. Programas de optimización del uso de antibióticos (PROA) en pediatría de atención primaria. Anales de Pediatría. 2023;98(2):136.e1-136.e11.

352. Sánchez D, Hoffmanová I, Szczepanková A, Hábová V, Tlaskalová-Hogenová H. Contribution of Infectious Agents to the Development of Celiac Disease. Microorganisms. 2021;9(3):547.

353. Lebwohl B, Blaser MJ, Ludvigsson JF, Green PHR, Rundle A, Sonnenberg A, et al. Decreased Risk of Celiac Disease in Patients With Helicobacter pylori Colonization. American Journal of Epidemiology. 2013;178(12):1721-30.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

354. Amlashi FI, Norouzi Z, Sohrabi A, Shirzad-Aski H, Norouzi A, Ashkbari A, et al. A systematic review and meta-analysis for association of Helicobacter pylori colonization and celiac disease. Galvão EL, editor. PLoS ONE. 2021;16(3):e0241156.

355. Maxim R, Pleşa A, Stanciu C, Girleanu I, Moraru E, Trifan A. Helicobacter pylori prevalence and risk factors among children with celiac disease. Turk J Gastroenterol. 2019;30(3):284-9.

356. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology. 2017;153(2):420-9.

357. Lucero Y, Oyarzún A, O'Ryan M, Quera R, Espinosa N, Valenzuela R, et al. Helicobacter pylori cagA+ Is Associated with Milder Duodenal Histological Changes in Chilean Celiac Patients. Front Cell Infect Microbiol. 2017;7:376.

358. Lorenzo I, Fernández-de-Larrea N, Michel A, Romero B, Lope V, Bessa X, et al. Helicobacter pylori seroprevalence in Spain: influence of adult and childhood sociodemographic factors. European Journal of Cancer Prevention. 2019;28(4):294-303.

359. Popp A, Kivelä L, Fuchs V, Kurppa K. Diagnosing Celiac Disease: Towards Wide-Scale Screening and Serology-Based Criteria? Gastroenterol Res Pract. 2019;1-10.

360. Greco I, Mäki M, Di Donato F, Visakorpi J. Epidemiology of coeliac diseases in Europe and Mediterranean area. A summary report on the multicentre study by the European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Dyn Nutr Res. 1992;(2):25-44.

361. Popp A, Mäki M. Changing Pattern of Childhood Celiac Disease Epidemiology: Contributing Factors. Front Pediatr. 29 de agosto de 2019;7:357.

362. 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. Digestive and Liver Disease. 2016;48(1):16-22.

363. Greco L, Tozzi AE, Mayer M, Grimaldi M, Silano G, Auricchio S. Unchanging clinical picture of coeliac disease presentation in Campania, Italy. Eur J Pediatr. 1989;148(7):610-3.

364. 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.

365. George EK, Mearin ML, Franken HC, Houwen RH, Hirasing RA, Vandenbroucke JP. Twenty years of childhood coeliac disease in The Netherlands: a rapidly increasing incidence? Gut. 1997;40(1):61-6.

366. Steens RFR, Csizmadia CGDS, George EK, Ninaber MK, Hira Sing RA, Mearin ML. A National Prospective Study on Childhood Celiac Disease in the Netherlands 1993–2000: An Increasing Recognition and a Changing Clinical Picture. The Journal of Pediatrics. 2005;147(2):239-43.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

367. Ravikumara M, Tuthill DP, Jenkins HR. The changing clinical presentation of coeliac disease. Archives of Disease in Childhood. 2006;91(12):969-71.

368. Roma E, Panayiotou J, Karantana H, Constantinidou C, Siakavellas SI, Krini M, et al. Changing Pattern in the Clinical Presentation of Pediatric Celiac Disease: A 30-Year Study. Digestion. 2009;80(3):185-91.

369. Ress K, Luts K, Rägo T, Pisarev H, Uibo O. Nationwide study of childhood celiac disease incidence over a 35-year period in Estonia. Eur J Pediatr. 2012;171(12):1823-8.

370. Ascher H, Holm K, Kristiansson B, Maki M. Different features of coeliac disease in two neighbouring countries. Archives of Disease in Childhood. 1993;69(3):375-80.

371. Gokce S, Arslantas E. Changing face and clinical features of celiac disease in children. Pediatrics International. 2015;57(1):107-12.

372. Lal S, Venkatesh V, Aneja A, Seetharaman K, Kumar Y, Prasad K, et al. Clinical spectrum & changing presentation of celiac disease in Indian children. Indian J Med Res. 2023;158(1):75.

373. Rodrigo Sáez,L L, fuentes Alvárez D, Pérez Martínez,I I, Alvárez Mieres N, Niño García P, Riestra Menéndez S, et al. Diferencias entre la enfermedad celiaca infantil y del adulto. Rev Esp Enferm Dig. 2011;103(5):238-44.

374. Cabo-del Riego, JM, Nuñez Iglesias MJ, Álvarez Fernández T, Paz Carreira J, Novío Mallón S, Freire-Garabal Núñez M. Enfermedad celiaca del adulto: auto anticuerpos versus biopsia duodenal. VIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC). Gastroenterología y Hepatología. 2022;45(3):51.

375. Efthymakis K, Serio M, Milano A, Laterza F, Bonitatibus A, Di Nicola M, et al. Application of the Biopsy-Sparing ESPGHAN Guidelines for Celiac Disease Diagnosis in Adults: A Real-Life Study. Dig Dis Sci. 2017;62(9):2433-9.

376. Molero Luis M, Cabo-del Riego, JM, Alvárez Fernandez T, Garcia-Plata C, González Ramírez JA. Contrato de estudio de investigación biomédica para el estudio «Diagnóstico sin biopsia en la enfermedad celiaca: definición de un umbral para cada test de anticuerpos antitransglutaminasa IgA». Código de Protocolo: PI-5473; 2023.

377. Cabo-del Riego JM, Nuñez Iglesias MJ, Alvárez Fernández T, Mateo Guerra A, Ibietatorremendia A, Blanco Hortas A, et al. Valores de referencia de los anticuerpos antitransglutaminasa IgA: marcando la diferencia entre niños y adultos. XVII Congreso Nacional del Laboratorio Clínico. Zaragoza. 2023.

378. Fuchs V, Kurppa K, Huhtala H, Laurila K, Mäki M, Collin P, et al. Serology-based criteria for adult coeliac disease have excellent accuracy across the range of pre-test probabilities. Aliment Pharmacol Ther. 2019;49(3):277-84.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPITULO 1O.

ANEXOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO 10.1.

International Journal of *Environmental Research and Public Health*

MDPI

Article

Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population

Julia María Cabo del Riego [1,2,*], María Jesús Núñez Iglesias [3,4,*], Carmen García-Plata González [5], José Paz Carreira [5], Tamara Álvarez Fernández [1], Ana Dorado Díaz [6], Noa Villar Mallo [1], Manuel Penedo Pita [1], Silvia Novio Mallón [3,4], Lola Máiz Suárez [1] and Manuel Freire-Garabal Núñez [4,7]

[1] Clinical Analysis Laboratory, Department of Inmunology, Hospital Universitario Lucus Augusti, 27003 Lugo, Spain; tamara.alvarez.fernandez@sergas.es (T.Á.F.); noa.villar.mallo@sergas.es (N.V.M.); manuel.penedo.pita@sergas.es (M.P.P.); lola.maiz.suarez@sergas.es (L.M.S.)
[2] Doctoral Programme in Medicine Clinical Research, International PhD School of the University of Santiago de Compostela (EDIUS), 15782 Santiago de Compostela, Spain
[3] Department of Psiquiatry, Radiology, Public Health, Nursing and Medicine, University of Santiago de Compostela, 15705 A Coruña, Spain; silvia.novio@usc.es
[4] SNL Laboratory, School of Medicine and Dentistry, 15782 A Coruña, Spain; manuel.freire-garabal@usc.es
[5] Pediatric Gastrohepathology Unit of Hospital Universitario Lucus Augusti, 27003 Lugo, Spain; carmen.garcia-plata.gonzalez@sergas.es (C.G.-P.G.); jpazcarreira@hemogalicia.com (J.P.C.)
[6] Department of Statistical Health Counselling, Junta de Castilla y León, 47001 Valladolid, Spain; ana.dorado@jcyl.es
[7] Department of Pharmacology, University of Santiago de Compostela, 15705 A Coruña, Spain
* Correspondence: julia.maria.cabo.del.riego@sergas.es (J.M.C.d.R.); mjesus.nunez@usc.es (M.J.N.I.); Tel.: +34-982296213 (J.M.C.d.R.); +34-881812374 (M.J.N.I.)

Citation: Cabo del Riego, J.M.; Núñez Iglesias, M.J.; García-Plata González, C.; Paz Carreira, J.; Álvarez Fernández, T.; Dorado Díaz, A.; Villar Mallo, N.; Penedo Pita, M.; Novio Mallón, S.; Máiz Suárez, L.; et al. Evaluation of Celiac Disease by Minimally Invasive Biomarkers in a Spanish Pediatric Population. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 5020. https://doi.org/10.3390/ijerph19095020

Academic Editor: Paul B. Tchounwou

Received: 5 March 2022
Accepted: 14 April 2022
Published: 20 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract: Background: The diagnosis of celiac disease (CD) has been substantially improved with the availability of highly sensitive CD-specific IgA-TG2, Ig-GDP, and IgA-EMA. The European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) published (2012) and updated (2020) diagnostic criteria for CD in order to simplify CD diagnosis and to avoid biopsies in selected patients. Methods: A prospective study including 5641 pediatric patients (0–16 years old) from January 2012 to January 2019 was performed. CD diagnosis was made according to the ESPGHAN algorithm. The objective of this study was to evaluate the utility of biomarkers and the relationship between TGA-IgA and EMA titers. Results: CD diagnoses were confirmed in 113 patients, 110 were IgA-TG2-positive and 3 (2.7%) had IgA deficiency. The diagnosis was made by serologic tests in 95 (84.1%) patients. Only 18 (15.9%) patients underwent intestinal biopsy. We obtained 100% concordance between IgA-EMA and positive results for IgA-TG2 ≥ 10 ULN with IgA-EMA antibody titer ≥1:80. Conclusions: This study provides evidence of a positive correlation between IgA-TG2 antibody serum levels and IgA-EMA. The diagnosis could be guaranteed with strict application of IgA-TG2 values ≥10 ULN (confirmed by subsequent testing) plus the serological response to the gluten-free diet (GFD).

Keywords: non-invasive biomarkers; celiac disease; ESPGHAN; diagnosis; antibodies; pediatric age

1. Introduction

Celiac disease (CD) is considered one of the most common lifelong food-related disorders. This is an immune-mediated systemic disease triggered by gluten exposure with multifaceted clinical presentations such as gastrointestinal and/or extra-intestinal manifestations, CD-specific antibodies, and enteropathy, whose only effective treatment is a lifelong gluten-free diet (GFD) [1,2].

The diagnosis of the disease has been substantially improved with the availability of highly sensitive CD-specific tissue transglutaminase type 2 antibodies (IgA-TG2), IgG

antibodies against deamidated gliadin peptides (IgG-DGP), and IgA anti-endomysial antibodies (IgA-EMA) [3,4], with correlations between severe atrophy of the duodenal villus and elevated IgA-TG2 and IgA-EMA titers [5–9].

One of the most important events of the last few years was the publication of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease in 2012 [10]. These guidelines were focused on simplifying CD diagnosis and avoiding biopsy in selected patients. It was recommended that children and adolescents with CD-suggestive symptoms and IgA-TG2 ≥10 times the upper limit of normal (ULN) confirmed by IgA-EMA positivity, in a second serological test, as well as positivity for human leukocyte antigen (HLA) DQ2 or DQ8 haplotype, should be diagnosed without small bowel biopsy (SBB). In any case, the diagnosis had to be confirmed by serologic normalization after a GFD. Recently, the updated and expanded evidence-based guidelines were published [11].

After the publication of the 2012 ESPGHAN Guidelines, our research group started a study aiming to apply its guidelines in a wide pediatric population with suspected CD, from northwest Spain. Our objectives were: (a) to analyze the role of biochemical and genetic serological markers in order to reduce the number of biopsies performed, and (b) to establish serological outcomes after 2 years of a GFD.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Subjects

We performed a prospective study on all newly diagnosed cases of childhood CD, according to the 2012 ESPGHAN algorithm, from January 2012 to January 2019.

In total, 5641 pediatric patients (0–16 years old) with manifestations of suspected CD or individuals who were still asymptomatic but at elevated risk of CD were studied. All the patients were referred to the Clinical Laboratory Service (University Hospital Lucus Augusti) by a pediatric gastroenterologist or by Galician Healthcare Service (SERGAS) community health centers in order to confirm the CD diagnosis. Pediatric patients were followed for up to 2 years.

2.2. Serological CD Diagnosis

All serological tests performed are accredited by the UNE-EN-ISO 15,189 standards for clinical laboratories (accreditation May 2011; reaccreditation 2013, 2015, 2017, 2019, and 2020).

At first, for symptomatic children [10], we determined the total IgA levels and IgA-TG2 antibodies. The decision to use IgA-TG2 as the first step was based on the high sensitivity and specificity of the test, its broad availability, and its low cost [10,11].

Since the possibility of false negatives for IgA-TG2 in children < 4 years old is known (10), as additional evidence, we determined the IgG-GDP. In these cases, our choice was based on several reasons, namely that in some cases, it is the first marker to be positivized [12], as well as its availability in our laboratory and its low cost.

All serum samples were analyzed for total serum IgA using BNII nephelometry according to the manufacturer's recommendations (Siemens BNII, Oststeinbek, Germany).

In the case of patients with selective IgA deficiency, we determined the IgG-GDP as the first step, and performed at least one additional IgG class test (anti IgG-TG2 and IgG-EMA). If these tests were positive, these patients were scheduled for biopsy.

IgA deficiency was determined according to age as follows: in patients aged <4 years old, it was calculated from a linear curve of pediatric IgA values [13], and for those aged ≥4 years, it was calculated according reference values (70 mg/dL) and manufacturer's guidelines.

Samples from each of the patients were tested for CD diagnosis by antibodies against IgA-TG2 (human recombinant transglutaminase, EliA Celikey IgA Kit ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) and IgG-DGP (human IgG antibodies, EliA IgG conjugate)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

by means of an enzyme-linked immunosorbent assay (EliA). Both tests were performed with the automated fluoroenzyme INMUNOCAP 250 instrument (Thermo Fisher Scientific) in accordance with the manufacturer´s instructions.

For anti IgA-TG2, the results were considered to be positive and negative at IgA-TG2 >8 U/mL or <2 U/mL, respectively. Between 2 and 8 (U/mL), considered to be a grey zone, a follow-up test was established. These biological intervals were established by clinical consensus in our pediatric Spanish population based on previous studies [1,14].

Antibody levels were calculated in units per milliliter using a 6-parameter standard curve, as provided by the manufacturer (range between 0 and 128 U/mL), and we calculated the exact value of IgA-TG2 if the antibody concentrations were above the measurement range. The sera were serially diluted, and the values were corrected by the dilution factor.

The pipettes used for the dilutions followed ENAC´s metrological traceability policy to ensure the validity of the results, and were verified and calibrated in compliance with ISO 8655 standards, which was carried out by a laboratory accredited by AENOR and ENAC for ISO 17025.

For antibodies against synthetic IgG-DGP, the results were reported as units, where values <7 U/mL (manufacturer's guidelines) were considered to be normal. IgA-TG2 and IgG-DGP were tested in one step in children under 4 years of age or in the case of children ≥4 years old with IgA deficiency.

IgA-EMA testing was performed by indirect immunofluorescence (IFI) (AESKU slides, AESKU-Diagnostics, Wendelsheim, Germany) that used sections of distal monkey esophagus as a substrate. EMA assays were read by 2 experienced observers. A titer of 1:10 was reported to be the threshold for positivity, as established by the manufacturer, and positive samples were serially diluted from titers of 1:10 to 1:2560. IgA-EMA antibodies were measured in all samples with IgA-TG2 values > 2 U/mL.

Positive and negative control samples were analyzed in each run, and the laboratory had successful participation in interlaboratory comparison programs for analysis and interpretation of the results: UK NEKAS (SEQC) United Kingdom and the Quality Club (ThermoFisher, Friburgo, Germany).

2.3. *Genotyping*

HLA genotyping was performed using the single specific primer polymerase chain reaction (SSPPCR) DQ kits DQA1*05, DQB1*02, DQA1*0301, DQB1*0302, DQA1*0505, DQB1*0202for detecting the DQ2.5, DQ2.2, and DQ8 haplotypes (Celiacstrip HLA DQ2DQ8 OPERON, Inmuno and Molecular Diagnostics, Zaragoza, Spain).

2.4. *Histopathological Evaluation of Intestinal Mucosa*

Intestinal biopsies were obtained from all patients who did not meet the minimum ESPGHAN criteria for avoiding biopsy. At least 4 endoscopy biopsy samples of each patient, including two samples from the bulbus, were taken. Lesions were graded according to the Marsh–Oberhuber classification [15] by an experienced pathologist.

2.5. *CD Follow-Up*

Patients were followed from the time of diagnosis for 24 months. At follow-up, clinical and IgA-TG2 evaluations were made.

2.6. *Ethical Considerations*

The study followed the ethical guidelines given in the Declaration of Helsinki, and the institutional review board approved the study protocol, registered as code number 2019/098. The data analyzed in this study have been handled in accordance with current legislation and the procedures established by the ethics commission to ensure the

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

protection of personal data in accordance with the General Data Protection Regulation (Regulation (EU) 2016/679) and Organic Law 3/2018.

2.7. *Statistical Analysis*

The data are summarized with absolute and relative frequencies. The non-normality of the data led us to use synthesis statistics such as the median and interquartile ranges. A non-parametric test (Kruskal–Wallis) was used to compare EMA and IgA-TG2 median by age groups. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. The calculations were carried out with SPSS 22.0.

3. Results

The flowchart (Figure 1) shows the results of applying the 2012 ESPGAN criteria to the whole cohort.

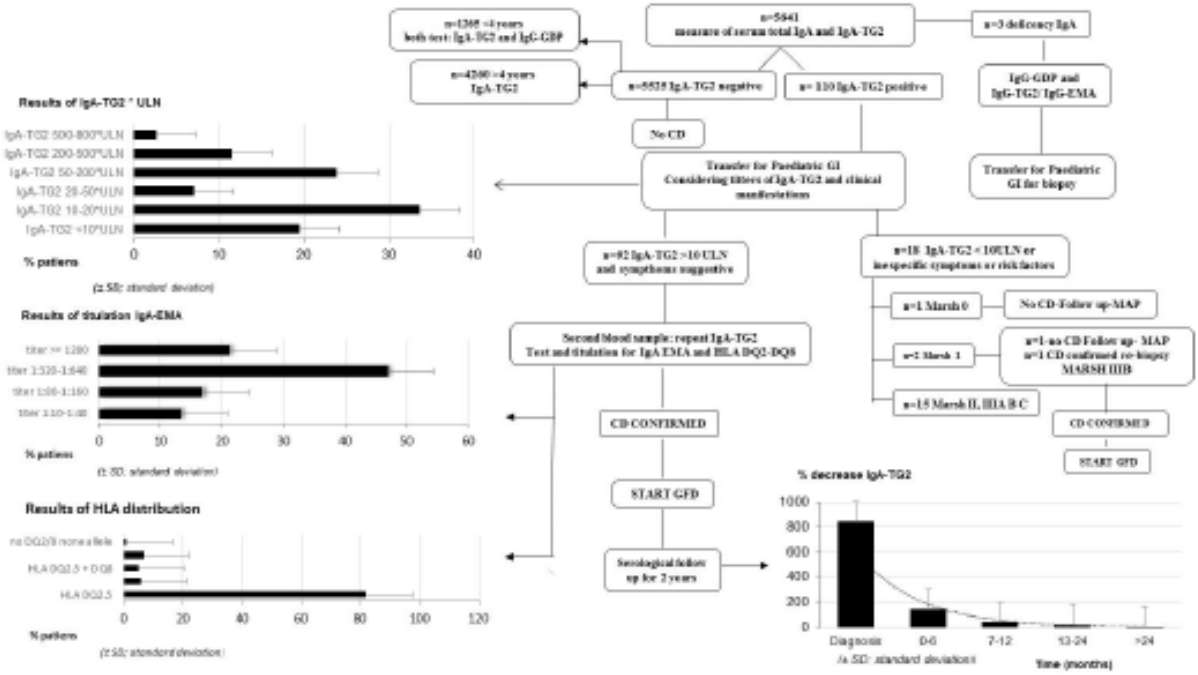


Figure 1. CD diagnosis process with main results. Abbreviations: CD, celiac disease; ESPGHAN, European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition; GFD, gluten-free diet; GI, gastroenterologist; HLA, human leukocyte antigen; IgA, immunoglobulin A; IgA-EMA, IgA anti-endomysial antibodies; IgA-TG2, IgA antibodies against tissue transglutaminase Type 2; IgG, immunoglobulin G; IgG-GDP, IgG antibodies against deamidated gliadin peptides; PAD, primary attention doctor; ULN, upper limit of normal.

A diagnosis of CD was confirmed in 113 patients (5.72 ± 4.62 years old; 53% boys and 47% girls) from 5641 patients with suspected CD. Confirmation of the diagnosis was made by serologic tests in most patients.

Small bowel biopsy (SBB) was omitted in 84.1% of the symptomatic patients with CD.

Regarding clinical presentation, most patients (61.95%) presented with classical intestinal manifestations. With respect to extra-intestinal manifestations, iron deficiency microcytic anemia was the most frequent (25.66%). CD was confirmed in 9.74% of patients with risk factors (CD in a first-degree family member, Type I diabetes, autoimmune thyroid disease, and autism) (Table 1).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1. Clinical onset and risk factors of CD.

		Nº Cases	Percentage of Cases
		70	61.95
Clinical symptoms	Chronic or intermitent diarrhea *, weight loss, and/or growth failure * (Classic Triad)		
	Gastrointestinal symptoms *	35	30.97
	Recurrent abdominal pain, vomiting, chronic, or recurrent constipation		
	Extraintestinal symptoms		
	Chronic iron deficency, anaemia *	29	25.66
	Subclinical hypothyroidism	2	1.77
	Arthritis/arthralgia	1	0.88
	Irritability, chronic fatigue	5	4.42
	Neuropaty, TDHA	2	1.77
	Arthritis/arthralgia	2	1.77
	Recurrent aphthous	1	0.88
	Oligo symtomatic or subclinical	6	5.31
Risk factors	CD first-degree family member	5	4.42
	Type I diabetes mellitus	1	0.88
	Autism	1	0.88
	IgA deficiency	3	2.65
	Autoinmunity thyroid disease	1	0.88

* Common symptoms.

3.1. Serological CD Diagnosis

With respect to the serological results, it was highlighted that:

- 100% of pediatric patients for whom IgA-TG2 ≥ 10 ULN (80.53%) were IgA-EMA-positive.
- Furthermore, we observed a positive correlation between IgA-TG2 titers ≥ 10 ULN and strong EMA positivity ($p < 0.001$), as shown in Figure 2. Above an average value of ≥10 ULN (80 U/mL) of IgA-TG2, the IgA-EMA titer was greater than 1:80, even in asymptomatic patients with extra-intestinal symptoms or belonging to the at-risk group.
- We found a negative correlation between age and IgA-TG2 ($p < 0.001$), with higher values in children aged <3 years old (Figure 3).

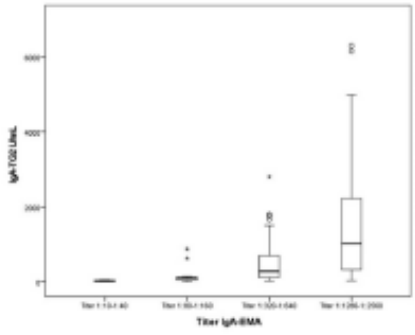


Figure 2. Relationship between IgA-TG2 and EMA titers. A non-parametric test comparing the medians among four groups of EMA. $p < 0.001$. Abbreviations: IgA-EMA, IgA anti-endomysial antibodies; IgA-TG2, IgA antibodies against tissue transglutaminase Type 2. ° Outliers are values

between the IORs and three IORs from the end of a box. * Values more than three IORs from the end of a box.

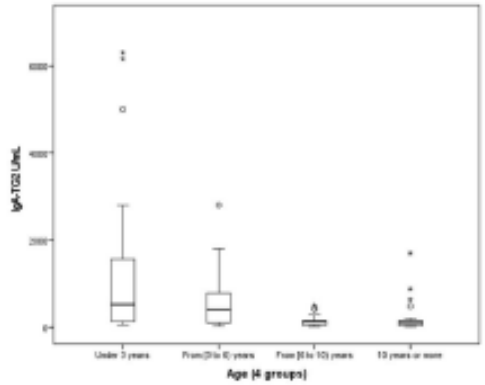


Figure 3. Relationship between age and IgA-TG2. Abbreviations: IgA-TG2, IgA antibodies against tissue transglutaminase Type 2. °, Outliers are values between IORs and three IORs from the end of a box. * Values more than three IORs from the end of a box.

3.2. *Genotyping*

On the other hand, 105 (92.96%) patients were tested for HLA. Of the patients 82.9% carried HLA-DQ2.5 encoded by the DQA1*05 (alpha chain) and the DQB1*02 (beta chain) genes (Figure 1).

3.3. *Histopathological Evaluation of Intestinal Mucosa*

Biopsies were needed in 15.9% of patients (Figure 1). Of these, six had confirmed CD and two did not have CD. Most CD patients (72.1%) had villous atrophy Marsh III. The values of IgA-TG2 in patients who avoided biopsy are shown in Figure 4.

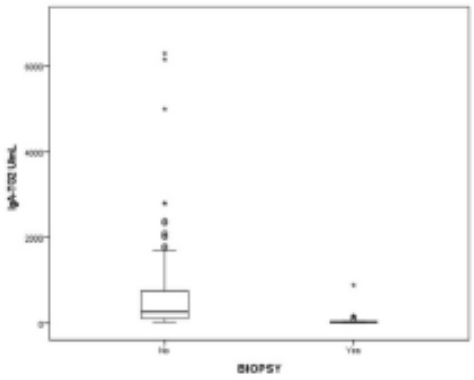


Figure 4. Values of IgA-TG2 (U/mL) in patients who avoided biopsy or underwent it. Abbreviations: IgA-TG2, antibodies against tissue transglutaminase Type 2. °, Outliers are values between IORs and three IORs from the end of a box. * Values more than three IORs from the end of a box.

3.4. *Serologic Response to a GFD*

All symptomatic patients had clinical and serological improvements after a GFD, showing decreasing titers of IgA-TG2 over time, with the highest decrease at 6 months of the GFD. After 24 months of follow-up, 95.5% of patients showed negative IgA-TG2 titers (Figure 1), but 4.5% patients who did not improve showed voluntary and involuntary dietary transgression.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4. Discussion

Optimizing CD diagnostics requires continuous investigation [2]. Some studies have considered IgA-TG2 as a good alternative to IgA-EMA [7,16]. IgA-TG2 is the first-line recommended serologic test for CD screening in individuals aged >2 years, with high specificity and sensitivity (above 95%) [3,17]. High levels of IgA-TG2 (≥ 10 ULN (upper linearity limit)) are a reliable and accurate test for diagnosing CD [10]. In agreement with these aspects, we used the IgA-TG2 test as first-line serologic test, obtaining the results previously cited. In our study, at IgA-TG2 ≥ 10 ULN (upper linearity limit), we performed serial dilutions and we obtained quantifications of very high values of IgA-TG2 (our range in the study was 0.1–6300 U/mL). The use of this dilution technique has been useful in the diagnosis and follow-up of patients, as described below:

- According to the literature [10,11,18,19], we used IgA-EMA as a confirmatory test. Our results showed that IgA-EMA levels were significantly correlated with IgA-TG2 when the levels are ≥10 ULN.
- IgA-TG2 is the most widely used method for monitoring dietary adherence [20,21]. We verified that it was normalized in all patients on follow-up.
- This biomarker measured with this precision provides information on CD and gives us greater a guarantee in the follow-up of the response to the GFD, with a minimum cost.

We have no knowledge of studies that have provided IgA-TG2 titers with this accuracy. We think that the correct dilution provides a safety measure in diagnosis and follow-up, and allows us to exactly know the serological response to the GFD.

In IgA-sufficient patients, IgA-TG2 is the most predictive and reproducible single test. In the case of pediatric patients <2 years old, who had IgA levels physiologically low), we used both IgA-TG2 and IgG-GPD; using the recommendations of previous studies [10,12,22].

The ESPGHAN guidelines were proposed to avoid biopsies without affecting diagnostic accuracy [10,11]. In our study, 5641 pediatric patients with suspected CD were enrolled. CD was confirmed in 113 patients, without SBB in most patients (84.1%). These biopsy-sparing data are higher compared with those of previous reports. Worldwide, there are some studies, both retrospective [19, 23–26] and prospective [4, 27–32]. According to the first one, the rate of biopsies avoided varies from 52% (26) to 77.4% [24]. Regarding later studies, Samarazo et al. concluded that CD diagnosis still relies on SBB when tests are not available [29]. Our data on avoided biopsies are higher because our laboratory has easy access to reliable serologic testing for EMA and genetic tests.

If we consider that biopsy represents invasive and expensive surgical procedure [4] and that the mean age at CD diagnosis is 4 years old [29], biopsies should be reduced as much as possible. In our study, the mean age was 5 years. On the other hand, 41.6% of all pediatric patients are <4 years, so avoiding biopsies could reduce the morbidity of this procedure and additionally reduce costs. Another aspect we should take into consideration is that the younger the patient is, the deeper the sedation we have to use for performing an intestinal biopsy, including general anesthesia [33].

IgA EMA is used as a confirmatory test [17,34]. Recent studies have shown that EMA should not be routinely tested in screening (alone or with IgA-TG2) but should only be used as a confirmatory test in case of an uncertain diagnosis (weak positivity in high-risk populations) [35]. Mursh et al. [16], in the ESPGHAN guidelines, proposed that if EMA antibody testing is not locally available, a second positive IgA-TG2 antibody may be substituted and the serum saved for later EMA testing. In a prospective study, Mubarak concluded that SBB is not necessary for a diagnosis of CD in symptomatic patients with IgA-TG2 ≥100 U/mL [36].

In our study, we verified that IgA-EMA levels are significantly correlated with IgA-TG2 when they exceed ≥10 ULN. Furthermore, in our study, quantitative IgA-TG2 was compared with IgA-EMA. When IgA-TG2 was above the detection threshold, as a result,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

we obtained a significant correlation between both levels. Thus, when IgA-TG2 is ≥10 ULN, IgA-EMA is not necessary. To our knowledge, this is the first study to offer such data (an IgA-TG2 range of 0.1–6200 U/mL and IgA-EMA titers from 1:10 to 1:2560) as a possible simplification of the ESPGHAN criteria. This aspect is of special interest because:

- Not all countries have the necessary resources and facilities to analyze IgA-EMA. One study performed in 13 Mediterranean countries (western and eastern WHO regions, including Spain) [29] enrolled 1974 pediatric patients and confirmed CD in 25.9% of them. Nevertheless, only 14 patients were diagnosed of CD by the 2012 ESPGHAN guidelines. In that study, 40 Spanish pediatric patients were screened for CD and only three patients could be diagnosed by the ESPGHAN criteria.
- The IgA-EMA test is relatively expensive and requires experienced observers for microscopic evaluation, with potential inter-observer variation.
- IgA-EMA is detected on monkey esophagus by immunofluorescence, which raises ethical concerns related to the use of endangered species as a substrate.

We have also linked the values of IgA-TG2 with the titers IgA-EMA values. This has been shown to have a specificity of nearly 100% for the diagnosis of CD. False positives for anti-IgA-TG2 normally display a low antibody titer (less than twice the cut-off) [1]. Gidrewicz et al. [19] highlighted the strength of EMA testing in low IgA-TG2 titers; these authors said that EMA testing improves the PPV when the IgA-TG2 is low or moderately elevated, and concluded that an EMA ≥1:80 achieved 100% PPV [19]. A positive EMA result as a mandatory criterion for the no-biopsy approach is still being debated. Moreover, Husby considered that in IgA-sufficient patients, IgA-TG2 is the most predictive and reproducible single test [10], although IgA EMA performs similarly well in some expert laboratories and is used as a confirmatory test. These observations are related to our results that show a 100% concordance between the EMA titer and the IgA-TG2 values measured on quantitative and qualitative value scales.

This study provides evidence of a positive correlation between IgA-TG2 antibody serum levels and IgA-EMA. We obtained 100% concordance between IgA-TG2 ≥ 10 ULN and positive results for IgA-EMA; furthermore, we have observed a correlation between the quantitative values of IgA-TG2 U/mL and IgA-EMA antibody titers ($p < 0.001$; Figure 2). If EMA testing was not available a diagnosis could be guaranteed by both IgA-TG2 values ≥ 10 ULN (on second test) and serological tests after GFD. It is possible to use IgA-TG2 as a marker in two different samples, and we suggest that IgA- EMA would be required only for patients with lower titers or discordant antibody results.

Husby et al. [34], in the recommendations of the American Gastroenterological Association (AGA), suggested that HLA-DQ2/DQ8 determination has a limited role in the diagnosis of CD. Its value is largely related to its negative predictive value to rule out CD in patients who are seronegative. Werkstetter [4], in a large prospective study with 645 patients, concluded that is not required for an accurate diagnosis. Clouzeau-Girard et al. [37] showed that determination of the HLA-DQ2 and HLA-DQ8 status can be used to support the diagnosis of CD, but it is not an essential condition to confirm a diagnosis. CD is unlikely when HLA is negative. Gidrewicz et al. [19], in a study with 775 patients with positive IgA-TG2, showed that genetic susceptibility testing is not helpful for identifying false positive patients.

The ESPGHAN guidelines of 2012 included testing HLA-DQ2/DQ8 for a no-biopsy diagnosis, but the new ESPGHAN 2020 recommendations suggested that HLA typing is not required in patients with positive IgA-TG2 (≥10 ULN) with a confirmation of being IgA-EMA-positive. We studied 105 cases of 113 patients enrolled in our study, and seven of them had no DQ2/DQ8, five had one of the two alleles, but two (a girl and a boy) did not have any risk alleles; however the values of IgA-TG2 were high, especially in one of them, who had 77 * ULN (620 U/mL) and presented both classical symptoms and a response to the GFD. The family rejected the biopsy due to clinical and serological improvement.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Laboratory tests and biochemical evaluation are crucial to verify the accuracy of the diagnosis. A key issue in the follow-up is the usefulness of serology and whether a decline in antibody levels is sufficient evidence for proper management [37]. Patients should be monitored regularly to check the normalization of antibody determination and clinical normalization [22]. Children should be followed up after 4–6 months from diagnosis and then every year to check symptomatic improvement, adherence to the GFD, quality of life, and progressive normalization of CD-related antibodies [1]. How long it takes for antibody titers to normalize depends on the initial level, although it is generally achieved within 6–12 months after starting the gluten-free diet [21].

IgA-TG2 is the main marker for diagnosis and follow-up of a response to GFD. We consider it important to give the exact quantitative result, especially in children whose debut levels of this marker are often very high; after dilution, we can obtain the exact value needed to verify that the diet has been properly well applied. We have found that the concentration of IgA-TG2 decreases rapidly after establishment of the GFD, with a decrease of more than 60% compared with the initial values. However, 30% of children, who presented with very high concentrations at diagnosis, had values above the upper linearity limit (>128 U/mL). Therefore, we highlight the use of the exact values in diagnosis in order to be certain of the decrease in values, especially in less oligosymptomatic or subclinical cases.

We observed that children showed an adequate adherence to the GFD and showed decreasing celiac antibody levels.

In this study, it was shown that 95/95 patients with IgA-TG2 ≥ 10 ULN suffered from CD (VPP 100%). In all cases, IgA-EMA antibodies were positive and their titers were directly proportional to the value of ULN. All the patients were confirmed to have normalization of the values after the GFD. Therefore, we consider this test to be redundant in these cases, and it would be preferable for confirmation in cases with values less than 10 ≥ ULN.

In this study, with a large sample in relation to the studies by other authors, we have verified that further simplifications of the ESPGHAN guidelines might be made.

5. Conclusions

The chance of avoiding a small intestinal biopsy and EMA test is based on the strength of the correlation between the IgA-TG2 and the stage of mucosal damage. These aspects overcome the disadvantages of biopsy in pediatric patients (invasive technique) and of the IgA-EMA test (cost, not sustainable).

Author Contributions: Conceptualization, J.M.C.d.R. and M.J.N.I.; methodology, J.M.C.d.R., M.J.N.I., and A.D.D.; software, J.M.C.d.R.; validation, J.M.C.d.R.; formal analysis, J.M.C.d.R., M.J.N.I., and A.D.D.; investigation, J.M.C.d.R., M.J.N.I.; S.N.M., M.F.-G.N., T.Á.F., and C.G.-P.G.; resources, J.M.C.d.R. and M.J.N.I.; data curation, J.M.C.d.R.; writing—original draft preparation, J.M.C.d.R. and M.J.N.I.; writing—review and editing, J.M.C.d.R., M.J.N.I., S.N.M., M.F.-G.N., T.Á.F., C.G.-P.G., J.P.C., N.V.M., and M.P.P.; visualization, J.M.C.d.R., M.J.N.I., S.N.M., M.F.-G.N., T.Á.F., M.P.P., N.V.M., L.M.S., and C.G.-P.G.; supervision, J.M.C.d.R., M.J.N.I., S.N.M., M.F.-G.N., T.Á.F., C.G.-P.G., and N.V.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study followed the ethical guidelines given by the Declaration of Helsinki, and the institutional review board (Galician Research Ethics Committee) approved the study protocol, registered as code number 2019/098. The data analyzed in this study have been handled in accordance with current legislation and the procedures established by the ethics commission to ensure the protection of personal data in accordance with the General Data Protection Regulation (Regulation (EU) 2016/679) and Organic Law 3/2018.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Informed Consent Statement: All the data obtained were pseudonymized with an express commitment to confidentiality and a technical and functional separation between the research team and those who performed the pseudonymization. In addition, specific security measures were adopted to prevent re-identification and access by unauthorized third parties.

Data Availability Statement: Restrictions apply to the availability of these data (3rd party data).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Caio, G.; Volta, U.; Sapone, A.; Leffler, D.A.; De Giorgio, R.; Catassi, C.; Fasano, A. Celiac disease: A comprehensive current review. *BMC Med.* **2019**, *17*, 142. https://. https://doi.org/10.1186/s12916-019-1380-z.
2. Lindfors, K.; Ciacci, C.; Kurppa, K.; Lundin, K.E.A.; Makharia, G.K.; Mearin, M.L.; Murray, J.A.; Verdu, E.F.; Kaukinen, K. Coeliac disease. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2019**, *5*, 3. https://doi.org/10.1038/s41572-018-0054-z.
3. Green, P.; Lebwohl, B.; Greywoode, R. Celiac disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2015**, *135*, 1099–1106. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.01.044.
4. Werkstetter, K.J.; Korponay-Szabó, I.R.; Popp, A.; Villanacci, V.; Salemme, M.; Heilig, G.; Lillevang, S.T.; Mearin, M.L.; Ribes-Koninckx, C.; Thomas, A.; et al. Accuracy in diagnosis of celiac disease without biopsies in clinical practice. *Gastroenterology* **2017**, *153*, 924–935. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.06.002.
5. Saginur, M.; Alrefaee, F.A.; Spady, D.W.; Girgis, S.A.; Huynh, H.Q.; Prosser, C.I.; Persad, R.; Turner, J.M. Antitissue transglutaminase antibody determination versus upper endoscopic bi-opsy diagnosis of paediatric celiac disease. *Paediatr. Child Health* **2013**, *18*, 246–250. https://doi.org/10.1093/pch/18.5.246.
6. Bonamico, M.; Thanasi, E.; Mariani, P.; Nenna, R.; Luparia, R.P.L.; Barbera, C.; Morra, I.; Lerro, P.; Guariso, G.; De Giacomo, C.; et al. Duodenal bulb biopsies in celiac disease: A multicenter study. *J. Pediatr. Gas-troenterol. Nutr.* **2008**, *47*, 618–622. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181677d6e.
7. Dahlbom, I.; Korponay-Szabó, I.R.; Kovács, J.B.; Szalai, Z.; Mäki, M.; Hansson, T. Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2010**, *50*, 140–146. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181a81384.
8. Mubarak, A.; Wolters, V.M.; Gerritsen, S.M.; Gmelig-Meyling, F.H.J.; Ten Kate, F.J.W.; Houwen, R.H.J. A biopsy is not always necessary to diagnose celiac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2011**, *52*, 554–557. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181ef8e50.
9. Alessio, M.G.; Tonutti, E.; Brusca, I.; Radice, A.; Licini, L.; Sonzogni, A.; Florena, A.; Schiaffino, E.; Marus, W.; Sulfaro, S.; et al. Cor-relation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2012**, *55*, 44–49. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3182470249.
10. Husby, S.; Koletzko, S.; Korponay-Szabó, I.R.; Mearin, M.L.; Phillips, A.; Shamir, R.; Troncone, R.; Giersiepen, K.; Branski, D.; Catassi, C.; et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutri-tion Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2012**, *54*, 136–160. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0.
11. Husby, S.; Koletzko, S.; Korponay-Szabó, I.; Kurppa, K.; Mearin, M.L.; Ribes-Koninckx, C.; Shamir, R.; Troncone, R.; Auricchio, R.; Castillejo, G.; et al. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2020**, *70*, 141–157. https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002497.
12. Arigliani, M.; Morassutti, F.R.; Fabris, M.; Melli, P.; Tonutti, E.; Cogo, P. Coeliac disease in infants: Antibodies to deaminated gliadin peptide come first! *Ital. J. Pediatr.* **2017**, *43*, 70. https://doi.org/10.1186/s13052-017-0392-6.
13. Kleinman, K.; McDaniel, L.; Molloy, M. *Manual Harriet Lane de pediatría. The Johns Hopkins Hospital*, 22nd ed.; Elsevier Colección: Amsterdam, The Netherlands, 2021; 1146p.
14. García Novo, M.D.; Garfia, C.; Acuña Quirós, M.D.; Asensio, J.; Zancada, G.; Barrio Gutiérrez, S.; Manzanares, J.; Solís-Herruzo, J.A. Prevalencia de la enfermedad celiaca en donantes de sangre de la Comunidad de Madrid. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* **2007**, *99*, 337–342. https://doi.org/10.4321/s1130-01082007000600006.
15. Oberhuber, G.; Granditsch, G.; Vogelsang, H. The histopathology of coeliac disease: Time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **1999**, *11*, 1185–1194. https://doi.org/10.1097/00042737-199910000-00019.
16. Murch, S.; Jenkins, H.; Auth, M.; Bremner, R.; Butt, A.; France, S.; Furman, M.; Gillett, P.; Kiparissi, F.; Lawson, M.; et al. Joint BSPGHAN and Coelic UK guidelines for the diagnosis and management of coeliac disease in children. *Arch. Dis. Child.* **2013**, *98*, 806–811. https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-303996.
17. Van der Windt, D.A.; Jellema, P.; Mulder, C.J.; Kneepkens, C.M.; van der Horst, H.E. Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symp-toms: A systematic review. *JAMA* **2010**, *303*, 1738–1746. https://doi.org/10.1001/jama.2010.549.
18. Rubio-Tapia, A.; Ludvigsson, J.; Brantner, T.; Murray, J.; Everhart, J. The Prevalence of celiac disease in the United States American. *Am. J. Gastroenterol.* **2012**, *107*, 1538–1544. https://doi.org/10.1038/ajg.2012.219.
19. Gidrewicz, D.; Potter, K.; Trevenen, C.L.; Lyon, M.; Butzner, J.D. Evaluation of the ESPGHAN celiac guidelines in a North American pediatric population. *Am. J. Gastroenterol.* **2015**, *110*, 760–767. https://doi.org/10.1038/ajg.2015.87.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

20. Ludvigsson, J.F.; Ciacci, C.; Green, P.H.; Kaukinen, K.; Korponay-Szabo, I.R.; Kurppa, K.; Murray, J.A.; Lundin, K.E.A.; Maki, M.J.; Popp, A.; et al. Outcome measures in coeliac disease trials: The Tampere recom-mendations. *Gut* **2018**, *67*, 1410–1424. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314853.
21. Kelly, C.P.; Bai, J.C.; Liu, E.; Leffler, D.A. Advances in diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* **2015**, *148*, 1175–1186. doi: 10.1053/j.gastro.2015.01.044.
22. Grupo de trabajo del protocolo para el diagnóstico precoz de la enferme-dad celiaca. *Protocolo para el Diagnóstico Precoz de la Enfermedad Celíaca*; Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad: Madrid, Spain; Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS): Canary Islands, Spain, 2018.
23. Schirru, E.; Danjou, F.; Cicotto, L.; Rossino, R.; Macis, M.D.; Lampis, R.; Jores, R.-D.; Congia, M. Anti-actin IgA antibodies identify celiac disease patients with a Marsh 3 intestinal damage among subjects with moderate anti-TG2 levels. *Biomed. Res. Int.* **2013**, *2013*, 630463. https://doi.org/10.1155/2013/630463.
24. Klapp, G.; Masip, E.; Bolonio, M.; Donat, E.; Polo, B.; Ramos, D.; Ribes-Koninckx, C. Celiac dis-ease: The new proposed ESPGHAN diagnostic criteria do work well in a selected population. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2013**, *56*, 251–256. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318279887b.
25. Ucci, F.; Astarita, L.; Abkari, A.; Abu-Zekry, M.; Attard, T.; Ben Hariz, M.; Bilbao, J.R.; Boudraa, G.; Boukthir, S.; Costa, S.; et al. Celiac Disease in the Mediterranean Area. *BMC Gastroenterol.* **2014**, *14*, 24. https://doi.org/10.1186/1471-230X-14-24.
26. Donat, E.; Ramos, J.M.; Sánchez-Valverde, F.; Moreno, A.; Martinez, M.-J.; Leis, R.; Peña-Quintana, L.; Castillejo, G.; Fernández, S.F.; Garcia, Z.; et al. ESPGHAN 2012 Guidelines for Coeliac Disease Diagnosis: Validation Through a Retrospective Spanish Multicentric Study. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2016**, *62*, 284–291. https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000870.
27. Hopper, A.D.; Cross, S.; Hurlstone, D.P.; McAlindon, M.E.; Lobo, A.J.; Hadjivassiliou, M.; Sloan, M.E.; Dixon, S.; Sanders, D.S. Preendoscopy serological testing for coeliac disease: Evaluation of a clinical decision tool. *BMJ* **2007**, *334*, 729. https://doi.org/10.1136/bmj.39133.668681.BE.
28. Sugai, E.; Moreno, M.L.; Hwang, H.J.; Cabanne, A.; Crivelli, A.; Nachman, F.; Vázquez, H.; Niveloni, S.; Argonz, J.; Mazure, R.; et al. Celiac disease serology in patients with different pretest probabilities: Is biopsy avoidable? *World J. Gastroenterol.* **2010**, *16*, 3144–3152. https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i25.3144.
29. Smarrazzo, A.; Misak, Z.; Costa, S.; Mičetić-Turk, D.; Abu-Zekry, M.; Kansu, A.; Abkari, A.; Bouziane-Nedjadi, K.; Ben Hariz, M.; Roma, E.; et al. Diagnosis of celiac disease and applicability of ESPGHAN guidelines in Mediterranean countries: A real life prospective study. *BMC Gastroenterol.* **2017**, *17*, 17. https://doi.org/10.1186/s12876-017-0577-x.
30. Wolf, J.; Petroff, D.; Richter, T.; Auth, M.K.; Uhlig, H.H.; Laass, M.W.; Lauenstein, P.; Krahl, A.; Händel, N.; de Laffolie, J.; et al. Validation of antibody-based strategies for diagnosis of pediatric celiac disease without biopsy. *Gastroenterology* **2017**, *153*, 410–419. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.02.
31. Oyaert, M.; Vermeersch, P.; De Hertogh, G.; Hiele, M.; Vandeputte, N.; Hoffman, I.; Bossuyt, X. Combining antibody tests and taking into account antibody levels improves serologic diagnosis of celiac disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2015**, *53*, 1537–1546. https://doi.org/10.1515/cclm-2013-1099.
32. Panetta, F.; Torre, G.; Colistro, F.; Ferretti, F.; Daniele, A.; Diamanti, A. Clinical accuracy of anti-tissue transglutaminase as screening test for celiac disease under 2 years. *Acta Paediatr.* **2011**, *100*, 728–731. https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.02124.x.
33. Giersiepen, K.; Lelgemann, M.; Stuhldreher, N.; Ronfani, L.; Husby, S.; Koletzko, S.; Korponay-Szabó, I.R. ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: Summary of an evidence report. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2012**, *54*, 229–241. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318216f2e5.
34. Husby, S.; Murray, J.A.; Katzka, D.A. AGA Clinical practice update on diagnosis and monitoring of celiac disease: Changing utility of serology and histologic measures: Expert review. *Gastroenterology* 2019, 156, 885–889. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.12.010.
35. Elli, L.; Ferrettia, F.; Orlando, S.; Vecchi, M.; Monguzzia, E.; Roncoronia, L.; Schuppan, D. Management of celiac disease in daily clinical. *Eur. J. Intern. Med.* **2019**, *61*, 15–24. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.11.012.
36. Mubarak, A.; Wolters, V.M.; Gmelig-Meyling, F.H.; Ten Kate, F.J.; Houwen, R.H. Tissue transglutaminase levels above 100U/mL and celiac disease: A prospective study. *World J. Gastroenterol.* **2012**, *18*, 4399–4403. https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i32.4399.
37. Clouzeau-Girard, H.; Rebouissoux, L.; Taupin, J.-L.; Le Bail, B.; Kalach, N.; Mi-Chaud, L.; Dabadie, A.; Olives, J.-P.; Blanco, P.; Morali, A.; et al. HLA-DQ genotyping combined with serological markers for the di-agnosis of celiac disease: Is intestinal biopsy still mandatory? *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2011**, *52*, 729–733. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31820a724d.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO 10.2

International Journal of
Environmental Research and Public Health

MDPI

Article

Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion

Julia María Cabo del Riego [1,2,3,*], María Jesús Núñez-Iglesias [3,4,*], José Paz Carreira [5], Andrés Blanco Hortas [6], Tamara Álvarez Fernández [1], Silvia Novío Mallón [3,4], Sofía Zaera [1] and Manuel Freire-Garabal Núñez [3,7]

[1] Clinical Analysis Laboratory, Department of Immunology, Lucus Augusti University Hospital, 27003 Lugo, Spain
[2] Doctoral Programme in Medicine Clinical Research, International PhD School of the University of Santiago de Compostela (EDIUS), 15782 Santiago de Compostela, Spain
[3] SNLLaboratory, School of Medicine and Dentistry, University of Santiago de Compostela, 15782 A Coruña, Spain
[4] Department of Psiquiatry, Radiology, Public Health, Nursing and Medicine, University of Santiago de Compostela, 15782 A Coruña, Spain
[5] Department of Hematology, Oncology Center of Galicia, 15009 A Coruña, Spain
[6] Health Research Institute Foundation (FIDIS) of Santiago de Compostela, Lucus Augusti University Hospital, 15706 Santiago de Compostela, Spain
[7] Department of Pharmacology, Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain
* Correspondence: julia.maria.cabo.del.riego@sergas.es (J.M.C.d.R.); mjesus.nunez@usc.es (M.J.N.-I.); Tel.: +34-982296213 (J.M.C.d.R.); +34-881812374 (M.J.N.-I.)

check for updates

Citation: Cabo del Riego, J.M.; Núñez-Iglesias, M.J.; Paz Carreira, J.; Blanco Hortas, A.; Álvarez Fernández, T.; Novío Mallón, S.; Zaera, S.; Freire-Garabal Núñez, M. Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2023**, *20*, 66. https://doi.org/10.3390/ijerph20010066

Academic Editors: Ana Isabel Cobo-Cuenca, Juan Manuel Carmona-Torres and José Alberto Laredo-Aguilera

Received: 3 November 2022
Revised: 15 December 2022
Accepted: 16 December 2022
Published: 21 December 2022

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract: Red cell distribution width (RDW) could be of interest by its potential use in the assessment of celiac disorder (CD). The main objective of this study was to evaluate the case positive rate of CD and the utility of red cell distribution width (RDW) in the CD diagnosis. This prospective study included 9.066 middle adult (≥45 years old) and elderly patients (≥60 years old) from 2012 to 2021. CD diagnosis was performed by CD antibody tests (serology and Human Leucocyte Antigen genotype (HLA)) and biopsy. Gastrointestinal and extra-intestinal manifestations as well as hematological and biochemical parameters were analyzed. CD diagnoses were confirmed in 101 patients (median (IQR) age = 62 (52.3–73); 68.32% women) by serologic tests (100%) and intestinal biopsy (88.12%), showing mainly marked or complete atrophy (76.24%, MARSH 3a–c). Anemia was the most commonly presenting extra-intestinal manifestation (28.57%). Among 8975 individuals without CD, 168 age and sex matched were included. By comparison of CD and no CD individuals, we observed that high >14.3% RDW was exhibited by 58.40% and 35.2% individuals with CD and without CD, respectively. Furthermore, high RDW is associated with CD and grade III atrophy. We suggest that RDW could be used as a CD screening criterion.

Keywords: red blood width; celiac disease; onset; diagnosis; adult; elderly

1. Introduction

Celiac Disease (CD) is known to be an autoimmune disease that affects children and young adults. In recent years, its appearance in middle- and late-adulthood has gained interest. It is important to note that a quarter and a fifth of CD is diagnosed at or after the age 60 and 65, respectively [1].

Mention should be made of the fact that the non-specificity of the manifestations in late adulthood may be responsible for not being diagnosed in 60% of patients [1]. Recognizing symptoms and clinical signs of CD, including extra-intestinal ones such as anemia, is an important step.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

Notably, anemia is recorded in up to 50% of newly diagnosed CD. Furthermore, anemia may be the only manifestation of CD [1]. Against this background, it has to be stated that misrecognition of the association of extra-intestinal manifestations such as anemia and CD could delay its diagnosis years [2]. The multifactorial etiology of the high prevalence of anemia in middle and late adulthood can provide a major contribution to under-diagnosed CD [3]. Additionally, there are differences in testing for CD based on age or gender. Thus, young men are the most frequently tested [4].

Of major concern is the increasing incidence of CD among adults and elderly and the CD-related morbidity [1,5]. To this situation is added the fact that anemia is considered a geriatric syndrome [6]; being responsible for morbidity and mortality [6,7]. Likewise, minimally invasive serum screening tests for CD should be recommended in these patients. As part of these screening tests, red blood cell distribution width (RDW) became of particular interest as it is a routine and available test that could be useful in predicting CD [8–10], irrespective of anemia status [8]. Our objectives were to evaluate the case positive rate of CD in middle and late adulthood as well as to identify RDW as a predictive factor of CD and its relationship with diagnosis criteria.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Subjects

Patients were recruited at the Lucus Augusti University Hospital (Galicia, Spain), from January of 2012 to December of 2021. 9066 patients ≥45 years old attended at Galician Healthcare Service (SERGAS) in whom there was a suspicion of CD were referred from primary care physician, geriatrician or gastroenterologist to Laboratory of Immunology at the Lucus Augusti University Hospital in order to confirm CD diagnoses.

2.2. Clinical Evaluation

The CD onset was categorized as gastrointestinal manifestations, extra-intestinal manifestations, and associated disorders (diabetes, autoimmune thyroidal disease, systemic autoimmune disease, etc.) as well as family history of CD [11].

2.3. Celiac Disease Antibody Tests: Serology and Human Leucocyte Antigen Genotype (HLA)

All serological tests performed are accredited by the UNE-EN-ISO 15,189 standards for clinical laboratories (accreditation May 2011; reaccreditation 2013, 2015, 2017, 2019, 2020, and 2021).

Serology and HLA genotype were performed according to the Ministry of Health protocol [12]. At first, we determined serum IgA and Tissue transglutaminase antibody (IgA) (TTG2-IgA). Total serum IgA was analyzed using BNII nephelometry (Siemens BNII, Oststeinbek, Germany). The indicative reference values 70 mg/dL were supplied by the manufacturer's recommendations and guidelines. The EliA Celikey Kit (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) was used to determine serum TTG2-IgA by means of an enzyme-linked immunosorbent assay. Cut-off was >8 U/mL and <2 U/mL for positivity and negativity, respectively. Between 2 and 8 (U/mL), considered to be a grey zone, endomysial antibodies IgA (EMA-IgA) were determined and a follow-up test was established.

In the case of patients who exhibited selective IgA deficiency, the deamidated gliadin peptide antibody (IgG) (DGP-IgG) was determined as the first step (GGP Kit, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Additionally, at least one additional IgG class test (TTG2-IgG and EMA-IgG) was performed. Both tests were done by automated fluoroenzyme INMUNOCAP 250 instrument (Thermo Fisher Scientific) according to the manufacturer's instructions. Positive and negative control samples were analyzed in each run. Our laboratory is involved in inter-laboratory comparison (laboratory quality standards) to ensure the comparability and acceptability of testing results among the laboratories that integrate this program (United Kingdom National External Quality Assessment Scheme (UK NEQAS) and Quality Club (ThermoFisher, Friburgo, Germany)).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

For TTG2-IgA values >2 U/mL EMA-IgA were measured. Serum EMA- IgA titers were measured by indirect immunofluorescence (AESKU slides, AESKU-Diagnostics, Wendelsheim, Germany). EMA assays were read by 2 experienced observers. A dilution 1:10 was considered positive and positive sera was further diluted from 1:10 to 1:2560.

HLA genotyping was performed using the single specific primer polymerase chain reaction (SSPPCR) DQ kits DQA1*05, DQB1*02, DQA1*0301, DQB1*0302, DQA1*0505, DQB1*0202 for detecting the DQ2.5, DQ2.2, and DQ8 haplotypes (Celiacstrip HLA DQ2DQ8 OPERON, Immune and Molecular Diagnostics, Zaragoza, Spain).

2.4. Biochemical and Hematological Laboratory Parameters

All biochemical tests performed are accredited by the UNE-EN-ISO 15,189 standards for clinical laboratories (accreditation 2011; reaccreditation 2013, 2015, 2017, 2019, 2020, and 2021). All tests were performed in accordance with the manufacturer's recommendations. Calibrators were provided as part of the assay (Siemens®) and an external Quality Control (QC) was performed monthly (Spanish Society of Clinical Chemistry).

Table 1 shows the biochemical and hematological laboratory parameters performed as well as the method and the reference values. Sysmex XN-2000 ® (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) and Advia Centauro XPT® (Siemens, Marburg, Germany) were used to analyze each of those two parameters in turn.

Table 1. Biochemical and hematological parameters.

	Test	Method	[Rf] Reference Value
Hematological parameters	Hemoglobin concentration	Cyanide-free SLS	>130 g/L men >120 g/L women
	Hct	HDF	0.383–0.486 L/L men 0.355–0.449 L/L women
	MCV	[a] MCV Cal	81–99 fL
	RDW	[b] RDW Cal	11.6–14.3%
	WBC	FFC	3.4–9.6 × 10^9/L
	PLT	HDF	135–317 × 10^9/L men 157–371 × 10^9/L women
Biochemical parameters			
	IS	COL	65–175 mg/dL men 50–170 mg/dL women
	IF	IA	22–322 ng/dL men 10–291 ng/dL women
	TfR	IA	250–380 mg/dL men 215–365 mg/dL women
	TS	[c] Cal	15–50% men 20–50% women
	FA	CL	>5.4 ng/mL grey zone 3.4–5.4 ng/mL, deficiency <3.4 ng/mL
	VB12	AEC	211–911 pg/mL

Abbreviations: AEC, Acridinium ester chemiluminescence; Cal, calculated; C, chemiluminescence; COL, colorimetry; Hct, Hematocrit; HDF, Impedance measurement by means of hydrodynamic focusing; FA, Folic acid; IF, Ferritin; FFC, fluorescence flow cytometry; IA, immunoassay; IS, Iron serum; MCV, Mean Cell Volume; PLT, Platelets; RDW, Red cell distribution width; SLS, sodium lauryl sulphate; TfR, Transferrin; TS, transferrin saturation; VB12, Vitamin B12; WBC, Leucocytes. * MCV in fL = (Hematocrit %)/(RBC × 10^{12}/L) × 10^5; [b] based on both the width of the distribution curve and the mean cell size. 1SD/MCV × 100 where SD and MCV are the standard deviation of the mean cell size and Mean Cell Volume, respectively; [c] iron (Transferrin × 1.41) × 100.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Anemia was defined according to WHO recommendations on the topic, the cut-off for defining anemia and its severity: Hemoglobin level <130 g/L in men and 120 g/L in females [13]. Cut-off values served as criteria for defining hematological and biochemical parameters according to the manufacturer's recommendations and the reference of the Spanish Society of Laboratory Medicine (SEQCML) [14].

2.5. Small-Bowel Biopsy

If serology and the HLA genotype were positive or clinically compatible, patients were scheduled for biopsy. A minimum of 4 small-bowel mucosal biopsies from the distal duodenum and at least 1 from the anatomical duodenal bulb were taken. Histopathologic findings were classified according to the Marsh-Oberhuber classification [15] by an experienced pathologist.

2.6. Diagnostic Criteria

The diagnosis of CD in adults requires positive serology (particularly -TTG2-IgA) and histological changes on small intestinal biopsy (Marsh type 3a–c) [16]. However, it is expected that the criteria could change in the near future, as studies have suggested that the biopsy-sparing algorithm could apply to adults as well as children [17].

2.7. Statistical Analysis

Values are expressed in absolute and relative frequencies. To study the relationship between categorical variables, the Chi-square test was used. In the case of relationships between continuous variables correlations were determined, and contrasted if they were significantly different from zero, by using the Correlation Test. A propensity score matching (PSM) procedure was performed to select CD patients adjusted for age and sex with proportion 1:2 against non CD patients. Logistic regression was performed to study the effect of different factors on CD. Results are shown as odds-ratios and their confident intervals. All analyzes were performed with the statistical software R 3.6.3 R Core Team [18]. p value of <0.05 was adopted for a significant association of variables.

2.8. Ethical Considerations

This study complies with the Helsinki Declaration on biomedical research involving human subjects as well as with the new and successive updated versions of the applicable legislation, from 2012 to 2020, including successive revision and approval by the territorial committee (Santiago-Lugo) of Galician Network of Research Ethics Committees (approved and registered code number 2017/327; 2019/098 and the subsequent approval to extend the project until 2022). Data were pseudonymized and analyzed in accordance with the current legislation to ensure the protection of personal data (General Data Protection Regulation, Regulation EU 2016/679, and Spanish Organic Law 3/2018).

3. Results

3.1. CD Case Positive Rate in the Whole Study Sample

The flow chart in Figure 1 shows the study population, which comprised 9066 individuals referred to our laboratory for first-time measurement of CD antibodies. Of them, 101 individuals (Table 2) were newly diagnosed with CD (1.10%, 95% CI 0.93–1.35). Of those, 84 individuals had a prior hematologic test (Table 3). Among 8975 individuals without CD, 168 age and sex matched were included (1 case: 2 controls).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

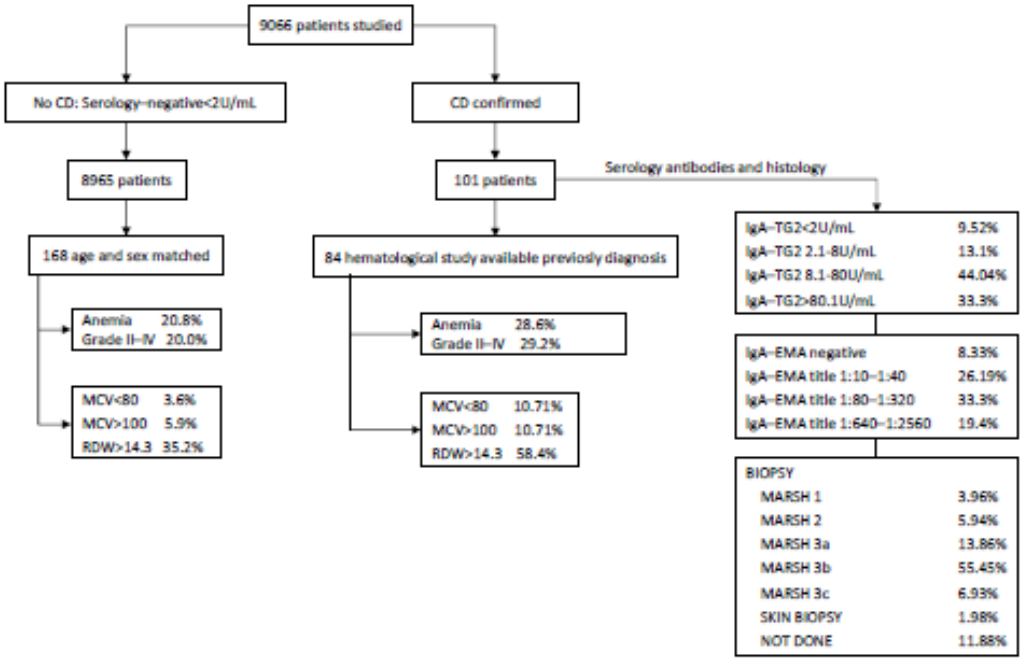


Figure 1. Flow chart of CD diagnosis. Abbreviations: IgA EMA, endomysial IgA antibodies; MCV, Mean cell volume; RDW, Red blood width; TTG2-IgA, Tissue transglutaminase antibody (IgA).

Table 2. Clinical and demographic characteristics of patients newly diagnosed with CD.

Demographic characteristics	Mean ± SD	Median (IQR)	n = 101	%
Female			69	68.32
Male			32	31.68
Age	63.04 ± 12.1	62 (52.3–73)		
Gastrointestinal manifestations			42	50.49%
Chronic diarrhea/malabsorption			10	18.81
Chronic abdominal pain, constipation, distended abdomen or irritable colon			27	26.73
Gastritis, recurrent vomiting, esophagitis and hepatopathy			5	4.95
Extra-intestinal manifestations no hematological			50	
Cutaneous/mucosal manifestations: herpetiformis dermatitis, vitiligo			7	6.93
Neurological manifestations: headache and cognitive impairment			6	5.94
Neuropsychiatric manifestations: depression/anxiety			12	11.88
Arthritis/arthralgia and decreased bone mineralization, repetitive fractures			8	7.92
Chronic fatigue, diminished appetite			4	3.96
Others (kidney, cardiac, gynecologic)			6	5.94
Associated endocrine diseases: Hypothyroidism, diabetes type II			7	6.93
Familiar screening			4	3.96
Associated autoimmune diseases			18	17.82
Autoimmune thyroid dysfunction			4	3.96
Systemic autoimmune disease (Sjogren's syndrome and others)			11	10.89
Organ-specific autoimmune diseases			3	2.97

Abbreviations: CD, Celiac disease; IQR. Interquartile range; SD, Standard deviation.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 3. Hematological parameters. Comparison between patients without CD and patients newly diagnosed with CD.

Hematological Parameter		No CD (n = 168)	CD (n = 84)	p Value
Anemia				
	No	133 (79.2)	60 (71.42)	0.171
	Yes	35 (20.8)	24 (28.57)	
[a] Anemia grade				
	I	28 (80.0)	17 (70.83)	0.576
	II-III	7 (20.0)	7 (29.16)	
Hct				
	Normal value	130 (77.4)	61 (72.61)	0.687
	Low/moderate value	38 (22.6)	23(27.38)	
MCV				
	Macrocytic	6 (3.6)	9 (10.71)	<0.024
	Normocytic	152 (60.5)	66 (78.57)	
	Microcytic	10 (5.9)	9 (10.71)	
RDW				
	Normal value	109 (64.8)	35 (41.6)	<0.001
	High > 14.3%	59 (35.2)	49 (58.4)	
WBC				
	Normal value	165 (98.2)	81(96.42)	0.380
	leukopenia	3 (1.8)	3 (3.57)	
PLT				
	$\geq 150 \times 10^9$/L	157 (93.5)	77 (91.66)	0.603
	$<150 \times 10^9$/L	11 (6.5)	7 (8.3)	

The participants were screened for celiac disease antibodies as shown in Methods. The sample consisted of 9.066 individuals. 84 newly CD diagnosed patients had a hematological study available previous to diagnosis. Among 8975 seronegative, 168 age and sex matched were included. For each hematological biomarker, the comparison between CD and no CD individuals with the proportion below or above the reference interval is shown. Values are expressed in absolute and relative frequencies. Differences are calculated with the Chi-square test. [a] WHO grade: I, mid 95–109 g/dL; II, moderate 80–94 g/L; III, severe 65–79 g/L; IV, life-threatening <65 g/L. Abbreviations: CD, Celiac disease; Hct, Hematocrit; MCV, Mean Cell Volume; PLT, Platelets; RDW, Red cell distribution width; WBC, Leucocytes.

We found that the newly diagnosed patients with CD had more than 60 years (mean age ± SD 63.04 ±12.1) and a larger percentage were women (68.32%; ratio female/male 2.11/1).

3.2. *Serology and HLA Genotype*

Mean TTG2-IgA titers were 206 ± 15 U/mL. 90.44% of patients had EMA-IgA titles between 1:10–1:40 and 1:640–1:2560. Serology assessment did not detect patients with IgA deficiency. All positive TTG2-IgA titers were confirmed with high titers of EMA-IgA. 8 individuals (9.52%) presented TTG2-IgA values below the reference limit.

3.3. *Intraepithelial Lymphocytosis and/or Villous Atrophy and Crypt Hyperplasia of Small-Bowel Mucosa*

Biopsy specimens were taken from 88.12% of patients and analyzed by an expert pathologist. Most patients (76.24%) had marked or complete atrophy (MARSH 3a–c).

Biopsy was not performed on 11.88% of patients (Figure 1) due to patient refusal, medical recommendation, or having started gluten free diet due to severe symptoms or high positivity in markers. In these cases, the diagnosis of CD was confirmed by presenting typical manifestations of celiac disease, high titters of IgA serum celiac disease antibodies, HLA-DQ2 or DQ8 genotypes and response to the gluten-free diet [16] (Figure 1).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.4. Clinical Findings at CD Diagnosis

The clinical expressiveness of the disease at the time of diagnosis is shown in Table 2 (gastrointestinal and no hematological extra-intestinal manifestations) and 3 (hematological manifestations). The associated pathologies were mainly autoimmune disorders (17.82%). Chronic abdominal pain, constipation, distended abdomen or irritable colon were the prevalent intestinal CD manifestations (26.73%).

Since it is of the utmost importance to recognize CD in individuals with non-gastrointestinal symptoms [19,20], we evaluated these manifestations and in particular hematological ones.

Among the extra-intestinal CD features hematologic ones were more prevalent. Anemia was the most commonly presenting extra-intestinal manifestation (Table 3). A total of 28.57% of newly diagnosed patients with CD were anemic per WHO definition [13]. The distribution of anemia adjusted by age and sex showed that it is more common in patients aged >80, who showed 57.1% and 50% in female and male, respectively (Figure 2). Regarding the anemia severity (WHO criteria) [13], 29.16% of them exhibited moderate (grade II) to severe (grade III) anemia, whereas 70.8% showed mild anemia (grade I) (Table 3).

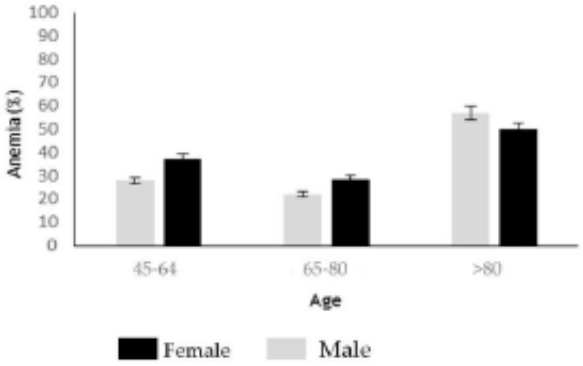


Figure 2. Anemia in patients newly diagnosed with CD, adjusted for age and sex. Data is shown as the mean ± SD. Anemia was established according to the WHO criteria [13]. Abbreviations: CD, Celiac disease; SD, Standard deviation; WHO, World Health Organization.

Anemia in newly diagnosed patients with CD is attributed to multifactorial etiology [19]. In this study, the most prevalent anemia-related deficiencies were ferritin (66.7%) and iron (63%), followed by folic acid (16.6%) and VitB12 (6.1%) (Table 4).

Table 4. Anemia-related factors.

No CD	Factors	OR (CI)	*p* Value
	IF	0.99 (0.98–1.00)	0.556
	tRf	0.99 (0.96–1.01)	0.456
	TS	1.10 (1.00–1.24)	0.061
	FA	1.01 (0.85–1.21)	0.883
	VitB12	0.99 (0.99–1.01)	0.364
	IS	0.93 (0.86–9.81)	0.023
CD	**Factors**	**OR (CI)**	***p* Value**
	IF	1.04 (1.01–1.09)	0.025
	tRf	0.96 (0.91–1.01)	0.245
	TS	0.56 (0.26–0.92)	0.058
	FA	1.00 (0.76–1.25)	0.937
	VitB12	1.00 (0.99–1.00)	0.181
	IS	1.27 (1.01–1.78)	0.079

Multivariate logistic regression. Abbreviations: CD, Celiac disease; FA, Folic acid; IF, Ferritin; IS, Iron serum; TfR, Transferrin; TS, transferrin saturation; VitB12, Vitamin B12.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

The most remarkable data was that 58.4% of new CD patients exhibited high >14.3% RDW. This cut-off was used according to the reference intervals for our automated hematology analyzer Sysmex XN [21].

3.5. Comparative Hematological Features between Seropositive and Seronegative CD Patients

Figure 1 and Tables 3–5 depict differences in hematological and other biochemical biomarkers between newly diagnosed patients with CD and without CD, matched by age and sex.

Table 5. Biochemical parameters. Comparison between no CD and newly CD diagnosed individuals.

Biochemical Parameter		No CD [a] (n/%)	Newly CD Diagnosed CD [a] (n/%)	*p* Value
IS	Normal	29 (26.4)	20 (37.0)	0.160
	Low value	81 (73.6)	34 (63.0)	
IF	Normal	25 (21.5)	18 (33.3)	0.099
	Low value	91 (78.5)	36 (66.7)	
TfR	<250	26 (32.9)	14 (32.5)	0.820
	>380	2 (2.5)	2 (4.6)	
	250–380	51 (64.6)	27 (62.9)	
TS	<18%	19 (24.0)	7 (16.2)	0.316
	≥18%	60 (76.0)	36 (83.8)	
FA	Normal	56 (78.9)	22 (61.1)	0.025
	Grey zone	15 (21.1)	14 (38.9)	
	Deficit	2 (2.8)	6 (16.6)	
VitB12	>200	69 (98.6)	31 (93.9)	0.222
	<200	1 (1.4)	2 (6.1)	

[a] Data available that were requested according to clinical criteria to establish the presence or absence of anemia and the anemia type. Abbreviations: FA, Folic acid; IF, Ferritin; IS, Iron serum; TfR, Transferrin; TS, transferrin saturation; VitB12, Vitamin B12.

As Table 3 presents, there were no statistically significant differences between patients who presented CD and those who did not present CD in terms of anemia, low hematocrit, leukopenia and thrombocytopenia.

On etiological evaluation of anemia, ferritin in patients newly diagnosed with CD and iron in those without CD were the main anemia-related factors as a result of multivariate logistic regression (Table 4).

Since evidence has been provided that RDW could be a marker of CD [8,9], its diagnostic performance has been evaluated, but RDW is an age-dependent parameter, being elevated from the age of 60 [22,23]. In this study high >14.3% RDW was exhibited by 58.4% newly diagnosed adult patients versus 35.2% of those not diagnosed with CD, matched by age and sex, respectively (significate differences at $p < 0.001$).

As MCV is a parameter used to RDW calculi and also is an age-dependent parameter (elevated from the age of 60) [23], it was analyzed (Table 3).

It was noted that the presence of high RDW (OR 1.151, 95% IC 1.046–1.275) is associated to CD (Figure 3).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

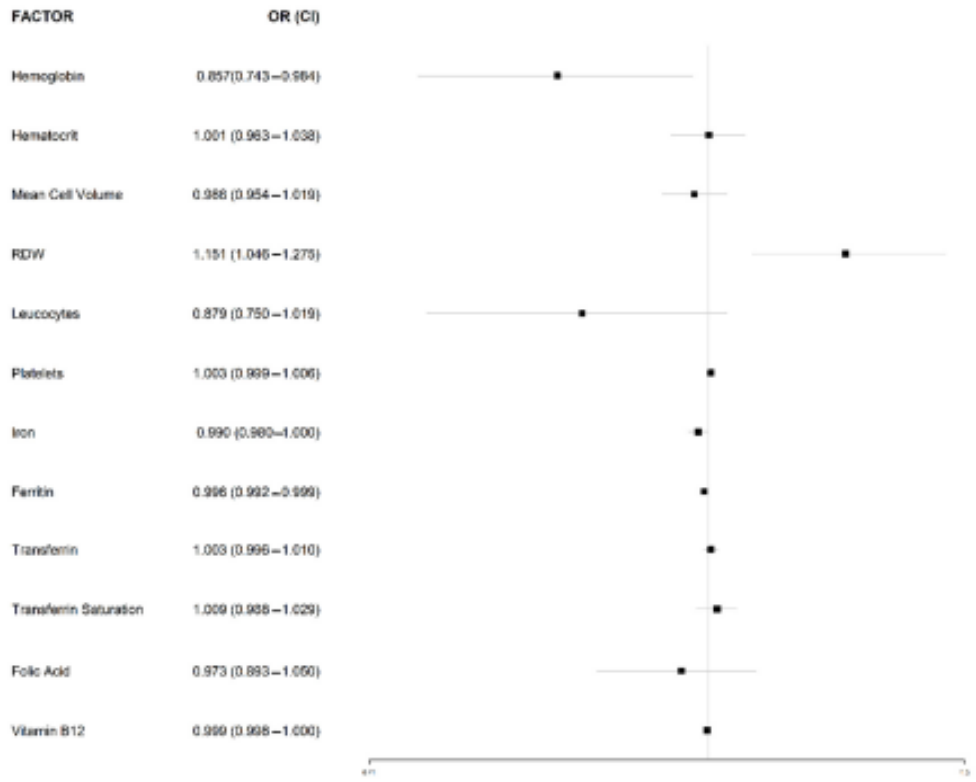


Figure 3. Association between hematological parameters and CD. Logistic regression for comparison of patients newly diagnosed with CD and without CD. Odds ratio with 95% confidence interval. Abbreviations: CI, Coefficient interval; Hct, Hematocrit; MCV, Mean Cell Volume; OR, Odd ratio; PLT, Platelets; RDW, Red cell distribution width; WBC, Leucocytes.

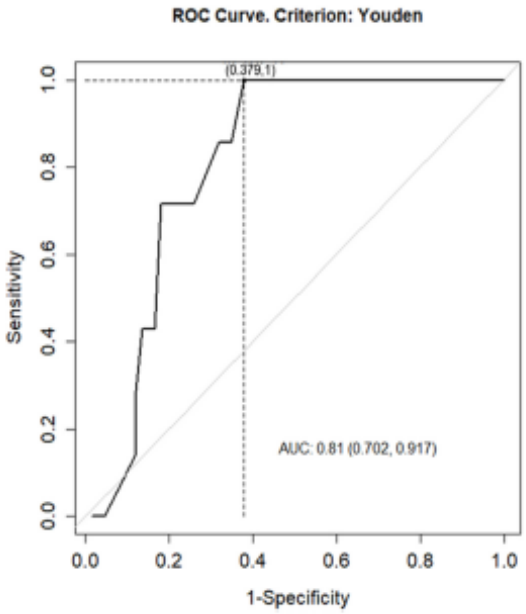
As TTG2-IgA and atrophy grade III (a-c) are the two main CD diagnosis criteria [16] and previous studies found an association between the degree of atrophy and high RDW values [24,25], we have analyzed the association between RDW with atrophy as well as RDW with TTG2-IgA. We have performed an ROC curve to verify the relationship between the degree of atrophy (3a–c) and the RDW, and as can be seen in Figure 4 and Table 6, there was a significate association ($p = 0.007$). By contrast, TTG2-IgA was not associated with RDW ($p = 0.605$).

Table 6. Association between RDW with atrophy grade III.

	Atrophy		
	No	Yes	*p* Value
RDW	13.2 (12.8–13.5)	14.7 (13.7–17.0)	0.007 *

Values expressed as medians and interquartile ranges. *p* value calculated with the Mann-Whitney U test. * Significant association. Abbreviations: RDW, Red cell distribution width.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



ROC analysis	Value
AUC	0.810 (0.702–0.917)
Cutpoint (Se = Sp)	14.2
Cutpoint (Youden)	13.7

Figure 4. ROC curve to verify the relationship between the degree of atrophy and RDW. Abbreviations RDW, Red cell distribution width: ROC, Receiver operating characteristic.

4. Discussion

In this study, we analyzed the usefulness of a hematologic parameter as a possible marker of CD. RDW, as a part of the automated routine lab test, is employed in daily clinical practice. According to the objectives of this study, we first discussed the main results related to the CD case positive rate in middle and late adulthood and the main clinical manifestations. Thereafter, we analyzed the use of RDW to detect individuals with CD.

The estimated prevalence of CD in middle and late adulthood is in the range of 0.7% and 2.45% [5,26–31], becoming increased four-fold over the last 22 years. According Fueyo-Diaz et al. [30] (northeast of Spain, Aragón) the prevalence of CD in primary care setting range from 0.34% (45–59 years old) to 0.12% (≥90 years old); being 0.27% between 60 and 74 years old. Other study in the Spanish tertiary care setting (northeast of Spain, Catalonia) reported decreasing CD prevalence from middle to late adulthood with a slight increase after age 80 [31]. In our study in a tertiary hospital from the northwest of Spain (Galicia) the case positive rate was 1.10%. Other European countries such as Finland showed higher prevalence of CD in the elderly than has been observed in adults [32] with 2.70% for biopsy-proven CD and seropositivity. That difference may be due to several factors. Firstly, a low index of detection in primary care setting [30]. Secondly, a prolonged seronegativity in elderly with newly detected CD [33]. Thirdly, a heterogeneous clinical pattern [1,3,5] with subtle [1] or few symptoms [3]. Additionally, associated disorders might contribute to occult or underlying CD [34].

Extra-intestinal manifestations configuring the clinical picture of CD in middle-and late adulthood are anemia, micronutrients deficit, neuropathy, etc. Anemia and abnormal laboratory tests are common in late adulthood [5,34]. Anemia was the most prevalent extra-intestinal manifestation in our study (28%). According to the WHO criteria regarding the classification of public health significance of anemia [13], this percentage represents a moderate significance (normal, 4.9% or lower; mild, 5.0–19.9%; moderate, 20.0–39.9%; severe, ≥40%).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

In addition, newly diagnosed CD patients could exhibit various deficiency states, resulting in a large number of manifestations and co-morbidities, including anemia, osteopenia, fractures, neuropathy, etc. The most frequently described deficiencies include iron, folic acid and VitB12, which reflect the loss of absorptive surface area and functional capacity. The estimate deficiencies depend on age, among other factors. Adults can exhibit iron (12–82%), folic acid (20–30%) and Vit B12 (8–75%) deficiency [35]. By comparing the results obtained in our study to those corresponding to a recent study done by Shiha et al. (Tertiary hospital, Royal Hallamshire Hospital, Sheffield United Kingdom) [3], lower percentage was observed for VitB12 (6.1% vs. 10.8–20.2%) and folic acid (16.6% vs. 23.2–28.6%); being higher iron (63% vs. 29.3–37.3%) and ferritin (63.7% vs. 12.1–20.2%) deficiencies in our study. Additionally, we performed a multivariate study of all biochemical parameters that may be related to anemia in CD and non-CD patients. Only ferritin could be considered as the main anemia related factor in CD patients.

As consequence of isolated or mixed deficiencies, adult and elderly CD patients may suffer extra-intestinal manifestations. These are, among others, neuropathy [36], psychiatric [37] or musculoskeletal disorders [38]. The prevalence of neuropathy ranges from 0% to 39% with an increased prevalence in older and female patients [36]. In the case of psychiatric disorders reaches up to 16.8% in adults [39]. Late-adulthood (CD individuals (n = 104, mean age 63.0 years) can exhibit cognitive impairment (mean reaction time task, 621.2 ± 124.0 milliseconds) perceived anxiety (31.0%) or depression (58.4%) [40]. In our study, we observed a prevalence of 7.94% psychiatric disorders (anxiety, depression, and cognitive impairment). With respect to musculoskeletal disorders, reduced bone density [30], increased osteopenia or osteoporosis (from 4.9% at 35–64 years to 23.2% ≥65 years) [3] have been reported. Consequently, increased prevalence of fractures is a common manifestation [38]. In our study, we observed a prevalence of 7.92% in musculoskeletal disorders, including osteopenia and repetition fractures.

Several studies analyzed the potential clinical usefulness of RDW as a risk and prognostic factor in the diagnosis of a number of different diseases (dementia, cerebral infarction, cardiovascular disease, rheumatoid arthritis diseases, chronic obstructive pulmonary disease, coronavirus disease, pneumonia, diabetes, gastrointestinal diseases, etc.) [41–43].

With regard to RDW in CD, the studies are scarce [8,9,24,44–48]. To our knowledge, this is the first study that specifically examined RDW in middle and late adulthood newly CD diagnosed patients and age-sex matched controls. PSM was used. Our results could be due to the fact that of having CD, although it could not exclude other causes not embraced by PSM.

Several studies showed RWD increase in adults with CD by using 14% as cut-off value. Sategna et al. [8] in Italy showed an RDW increase in 53.7% of adults with CD diagnose and in 28.6% of adults without CD (individuals with inflammatory bowel disease and diseases other than malabsorption). These authors reported absence of correlation between RDW values and histological scores. Balaban et al. [47] (Rumania) (34 newly diagnosed CD adult patients, 34 age and sex matched controls with irritable bowel syndrome (IBS) and 16 treated CD patients) observed elevated RDW (>14%, normal values under 14%) in 79.41% of the newly CD patients in comparison to IBS and CD-treated patients (17.65% and 37.5%, respectively). Additionally, one study in adults from Denmark (57061 individuals (26 years old, n = 706 CD antibody positive) (29 years old, 56.655 CD antibody negative)) showed that RDW was high in 14.4% and 3.7% of CD antibody positive and negative individuals, respectively [44]. Similarly, the study by Harmanci et al. [24] (n = 49 newly diagnose CD, mean age 38, Turkey) showed increased RDW in 89% of newly diagnosed CD individuals. Further, Yeşil et al. (61 patients with ulcerative colitis, 56 patients with Crohn's disease and 44 healthy volunteers, 38–40 years age, Turkey) observed that the percentage of patients with high RDW was significantly higher in CD patients compared to those with ulcerative colitis or controls [48].

In our study, we compared newly diagnosed CD patients with non-CD ones, age-sex matched. We used >14.3% as a cut-off value of high RDW in accordance with the reference

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

intervals for our automated hematology analyzer Sysmex XN [21]. High RDW >14.3% was seen in 58.4% of newly diagnosed CD patients comparing to 35.2% of those without CD (significate differences at $p < 0.001$). It must be emphasized that high RDW was associated to CD (OR 1.151, 95% IC 1.046–1.275) in our study.

RDW is considered as a sensitive marker of nutritional deficiency that alters not only red blood cell production but also their maturation. Thus, after 6 [24] or 12 [8,46] months of gluten-free diet, RDW decreases alone [42] or in parallel to restoring normal serum iron, VitB12, folate [8] or ferritin [47] levels, MCV values [47] and EMA seroconversion [8]; reflecting dynamic changes of RDW and its utility as an index of clinical efficacy of treatment. In our future research, we will analyze RDW along with gluten-free-diet in our middle-late adulthood CD patients.

It is well-known that TTG2-IgA and atrophy grade III (a-c) are both required for the diagnose of CD [16]. RDW has been postulated as a predictor of villous atrophy in CD patients (number = 49, median age 38 year old) at a cut-off level of 17.25% [24]. It must be noted that, in this study, we observed a significant association between higher RDW and atrophy grade III, AUC 0.810 (0.702–0.917). Additionally, we found an association between high RDW and CD. Newly CD diagnosed patients had a hematological study available previously for diagnosis, showing high RDW. Thus, we suggest that RDW could be a new aid of CD screening.

5. Conclusions

We suggest that RDW can be used as a predictive factor of CD and potential screening aid of CD.

Author Contributions: Conceptualization, J.M.C.d.R., M.J.N.-I.; methodology, J.M.C.d.R., M.J.N.-I., S.N.M., M.F.-G.N.; formal analysis, J.M.C.d.R., A.B.H., M.J.N.-I., S.N.M., M.F.-G.N. and T.Á.F.; investigation, J.M.C.d.R., M.J.N.-I., S.N.M., M.F.-G.N.; data curation, J.M.C.d.R.; writing—original draft preparation, J.M.C.d.R., M.J.N.-I.; writing—review and editing, J.M.C.d.R., M.J.N.-I., S.N.M., M.F.-G.N., T.Á.F., S.Z., A.B.H., J.P.C.; visualization, J.M.C.d.R., M.J.N.-I., S.N.M., M.F.-G.N., T.Á.F., J.P.C., S.Z., A.B.H.; supervision, J.M.C.d.R., M.J.N.-I., S.N.M., M.F.-G.N., T.Á.F., J.P.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study follows the ethical guidelines given in the Declaration of Helsinki and the Institutional review board (Galician Research Ethics Committee) approved the study protocol. The data analyzed in this study have been handled in accordance with current legislation and the procedures established by that ethics commission to ensure the protection of personal data in accordance with the General Data Protection Regulation (Regulation (EU) 2016/679) and Organic Law 3/2018 (see Section 2.8. Ethical Considerations).

Informed Consent Statement: Informed Consent Statement was performed according to Law 3/2005, of March 7, of modification from Law 3/2001, dated May 28, regulating informed consent and the clinical history of patients as well as the provisions of the General Data Protection Regulation (Regulation (EU) 2016/679 of the European Parliament and of the Council, of April 27, 2016) and the Law on Protection of Personal Data and Guarantee of Digital Rights (Law Organic 3/2018). All the data obtained were pseudonymized with an express commitment to confidentiality and a technical and functional separation between the research team and those who performed the pseudonymization. In addition, specific security measures were adopted to prevent re-identification and access by unauthorized third parties.

Data Availability Statement: Data was obtained from Galician Healthcare Service (SERGAS), and are not available.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

References

1. Collin, P.; Vilppula, A.; Luostarinen, L.; Holmes, G.K.T.; Kaukinen, K. Review article: Coeliac disease in later life must not be missed. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2018**, *47*, 563–572. [CrossRef] [PubMed]
2. Therrien, A.; Kelly, C.P.; Silvester, J.A. Celiac Disease: Extraintestinal Manifestations and Associated Conditions. *J. Clin. Gastroenterol.* **2020**, *54*, 8–21. [CrossRef] [PubMed]
3. Shiha, M.G.; Marks, L.J.; Sanders, D.S. Diagnosing coeliac disease in the elderly: A United Kingdom cohort study. *Gastroenterol. Hepatol. Bed. Bench.* **2020**, *13*, 37–43. [PubMed]
4. Spencer, M.; Lenhart, A.; Baker, J.; Dickens, J.; Weissman, A.; Read, A.J.; Saini, S.; Saini, S.D. Primary care physicians are under-testing for celiac disease in patients with iron deficiency anemia: Results of a national survey. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0184754. [CrossRef]
5. Cappello, M.; Morreale, G.C.; Licata, A. Elderly Onset Celiac Disease: A Narrative Review. *Clin. Med. Insights Gastroenterol.* **2016**, *27*, 414–419. [CrossRef]
6. Katsumi, A.; Abe, A.; Tamura, S.; Matsushita, T. Anemia in older adults as a geriatric syndrome: A review. *Geriatr. Gerontol. Int.* **2021**, *21*, 549–554. [CrossRef]
7. Romano, A.D.; Paglia, A.; Bellanti, F.; Villani, R.; Sangineto, M.; Vendemiale, G.; Serviddio, G. Molecular Aspects and Treatment of Iron Deficiency in the Elderly. *Int. J. Mol.Sci.* **2020**, *21*, 3821. [CrossRef]
8. Sategna, C.; Scaglione, N.; Martini, S. Red cell distribution width as a marker of coeliac disease: A pro-spective study. *Eur. J.Gastroenterol. Hepatol.* **2002**, *14*, 177–181. [CrossRef]
9. Guglielmi, V.; Manchisi, M.; Pellegrini, V.; Tutino, M.; Guerra, V. RDW: Nuovo test per lo screening del morbo celiaco? [RDW: New screening test for coeliac disease?]. *Minerva Med.* **2002**, *93*, 419–421.
10. Goyal, H.; Lippi, G.; Gjymishka, A.; John, B.; Chhabra, R.; May, E. Prognostic significance of red blood cell distribution width in gastrointestinal disorders. *World J. Gastroenterol.* **2017**, *23*, 4879–4891. [CrossRef]
11. Raiteri, A.; Granito, A.; Giamperoli, A.; Catenaro, T.; Negrini, G.; Tovoli, F. Current guidelines for the management of celiac disease: A systematic review with comparative analysis. *World J. Gastroenterol.* **2022**, *28*, 154–175. [CrossRef]
12. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS). Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Ed. 2018. NIPO: 731-18-022-0. Available online: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/prestacionesSanitarias/publicaciones/Celiaquia/enfermedadCeliaca.pdf (accessed on 1 June 2022).
13. World Health Organization (WHO). Haemoglobin Concentrations for the Diagnosis of Anaemia and Assessment of Severity. WHO/NMH/NHD/MNM/11.1A. Available online: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85839/WHO_NMH_NHD_MNM_11.1_eng.pdf (accessed on 12 May 2021).
14. Spanish Society of Laboratory Medicine SEQCM. Available online: https://www.seqc.es/ (accessed on 9 July 2022).
15. Oberhuber, G.; Granditsch, G.; Vogelsang, H. The histopathology of coeliac disease: Time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **1999**, *11*, 1185–1194. [CrossRef]
16. Catassi, C.; Verdu, E.F.; Bai, J.C.; Lionetti, E. Coeliac disease. *Lancet* **2022**, *399*, 2413–2426. [CrossRef]
17. Penny, H.A.; Raju, S.A.; Lau, M.S.; Marks, L.J.; Baggus, E.M.; Bai, J.C.; Bassotti, G.; Bontkes, H.J.; Carroccio, A.; Danciu, M.; et al. Accuracy of a no-biopsy approach for the diagnosis of coeliac disease across different adult cohorts. *Gut* **2021**, *70*, 876–883. [CrossRef]
18. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2019; Available online: https://www.R-project.org/ (accessed on 6 July 2022).
19. Laurikka, P.; Nurminen, S.; Kivelä, L.; Kurppa, K. Extraintestinal Manifestations of Celiac Disease: Early Detection for Better Long-Term Outcomes. *Nutrients* **2018**, *10*, 1015. [CrossRef]
20. Balaban, D.V.; Popp, A.; Ionita Radu, F.; Jinga, M. Hematologic Manifestations in Celiac Disease-A Practical Review. *Medicina* **2019**, *55*, 373. [CrossRef]
21. Van Pelt, J.L.; Klatte, S.; Hwandih, T.; Barcaru, A.; Riphagen, I.J.; Linssen Jo Bakker, S.J.L. Reference Intervals for Sysmex XN hematological parameters as assessed in the Dutch lifelines cohort. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2022**, *60*, 907–920. [CrossRef]
22. Lippi, G.; Salvagno, G.L.; Guidi, G.C. Red blood cell distribution width is significantly associated with aging and gender. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2014**, *52*, e197–e199. [CrossRef]
23. Hoffmann, J.J.; Nabbe, K.C.; van den Broek, N.M. Effect of age and gender on reference intervals of red blood cell distribution width (RDW) and mean red cell volume (MCV). *Clin. Chem. Lab. Med.* **2015**, *53*, 2015–2019. [CrossRef]
24. Harmanci, O.; Kav, T.; Sivri, B. Red cell distribution width can predict intestinal atrophy in selected patients with celiac disease. *J. Clin. Lab. Anal.* **2012**, *26*, 497–502. [CrossRef]
25. Berry, N.; Basha, J.; Varma, N.; Varma, S.; Prasad, K.K.; Vaiphei, K.; Dhaka, N.; Sinha, S.K.; Kochhar, R. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology: A prospective study from India. *J.G.H. Open.* **2018**, *2*, 196–200. [CrossRef] [PubMed]
26. Kalkan, Ç.; Karakaya, F.; Soykan, I. Similarities and differences between older and young adult patients with celiac disease. *Geriatr. Gerontol. Int.* **2017**, *17*, 2060–2067. [CrossRef]
27. Vilppula, A.; Kaukinen, K.; Luostarinen, L.; Krekelä, I.; Patrikainen, H.; Valve, R.; Mäki, M.; Collin, P. Increasing prevalence and high incidence of celiac disease in elderly people: A population-based study. *BMC Gastroenterol.* **2009**, *9*, 1–5. [CrossRef] [PubMed]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

28. Mukherjee, R.; Egbuna, I.; Brar, P.; Hernandez, L.; McMahon, D.J.; Shane, E.J.; Bhagat, G.; Green, P.H. Celiac disease: Similar presentations in the elderly and young adults. *Dig. Dis. Sci.* **2010**, *55*, 3147–3153. [CrossRef] [PubMed]
29. West, J.; Fleming, K.M.; Tata, L.J.; Card, T.R.; Crooks, C.J. Incidence and prevalence of celiac disease and dermatitis herpetiformis in the UK over two decades: Population-based study. *Am. J. Gastroenterol.* **2014**, *109*, 757–768. [CrossRef]
30. Fueyo-Díaz, R.; Magallón-Botaya, R.; Masluk, B.; Palacios-Navarro, G.; Asensio-Martínez, A.; Gascón-Santos, S.; Olivan-Blázquez, B.; Sebastián-Domingo, J.J. Prevalence of celiac disease in primary care: The need for its own code. *BMC Health Serv. Res.* **2019**, *19*, 578. [CrossRef]
31. Mariné, M.; Farre, C.; Alsina, M.; Vilar, P.; Cortijo, M.; Salas, A.; Fernández-Bañares, F.; Rosinach, M.; Santaolalla, R.; Loras, C.; et al. The prevalence of coeliac disease is significantly higher in children compared with adults. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2011**, *33*, 477–486. [CrossRef]
32. Lohi, S.; Mustalahti, K.; Kaukinen, K.; Laurila, K.; Collin, P.; Rissanen, H.; Lohi, O.; Bravi, E.; Gasparin, M.; Reunanen, A.; et al. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2007**, *26*, 1217–1225. [CrossRef]
33. Salmi, T.T.; Collin, P.; Korponay-Szabo, I.R.; Laurila, K.; Partanen, J.; Huhtala, H.; Király, R.; Lorand, L.; Reunala, T.; Mäki, M.; et al. Endomysial antibody-negative coeliac disease: Clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut* **2006**, *55*, 1746–1753. [CrossRef]
34. Freeman, H.J. Adult celiac disease in the elderly. *World J. Gastroenterol.* **2008**, *14*, 6911–6914. [CrossRef]
35. Kreutz, J.M.; Adriaanse, M.P.M.; van der Ploeg, E.M.C.; Vreugdenhil, A.C.E. Narrative Review: Nutrient Deficiencies in Adults and Children with Treated and Untreated Celiac Disease. *Nutrients* **2020**, *12*, 500. [CrossRef]
36. Mearns, E.S.; Taylor, A.; Thomas Craig, K.J.; Puglielli, S.; Leffler, D.A.; Sanders, D.S.; Lebwohl, B.; Hadjivassiliou, M. Neurological Manifestations of Neuropathy and Ataxia in Celiac Disease: A Systematic Review. *Nutrients* **2019**, *11*, 380. [CrossRef]
37. Jackson, J.R.; Eaton, W.W.; Cascella, N.G.; Fasano, A.; Kelly, D.L. Neurologic and psychiatric manifestations of celiac disease and gluten sensitivity. *Psychiatr. Q.* **2012**, *83*, 91–102. [CrossRef]
38. Ludvigsson, J.F.; Michaelsson, K.; Ekbom, A.; Montgomery, S.M. Coeliac disease and the risk of fractures-A general population-based cohort study. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2007**, *25*, 273–285. [CrossRef]
39. Häuser, W.; Janke, K.H.; Klump, B.; Gregor, M.; Hinz, A. Anxiety and depression in adult patients with celiac disease on a gluten-free diet. *World J. Gastroenterol.* **2010**, *14*, 2780–2787. [CrossRef]
40. Croall, I.D.; Sanders, D.S.; Hadjivassiliou, M.; Hoggard, N. Cognitive Deficit and White Matter Changes in Persons With Celiac Disease: A Population-Based Study. *Gastroenterology* **2020**, *158*, 2112–2122. [CrossRef]
41. Fava, C.; Cattazzo, F.; Hu, Z.D.; Lippi, G.; Montagnana, M. The role of red blood cell distribution width (RDW) in cardiovascular risk assessment: Useful or hype? *Ann. Transl. Med.* **2019**, *7*, 581. [CrossRef]
42. Ananthaseshan, S.; Bojakowski, K.; Sacharczuk, M.; Poznanski, P.; Skiba, D.S.; Prahl Wittberg, L.; McKenzie, J.; Szkulmowska, A.; Berg, N.; Andziak, P.; et al. Red blood cell distribution width is associated with increased interactions of blood cells with vascular wall. *Sci Rep.* **2022**, *12*, 13676. [CrossRef]
43. Wang, J.; Xiao, Q.; Li, Y. ΔRDW: A Novel Indicator with Predictive Value for the Diagnosis and Treatment of Multiple Diseases. *Int. J. Gen Med.* **2021**, *14*, 8667–8675. [CrossRef]
44. Kårhus, L.L.; Kriegbaum, M.; Grand, M.K.; Lind, B.S.; Møllehave, L.T.; Rumessen, J.J.; Andersen, C.L.; Linneberg, A. Biochemical abnormalities among patients referred for celiac disease antibody blood testing in a primary health care setting. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 6407. [CrossRef]
45. Brusco, G.; Di Stefano, M.; Corazza, G.R. Increased red cell distribution width and coeliac disease. *Dig. Liver. Dis.* **2000**, *32*, 128–130. [CrossRef] [PubMed]
46. Mitchell, R.M.; Robinson, T.J. Monitoring dietary compliance in coeliac disease using red cell distribution width. *Int. J. Clin. Pract.* **2002**, *56*, 249–250. [PubMed]
47. Balaban, D.V.; Popp, A.; Beata, A.; Vasilescu, F.; Jinga, M. Diagnostic accuracy of red blood cell distribution width-to-lymphocyte ratio for celiac disease. *R.R.M.L.* **2018**, *26*, 45–50. [CrossRef]
48. Yeşil, A.; Senateş, E.; Bayoğlu, I.V.; Erdem, E.D.; Demirtunç, R.; Kurdaş Övünç, A.O. Red cell distribution width: A novel marker of activity in inflammatory bowel disease. *Gut Liver.* **2011**, *5*, 460–467. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO 10.3

Gastroenterología y Hepatología

Publicación oficial de la Asociación Española para el Estudio del Hígado, Asociación Española de Gastroenterología y Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa

Volumen 45, Especial Congreso 3, Noviembre 2022

VIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC)

Madrid, 15-17 de noviembre de 2022

Incluida en: Science Citation Index Expanded, MEDLINE/PubMed, EMBASE/Excerpta Medica, Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud (IBECS), Índice Médico Español (IME) y SCOPUS.

www.elsevier.es/gastroenterologia

ISSN: 0210-5705

VIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC)

Madrid, 15-17 de noviembre de 2022

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidenta:	Isabel Polanco Allué
Vicepresidenta:	Concepción Núñez Pardo de Vera
Secretaria:	Mercedes Rubio Martínez
Vocales:	Andrés Bodas
	María Luz Cilleruelo
	Laura Crespo Pérez
	Sergio Farrais Villalba
	Natalia López Palacios
	Eva Martínez Ojínaga
	Marta Molero Luis
	Enriqueta Román Riechmann
	Miren Garbiñe Roy Ariño
	Juan Ignacio Serrano Vela

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidenta:	Concepción Núñez Pardo de Vera
Vicepresidenta:	Enriqueta Román Riechmann
Vocales:	Eduardo Arranz Sanz
	Francisco Barro Losada
	David Bernardo Ordiz
	Paula Crespo Escobar
	Fernando Fernández Bañares
	Marta Molero Luis
	Miguel Montoro Huguet
	Ángeles Pizarro Moreno
	Isabel Polanco Allué
	Miren Garbiñe Roy Ariño
	Edurne Simón Magro
	Carolina Sousa Martín

JUNTA DIRECTIVA SEEC

Presidente:	Miguel Montoro Huguet
Vicepresidenta:	Concepción Núñez Pardo de Vera
Secretario:	Francisco Barro Losada
Tesorero:	David Bernardo Ordiz
Vocales:	Paula Crespo Escobar
	Marta Molero Luis
	Ángeles Pizarro Moreno
	Edurne Simón Magro

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

GASTROENTEROLOGIA
Y HEPATOLOGIA

SUMARIO

Volumen 45, Especial Congreso 3, Noviembre 2022

VIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC)

Madrid, 15-17 de noviembre de 2022

PONENCIAS INVITADAS Y TALLERES
1

COMUNICACIONES ORALES
29

COMUNICACIONES CORTAS
37

ÍNDICE DE AUTORES
45

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

siones Marsh 0-1 mostraron patrón celiaco (30% aumento aislado de γδ+) vs. el 100% de los 15 con atrofia (7% aumento aislado de γδ+).

Conclusiones: Se confirma la elevada frecuencia de DH con lesiones intestinales no atróficas y con serología negativa o *borderline*. Un linfograma celiaco confirma la presencia de EC en pacientes sin lesiones atróficas, pero no siempre está presente.

Palabras clave: Dermatitis herpetiforme. Linfograma celiaco. Diagnóstico.

CO-9. POSIBILIDAD DE DIAGNÓSTIÇO DE ENFERMEDAD CELIACA SIN BIOPSIA EN POBLACION ADULTA

L. Hurtado de Mendoza[a], A. Yagüe[a], C. Serrano[b], M.J. Martínez-Becerra[b], A. Lanzarote[a], S. Mata[a], A.F. Castañeda[a] y S. Farrais[a]

[a]Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid. [b]Servicio de Inmunología Clínica, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

Introducción: Evaluar si el protocolo de diagnóstico de enfermedad celiaca (EC) sin biopsia intestinal utilizado en población pediátrica asegura un diagnóstico correcto de EC en pacientes adultos.

Métodos: Estudio retrospectivo de daño intestinal y de linfograma intraepitelial (LIEs) en pacientes mayores de 15 años con ATG2X10 LSN (> 150 U/ml) en un hospital de tercer nivel en el periodo comprendido entre 01/10/2016 y 01/10/2021.

Resultados: 155 pacientes tuvieron niveles de ATG2X10 LSN. De estos, 139 tuvieron un diagnóstico de EC (atrofia vellositaria y LIEs caracteristicos). 15 pacientes tuvieron MARSH 0-I y LIEs compatibles (celiacos potenciales): 14 iniciaron dieta sin gluten por signos y síntomas sugestivos de EC, 1 continúa en dieta con gluten (paciente asintomática en tratamiento inmunosupresor por hepatitis autoinmune y esclerosis múltiple). 1 paciente fue MARSH 0 con LIES no compatibles y diagnóstico final de gastroenteritis aguda. Los niveles de anticuerpos fueron significativamente más altos en los pacientes con atrofia que en los pacientes sin atrofia (Marsh 0 y I) (p = 0,009). En 6 pacientes se objetivaron otros hallazgos endoscópicos (esofagitis o esófago de Barrett); todos ellos presentaban datos de alarma que justificaban la endoscopia independientemente del nivel de anticuerpos.

Conclusiones: En la cohorte estudiada, los niveles de ATG2X10LSN en una única determinación se asocian a atrofia vellositaria en aproximadamente el 90% de los pacientes. Aunque en el resto no se evidencia atrofia (EC potencial), casi todos los pacientes se beneficiaron sintomáticamente de la retirada del gluten. El estudio de LIES fue compatible en todos los pacientes con EC o con EC potencial independientemente del daño intestinal. Solo 1 paciente fue un falso positivo para ATG2 (Marsh0+LIES no compatibles) en contexto de GEA. En nuestra serie de pacientes, el no realizar la endoscopia no aumentaría el riesgo de infradiagnóstico de otras patologías si se mantiene la indicación de estudio endoscópico en > 55 años o ante datos de alarma.

Palabras clave: Enfermedad celiaca. Transglutaminasa. Biopsias. Inmunofenotipo. Adultos.

CO-10. ENFERMEDAD CELIACA DEL ADULTO: AUTOANTICUERPOS *VERSUS* BIOPSIA DUODENAL

J.M. Cabo del Riego[a], M.J. Núñez-Iglesias[b], T. Álvarez Fernández[c], A. Blanco-Hortas[d], J. Paz-Carreira[e], S. Novio[b] y M. Freire-Garabal[f]

[a]Departamento de Autoinmunidad, Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Lucus Augusti, Lugo. Programa de Doctorado en Investigación Clínica en Medicina. Universidad de Santiago de Compostela (EDIUS), A Coruña. [b]Departamento de Psiquiatría, Radiología, Salud Pública, Enfermería y Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña. [c]Departamento de Urgencias, Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Lucus Augusti, Lugo. [d]Unidad de Investigación, Fundación Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Hospital Universitario Lucus Augusti, Lugo. [e]Departamento de Hematología, Centro Oncológico de Galicia, A Coruña. [f]Departamento de Farmacología, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña.

Objetivos: Evaluar el rendimiento diagnóstico de los anticuerpos transglutaminasa IgA (IgA-TG2) para el grado de atrofia en la biopsia duodenal de la población adulta.

Métodos: Estudio prospectivo de 264 pacientes adultos sometidos a biopsia intestinal (2012-2020). Rango de edad 15-87 años (media 46,7), 65% mujeres. 175 diagnóstico de EC, 85 no/no concluyente EC y 5 dermatitis herpetiforme (DH). Se han revisado otros hallazgos histopatológicos asociados a la atrofia. Metodología: IgA-TG2 fluoroinmunoensayo (Thermofisher Cientifio®), anticuerpos antiendomisio (IgA-EMA) Inmunofluoresoencia indirecta (IFI AESKU®) ambas técnicas acreditadas norma UNE-EN-ISO 15189. Biopsia: grados de MARSH-Oberhuber. Estudio aprobado por el CE de Galicia (2019/098) ampliado 2022.

Resultados: Los niveles de IgA-TG2 aumentaron de forma significativa a medida que aumentó la clasificación de Marsh (tabla y fig. 1). Se realizó un análisis ROC sobre atrofia AUC 0,860 (0,815-0,905) Cutpoint (Se = Sp) 5.1 Cutpoint (Youden) 8 (fig. 2). Mediana para EC: 51,8 (8,2-135) y no EC: 0,7 (0,3-3,1), p < 0,001. De 65 pacientes con IgA-TG2 ≤ 80 U/mL (*10 ULN), 64 Marsh 3 (Sp = 0,98; VPP = 0,98) y 1 paciente Marsh I posteriormente clasificado como EC. 100% confirmados con EMA-IgA a titulo alto (fig. 2). Rango IgA-TG2 (0,1-4.760); estudiado para cada grado de MARSH: 26,2% seronegativos en adultos utilizando el punto de corte 8 U/mL (fig. 2). 26,7% presentaron condiciones asociadas atrofia; de ellos: 19,35% esofagitis, 80,65% gastritis (52% *Helicobacter pylori*+, 28% gastritis crónica y pólipos gástricos, 16% gastritis erosiva/metaplasia y 4% linfoma gástrico).

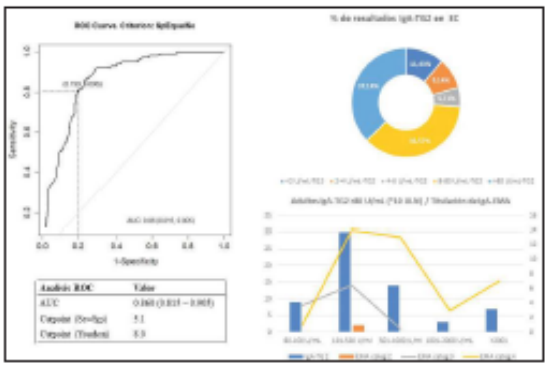


Figura 1.

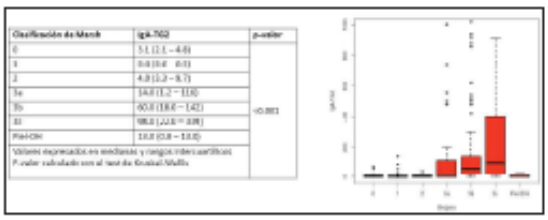


Figura 2.

Conclusiones: En adultos, la especificidad y el VPP de IgA-TG2 en valores ≤ 80 U/mL para atrofia duodenal es 0.98, por lo que la posibilidad de diagnóstico sin biopsia con estos valores de IgA-TG2 podría ser explorada en casos seleccionados. Se describe un alto porcentaje de seronegativos en adultos. Recomendamos utilizar para esta población un *cut-off* > 5 U/mL para la IgA-TG2, valorando una zona gris entre 2-5 U/mL y determinar IgA-EMA y pruebas genéticas especialmente para valores indeterminados.

Bibliografía
1. Alessio M G, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, *et al.* Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2012;55(1):44-9.
2. Bansal E, Kaur N, Mittal N. Can High Titres of Anti Tissue Transglutaminase Antibodies Reduce the Need for Intestinal Biopsy for Diagnosis of Celiac Disease? Ind J Clin Biochem. 33(4):456-60.
3. Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S, Arias L, Fuentes D, Alvarez N, Calleja S, *et al.* Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody titers are present. World J Gastroenterol. 2009;15:4775-80.

Palabras clave: Enfermedad celíaca. Diagnóstico. Serología. Anticuerpos antitransglutaminasa. Biopsia duodenal.

CO-11. ¿PUEDE UN PARÁSITO INTESTINAL CAUSAR ANTICUERPOS PERSISTENTEMENTE ELEVADOS? PRESENTACIÓN DE CASO

A.F. Castañeda, A. Yagüe, S. Mata, L. Blas, J.C. Porres y S. Farrais

Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

Introducción: El diagnóstico de la enfermedad celíaca (EC) constituye un reto para cualquier facultativo, llevando fácilmente a errores especialmente dados por la interpretación de pruebas serológicas aisladas sin un contexto clínico adecuado[1]. Dentro las principales herramientas no invasivas que disponemos actualmente se encuentran los anticuerpos antitransglutaminasa IgA (TGA) cuyo valor predictivo positivo es del 95%[2]. Dentro de sus falsos positivos figura el daño tisular duodenal por diferentes factores lesivos, como puede ser un parásito intestinal.

Caso clínico: Presentamos el caso de un varón de 25 años, sin antecedentes de interés, derivado a consulta para descartar EC dado un cuadro de distensión abdominal dolorosa y meteorismo de años de evolución, con presencia de TGA positivos. En el estudio completo se detecta una genética positiva para HLA DQ2 y DQ8, LIES con linfograma parcial (linfocitos T TCRγδ+ elevados) y ausencia de atrofia duodenal. Se inicia dieta sin gluten estricta durante más de 8 meses, sin mejoría clínica y con persistencia de anticuerpos elevados. Dado lo anterior, se realiza cápsula endoscópica en la que destaca en duodeno distal un parásito filiforme adherido a la mucosa, que por su morfología y localización concuerda con un *Ancylostoma duodenale*. Sin embargo, no se consigue aislar en cultivos aunque tras tratamiento empírico con Mebendazol, presenta una notable mejoría clínica con negativización de anticuerpos, la cual se mantiene a pesar de reintroducción del gluten.

Discusión: La parasitosis intestinal es una causa rara de elevación persistente de TGA, lo cual puede darnos un resultado falsamente positivo para EC. Este caso denota la importancia de hacer un adecuado diagnóstico diferencial con las herramientas disponibles actualmente, como lo es la cápsula endoscópica[4], en aquellos pacientes en los que no obtengamos la mejoría esperada tras una adecuada dieta sin gluten, dada la repercusión que puede suponer para nuestros pacientes tanto a nivel económico como en calidad de vida[5].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Bibliografía
1. Schiepatti A, Savioli J, Vernero M, Borrelli de Andreis F, Perfetti L, Meriggi A, *et al.* Pitfalls in the Diagnosis of Coeliac Disease and Gluten-Related Disorders. Nutrients. 2020;12(6):1711.
2. 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.
3. Cai MY, Huang Y, Xu JX, Zhou PH. Mating Ancylostoma duodenale under magnifying endoscopy. Gastrointest Endosc. 2016;84(6):1067.
4. Phillips F, Beg S. Video capsule endoscopy: pushing the boundaries with software technology. Transl Gastroenterol Hepatol. 2021;6:17.
5. Martínez-Martínez MI, Alegre-Martínez A, García-Ibáñez J, Cauli O. Quality of Life in People with Coeliac Disease: Psychological and Socio-Economic Aspects. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2019;19(2):116-20.

Palabras clave: Diagnóstico. Enfermedad celíaca. Antitransglutaminasa.

Sesión IV - Enfermedad celíaca en la infancia y en la adolescencia

CO-12. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CELIACA PEDIATRICA EN DOS ÁREAS SANITARIAS DE ASTURIAS

D. Pérez-Solís[a], B. Montes-Zapico[a], C. Molinos-Norniella[b], C. Menéndez-Arias[c] y S. Rodríguez-Manchón[a]

[a]*Servicio de Pediatría, Hospital Universitario San Agustín, Avilés.*
[b]*Servicio de Pediatría, Hospital Universitario de Cabueñes, Gijón.*
[c]*Servicio de Pediatría, Hospital Vital Álvarez Buylla, Mieres.*

Introducción: En las últimas décadas se ha descrito una tendencia al aumento de la incidencia de enfermedad celíaca (EC) y al predominio de formas de presentación menos sintomáticas. El objetivo de este estudio es describir las características clínicas de la EC en población pediátrica de dos áreas sanitarias de Asturias y estimar su incidencia.

Métodos: Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico de pacientes de las áreas sanitarias III (Avilés) y V (Gijón) incluidos en el Registro Español de Pacientes Celiacos pediátricos REPAC2 (enero 2011-junio 2017). Se recogieron datos demográficos, síntomas, somatometría y pruebas diagnósticas. Se calculó la tasa de incidencia según el padrón municipal.

Resultados: Se incluyen 99 casos (50,5% niñas): 72 del área V y 27 del área III. Mediana de edad: 3,1 años (P25-P75: 1,6-7,7). La forma de presentación más frecuente fue la EC clásica (76,8%), con un 2,0% de asintomáticos. Un 77,8% tenían síntomas gastrointestinales al diagnóstico. Los síntomas más frecuentes fueron la pérdida/estancamiento de peso (55,7%) y la diarrea (49,5%). Respecto al resto de España, en Asturias se registró una mayor proporción de desnutrición (20,7 *vs.* 4,6%, p < 0,001) y de tipaje HLA (98,8 *vs.* 88%, p = 0.003), y menor frecuencia de formas asintomáticas (2,4 *vs.* 9,8%, p = 0,026) y de biopsias (28 *vs.* 62,1%, p < 0,001). La tasa de incidencia de EC basada en diagnósticos hospitalarios según criterios ESPGHAN 2020 fue de 32,1 (IC95%: 26,1-39,1) por 100.000 personas-año.

Conclusiones: Se identifican diferencias geográficas en la presentación y diagnóstico de EC, y un aumento de su incidencia en comparación con estudios previos. Puede existir un sesgo de selección hospitalario, por lo que sería necesario estudiar también los casos extrahospitalarios.

ANEXO 10.4.

Clinical and Translational Gastroenterology

Time trends incidence of celiac disease in a Spanish population

Julia María Cabo del Riego [1,2,3,*], María Jesús Núñez-Iglesias [3,4,*], Andrés Blanco Hortas [6], Tamara Álvarez Fernández [1], Silvia Novio Mallón [3,4], Sofía Zaera [1], José Paz Carreira [5], Carmen García-Plata González[7], José Abel González-Ramirez[8] and Manuel Freire-Garabal Núñez [3,9]

[1] Clinical Analysis Laboratory, Department of Immunology, Lucus Augusti University Hospital, 27003 Lugo, Spain; julia.maria.cabo.del.riego@sergas.es (J.M.C.d.R); tamara.alvarez.fernandez@sergas.es (T.A.F.); sofia.rosario.zaera.penas@sergas.es (S.Z.)
[2] Doctoral Programme in Medicine Clinical Research, International PhD School of the University of Santiago de Compostela (EDIUS), 15782 Santiago de Compostela, Spain
[3] SNL Laboratory, School of Medicine and Dentistry, University of Santiago de Compostela, 15782 A Coruña, Spain; mjesus.nunez@usc.es (M.J.N.-I.); julia.maria.cabo.del.riego@sergas.es (J.M.C.d.R); silvia.novio@usc.es (S.N.M.); manuel.freire-garabal@usc.es (M.F-G.N.)
[4] Department of Psiquiatry, Radiology, Public Health, Nursing and Medicine, University of Santiago de Compostela, 15782 A Coruña, Spain
[5] Department of Hematology, Oncology Center of Galicia, 15009 A Coruña, Spain; jose.paz.carreira@sergas.es (J.P.C)
[6] Health Research Institute Foundation (FIDIS) of Santiago de Compostela, Lucus Augusti University Hospital, 15706 Santiago de Compostela, Spain; andres.blanco.hortas@sergas.es.(A.B.H)
[7] Pediatric Gastroenterology Service, Lucus Augusti University Hospital, 27003 Lugo, Spain; carmen.garcía-plata.gonzalez@sergas.es (C.G-P.G).
[8] Gastroenterology Service, Lucus Augusti University Hospital, 27003 Lugo, Spain; jose.abel.gonzalez.ramirez@sergas.es (J.A.G-R).
[9] Department of Pharmacology, Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

Abstract:

OBJETIVES- There are few studies on celiac disease (CD) incidence in the overall population in Spain. We evaluate the time trend incidence of CD in children, adults and elderly.

METHODS: Prospective study. Using an integrative primary and hospital care setting approach with a standardized algorithm we identify all new cases of CD from January 1, 2012 to December 31, 2019 in a well-defined area of Galicia County, Spain. The crude incidence rate of CD was calculated as new cases per 100.000 person-years. Incidence rates were stablished by age categories 0–4, 5–19, 20–44, 45–64, 65-84, ≥85 and periods of 1-year intervals.

RESULTS Between 2012 and 2019, 19,564 patients with suspicion and risk of CD were tested. 294 new cases of CD were diagnosed. Increasing CD incidence was observed from 13.11 per 100.000 person-years in 2012 to 20.92 per 100.000 100.000 person-years in 2019 (95% CI=6.8-15.5). The temporal trend in incidence rates diverges between different age groups; showing a high incidence with stable pattern in child and young whereas exhibited an increasing incidence in adult/elderly, so that the incidence almost triples from 2012 to 2019. Based on classic CD symptoms decreasing frequency among incident cases was observed over time period.

CONCLUSIONS A standardized algorithm to CD diagnosis with prime-line serology testing followed by biopsy, if was mandatory, confirmed the CD increasing incidence over 8 years period.

KEYWORD celiac disease, incidence, diagnose, child, adult, elderly

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

*Correspondence and reprint requests: mjesus.nunez@usc.es (M.J.N.-I.). Tel.: +34-881812374.
Independence (role of the sponsors): None of the funders had any role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; and preparation, review, or approval of the manuscript.
Potential competing interests: None
Writing Assistance: None.
Author contributions:
ICMJE criteria for authorship read and met: J.M.C.d.R., , M.J.N.-I , A.B.H , T.A.F, S.N.M., S.Z., J.P.C, C.G-P-.C; J.A.G-R , M.F-G.N.
Agree with the manuscript's results and conclusions: J.M.C.d.R., , M.J.N.-I , A.B.H , T.A.F, S.N.M., S.Z., J.P.C, C.G-P-.C; J.A.G-R , M.F-G.N.
Designed the experiments/the study: M.C.d.R., M.J.N.-I
Collected data: M.C.d.R
Analyzed the data: M.C.d.R., , M.J.N.-I , A.B.H ,
Wrote the first draft of the paper: .M.C.d.R., , M.J.N.-I
Contributed to the writing of the paper: J.M.C.d.R., , M.J.N.-I , A.B.H , T.A.F, S.N.M., S.Z., J.P.C, C.G-P-.C; J.A.G-R , M.F-G.N.
Contributed to design of study and interpretation of the data analyses: J.M.C.d.R., , M.J.N.-I , A.B.H , T.A.F, S.N.M., S.Z., J.P.C, C.G-P-.C; J.A.G-R , M.F-G.N.
Interpretation of data: M.C.d.R., , M.J.N.-I , A.B.H., T.A.F, S.N.M., S.Z., J.P.C, C.G-P-.C; J.A.G-R , M.F-G.N.
Approved the final version of the manuscript: J.M.C.d.R, M.J.N.-I ,A.B.H , T.A.F, S.N.M., S.Z., J.P.C, C.G-P-.C; J.A.G-R , M.F-G.N.
Supervised the project: M.C.d.R., , M.J.N.-I
Obtained funding: M.C.d.R

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

77

78 ## INTRODUCTION

79 Celiac disease (CD) is a chronic immune-mediated disorder characterized by gastrointestinal
80 and extra-intestinal manifestations, CD-specific autoantibodies [transglutaminase 2 (TG2),
81 endomysial (EMA) and deamidated forms of gliadin peptides antibodies], HLA-DQ2 and/or
82 DQ8 haplotypes, and enteropathy which is developed in genetically susceptible individuals
83 in response to gluten and related prolamins ingestion; being a gluten-free diet (GFD) an ef-
84 fective treatment for the majority of patients [1].

85 Review and meta-analysis studies showed increasingly CD incidence [2-4] which varies ge-
86 ographically. This variation appears to be associated with several factors such as the preva-
87 lence of HLA DQ2, wheat consumption [4], age related-patterns of CD presentation [5,6],
88 race [2] as well as in testing and diagnostic paradigms [2, 3, 7, 8]. Thus, further studies are
89 required on the incidence of CD.

90 Studies are scarce on temporal trends in CD incidence, particularly including children, adults
91 and elderly [2]. In a recent systematic review and meta-analysis [2] defining the worldwide
92 incidence of CD (50 studies with adequate data for analysis) only 21 studies showed CD in-
93 cidence across all age groups but stablished with non-homogenous diagnose criteria. In this
94 study we analyzed temporal trend in CD incidence including child, adults and elderly by
95 using a standardized CD diagnostic algorithm, performed under control of quality [ISO, in-
96 terlaboratory comparison programs for analysis and interpretation of the results (UK NEKAS
97 SEQC), the Quality Club Control (ThermoFisher, Friburgo, Germany].

98 Furthermore, there are few studies on temporal trends in CD incidence that applied an inte-
99 grative approach between different health care levels to analyze CD incidence [5, 7]. In this
100 regard, this study was based on the use an integrative diagnostic approach between primary
101 and hospital health care levels. The aim of this study was to analyze the incidence of CD in
102 one Galicia County population (Spain, Southwestern Europe), between 2012 and 2019.

103 ## METHODS

104 ### Setting

105 Galicia County, situated in the Southwestern of Europe at the northwest side of Spain, is one
106 of the 17 administrative regions with 17 regional departments of health into which Spain is
107 divided.

108 Spanish National Health System [Sistema Nacional de Salud (SNS)] provides free access,
109 equity and fairness of financing for all residents. SNS is under national principles with de-
110 centralized organization and delivery which correspond to each of those regional depart-
111 ments. The coordination of SNS derived from the SNS Interterritorial Council (CISNS) inte-
112 grated by integrated by the Health Minister of Spain and the 17 Health Regional Ministers
113 (called counsellors]. Additionally, some specialized agencies brings support; including the
114 Network of Agencies for the Evaluation of Health Technologies and Benefits, the Agency for
115 Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition, Agency for Medicines and Medical Devices,
116 the National Transplants Organization, the Institute for Health Carlos III (Instituto de Salud
117 arlos III, ISCIII) (Ministry of Science and Competitiveness) [9,10].

118 Galicia´s Health System [Servicio Gallego de Salud (SERGAS)] is the major provider of health
119 care in Galicia. It is structured in 7 well-defined functional and organizational geographical
120 health care areas which coordinated health care between primary and hospital care settings.
121 [11]. SERGAS has a unique medical records linkage system.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

This study was performed in Lucus Augusti University Hospital (HULA), a tertiary hospital referral for one of the 7 well-defined functional and organizational geographical health care areas.

In 2012, was initiated an integrative health care approach for the CD diagnosis, including primary and hospital health care providers, with the computerized standardization of the serological diagnostic procedure and an algorithm for confirm CD diagnose, according to the updated national and European guides [1,12].

From 2012 to 2019, 19,564 residents of HULA health-area with suspicion and at risk of CD were referred to HULA to confirm CD diagnosis.

The time frame used in our study (2012-2019) was determined by three main aspects: (1) ESPGHAN (European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) 2012 CD diagnostic guidelines [1]; (2) 2020 update of ESPGHAN 2012 guide [13] and (3) to avoid Covid-19 pandemic (on 31 January 2020 was reported the first confirmed case of the 2019 novel Coronavirus in Spain).

CD diagnose and data collection

Figure 1 and Table 1 show CD algorithm and diagnosis techniques, respectively. Since serological test and histopathological has a main role in CD diagnosis, the quality control process of those tests was guaranteed by internal and external quality assessment procedure including: (a) positive and negative control samples analyzed in each run; (b) accreditation UNE-EN-ISO 15189 standard of clinical laboratories (accreditation May 2011; reaccreditation 2013, 2015, 2017, 2019 and 2020); (c) participation in Interlaboratory Comparison Programs for analysis and interpretation of the results such as UK NEKAS (SEQC) United Kingdom and the Quality Club Control (ThermoFisher, Friburgo, Germany);(d) standardized biopsy and samples analysis by expertise. Data were collected under pseudonymisation technique and policy guidance by Institutional Ethic Committee according to current legislation.

Ethical considerations

The study follows the ethical guidelines given in the Declaration of Helsinki. This study was initiated in 2012 and concluded in 2019, following the corresponding successive approvals of Institutional Ethic Committee (last code number 2019/098). Patient´s authorization and data use were performed under operational policy and procedures stablished by Institutional Ethic Committee and current legislation Regulation (EU) 2016/679 and Organic Law 3/2018.

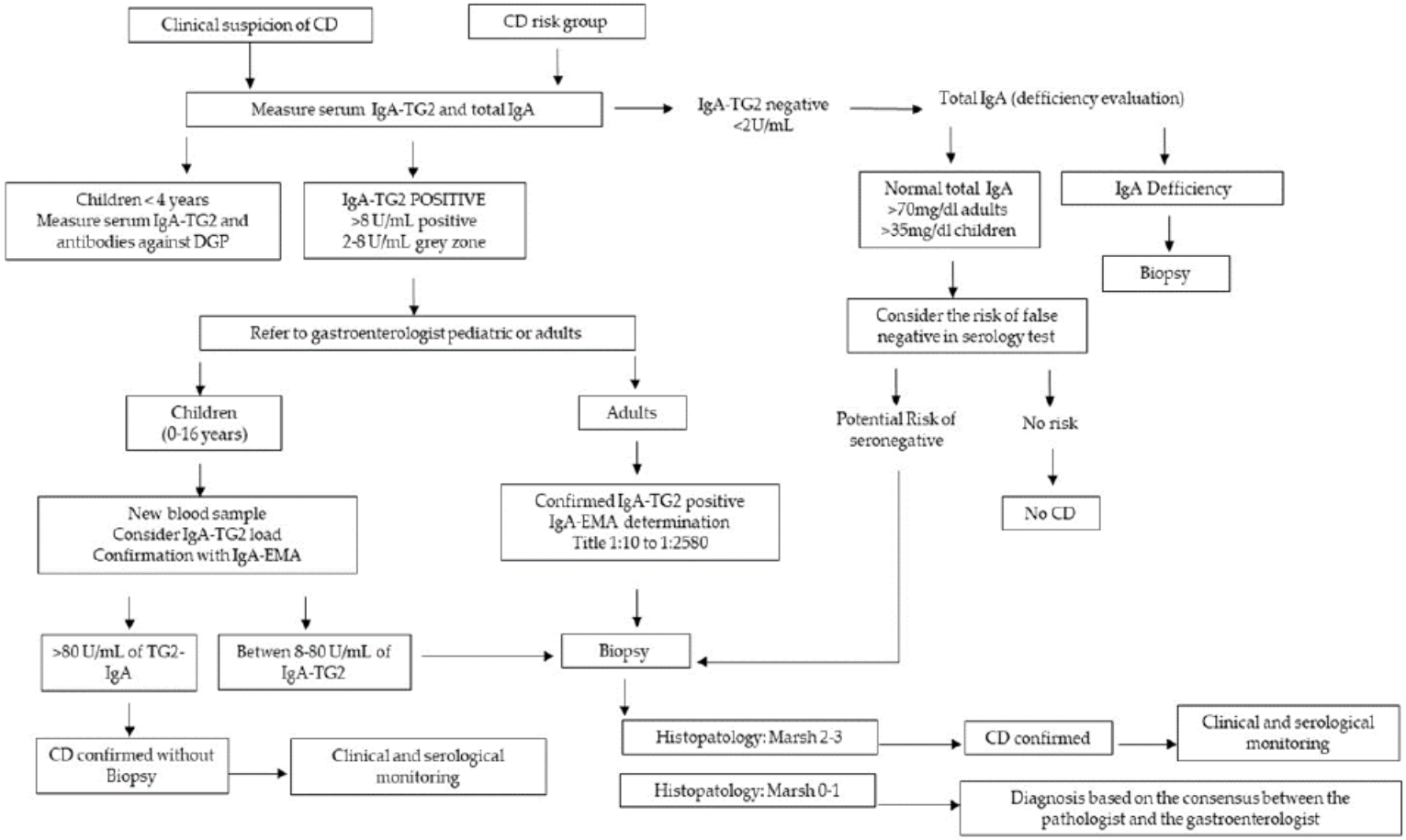
Statistical Analysis

Annual crude incidence rates were computed as new cases per 100,000 person-years all age range. Data from the Galician registry of statistics and the municipal register of inhabitants from 2012 to 2019 were used for the calculation of incidence. We tabulated incidence rates according to age categories 0–4, 5–19, 20–44, 45–64, 65-84, ≥85 and periods of 1-year intervals.

Results were summarized with absolute and relative frequencies in case of categorical variables. Continuous variables were presented by mean and standard deviation. Comparison of categorical variables was performed with Chi-square test. ANOVA test was used to compare means of IgA-EMA and IgA-TG2 and age groups. Smooth evolution of incidences along years by gender and age groups were modeling by loess procedure (Local Polynomial Regression Fitting). Finally, ANCOVA (analysis of covariance) model were fitted to study the different CD manifestations. Statistically significant differences are considered with $p < 0.05$. SPSS 22.0 and R 3.6.3 were used.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

166



167
168 **Figure 1.** Flow chart of CD diagnosis. Abbreviations: CD, Celiac diasease; IgA-EMA, endomysial IgA antibodies;IgA TG2, Tissue transglutaminase IgA antibody.

RESULTS

CD Diagnosis

From 2012 to 2019, 294 new cases of CD were diagnosed. Among them, 23 (8.01%) had been identified through family screening.

Table 2 show results of CD serological biomarkers diagnostic test. All patients with TG2-IgA >2U/ml were tested for EMA. The correlation between the TG2-IgA and EMA-IgA titers was statistically significant ($p<0.001$), and all patients (including adults) with TG2-IgA titers > 80U/ml tested positive for EMA.

HLA genotyping was measured in 178 patients and their genetic distribution was: HLA DQ 2.5, 138 (77.53%); HLA DQ 8, 12 (6.74 %); HLA DQ 2.2 11 (6.18 %); HLA DQ 2.5 + DQ8 10 (5.62%); No DQ, 7 (3.93%). The results of small-bowel biopsy are observed in Table 3.

Clinical manifestations exhibited a changed pattern from classical manifestations to extra-intestinal as well as intestinal non classical ones (section temporal trends in CD incidence according to clinical manfestations) .

Temporal trends in CD incidence

The overall annual incidence of CD increased from 13.11 per 100.000 person-years in 2012 to 20.92 per 100.000 person-years in 2019 (Table 4).

The time trends of incidence rates of CD are shown in Figure 2.

Regarding to age groups (Table 5), children´s incidence was high over the entire study period in comparison to the remaining age groups (Table 5, Figure 2 A and C). Particularly, high incidence rate was observed in female children <4 years of age. In adults/elderly age groups the annual incidence rates increased over the study period. Thus, the incidence rate was 6.79 per 100,000 person-years in 2012 and 16.55 per 100,000 person-years in 2019. Specifically, in women aged 45-64 and 65-84 years, significant increases in incidence were seen compared to men in the same age ranges (Table 5; Figure 2B).

When considering gender, it is to note divergent time trends in CD. Among women, incidence increased from 2016 to 2019 whereas among men, incidence has been in decline since 2016 (Figure 2B).

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

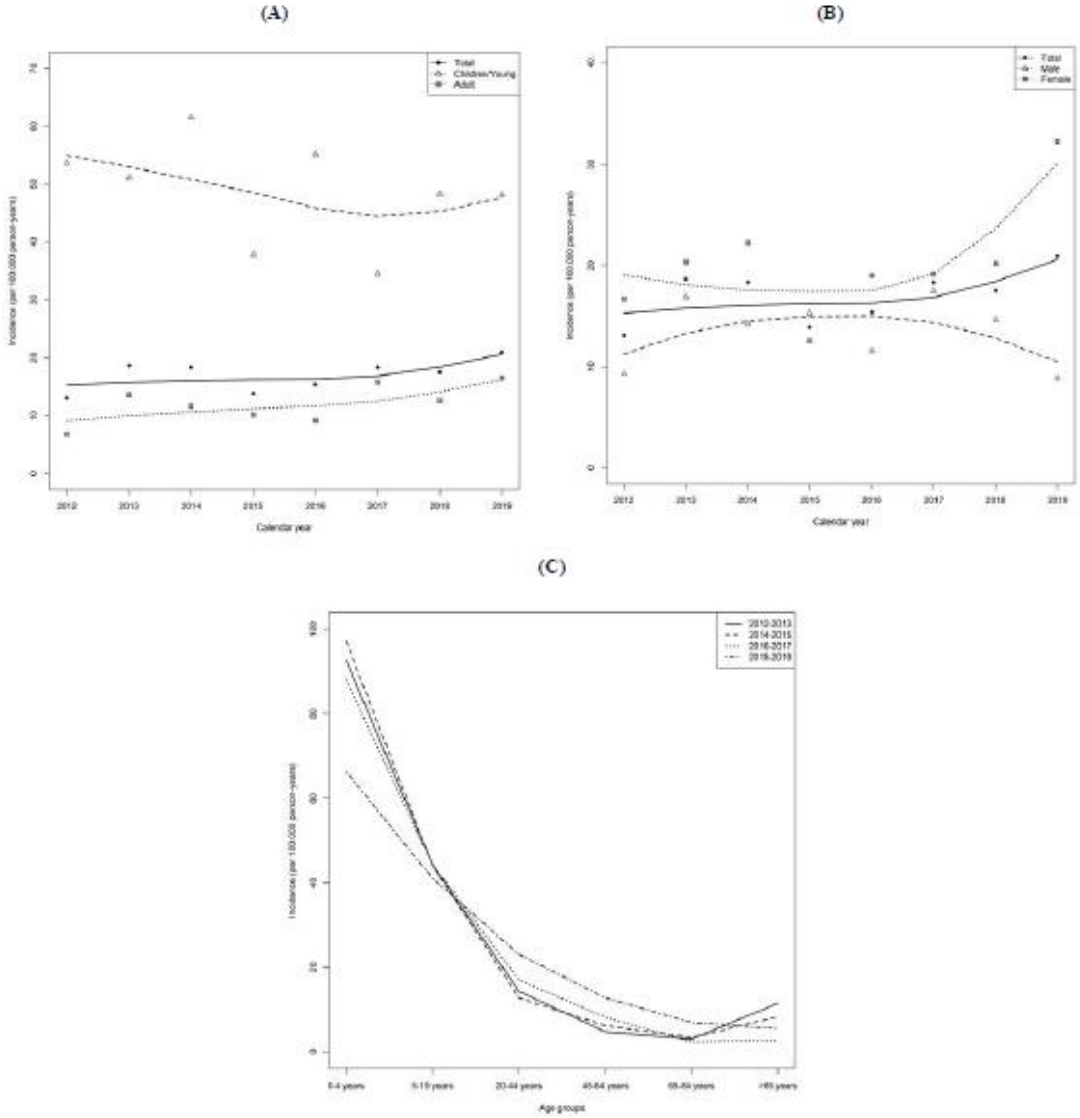


Figure 2. Loess Smoothing and prediction by (A) children/young vs adults/elderly, (B) gender and (C) age groups.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Temporal trends in CD incidence according to clinical manifestations

Figure 3 shows temporal tend in the proportion of CD manifestations. Over time the proportion of cases showing classic manifestations (diarrhea, weith lost) decreased significantly ($p<0.001$) while increased extra-intestinal (anemia, osteoporosis, infertility, etc.) as well as intestinal non classical ones (abdominal distension, esophagitis, etc.).

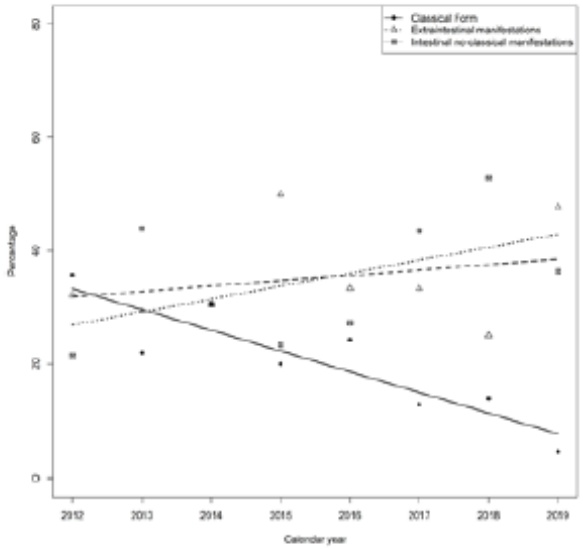


Figure 3. Temporal tends in the proportion of classical manifestations in incidence CD cases. ANCOVA regression lines. Abbreviations: ANCOVA, analysis of covariance; CD, celiac disease

DISCUSSION

This study is the first Spanish study on time trends of CD incidence that includes children, adults and elderly. Other studies in our country are specifically targeted to children [14, 15] or adults [16].

We have verified an increasing CD incidence from 13.11 per 100.000 person-years in 2012 to 20.92 per 100.000 person-years in 2019. By comparing this data with those corresponding to other countries of Southwestern Europe [2] (review and meta-analysis) is evident a similar evolution. As an example, Italy exhibited <4.6 per 100.000 person-years and >12.7 per 100.000 person-years before and onwards 2000. Nevertheless, our incidence is higher.

Based on studies that cover approximately the last half of the 20th and the first years of the 21th centuries [2, 17], CD incidence increasing. Nonetheless, those studies provide discordant intra and intercountry variability. Probably due to the different aspects such as diagnostic algorithm used, coordination between the different levels of health care for the diagnosis of CD, data source for incidence calculation, screening strategies to identify CD, as well as race, gluten related factors, etc. We discuss along this section these aspects.

The number and quality of available serological and genetic tests can be confusing factors. Particularly, inter-country [18] and intra-country [19] large variation in CD diagnostic accuracy was observed. A Spanish study [19] enrolling Spanish Clinical Laboratories including the 17 Spanish well-defined functional and organizational geographical health care areas (each with their own

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

public health care system) showed high variability in the use of serological markers of CD in primary care.

To the best of our knowledge, this is the first study both in Spain and in Southwestern Europe to use an algorithm in a wide sample of patients, 19,565 patients of all ages from 0 to 87 years. We used TG2-IgA for the first-level screening. EMA-IgA test was performed in positive or border-line simples for high positive predictive value (accreditation UNE 15189 and use the same observed for EMA-IgA). The correlation between the TG2-IgA and EMA-IgA titers was statistically significant ($p<0.001$). All patients with TG2-IgA titers > 80U/ml tested positive for EMA. Therefore, measurement of TG2-IgA in a second sample could be used to corroborate the diagnosis of CD based on TG2-IgA without the need for EMA-IgA testing, if TG2-IgA < 80 U/ml; avoiding a subjective and anti-ecological test. In the pediatric groups of age, intestinal biopsy was avoided according to our algorithm based on the ESPGHAN [1] when the child exhibited typical symptoms and signs of CD as well as high titers of IgA-TG2, detectable EMA antibody, and HLA-DQ2/HLA DQ8 positivity. Nevertheless, these criteria are not used worldwide, where biopsy is still required largely in pediatric and adult cases in order to establish CD diagnosis.

CD remains undiagnosed. Thus, 0.5% [20] to 3.0% [3] of the European Union population exhibit undiagnosed CD incidence and prevalence, respectively. Attention should also be drawn to identify CD in individuals belonging to potentially at-risk groups and testing not only patients with traditional gastrointestinal manifestations but also patients with extra-intestinal ones. In this way, in the current study, the screening was performed including all of these individuals. Also, it should be noted that early diagnosis of CD is very important not only for the prevention of complications such as growth retardation, osteoporosis, infertility but also cardiovascular disease and cancer [21]. At the level of Spain, [22] [study on the quality-of-life survey, adults diagnosed in adulthood (n=343) or in childhood (n=58) and their parents (n=139)] showed delay in diagnosis was from 6 months to 2 years in childhood and adulthood, respectively.

CD screening recommendations do not always achieve unanimity [4, 23-26]. Specifically, NICE quality statement 1 on serological testing for CD [26] postulates that "people at increased risk or with symptoms of CD are offered a serological test for CD". The new Guidelines for the Diagnosis of Pediatric Coeliac Disease of ESPHGAN [13] recommended testing for CD individuals with gastrointestinal, extra-intestinal symptoms and signs and conditions such as first-degree relatives with CD and autoimmune conditions, among others.

We should mention that on CD screening, and specifically on first-degree relatives, our view is in line with that of the ESPGHAN [1, 13], the Spanish Work Group on CD diagnosis [12] and NICE [24, 26]. Thus, we identified 8.0% of new CD cases form first-degree relatives of CD patients. It is to note the percentage magnitude. Other studies on children from high-risk families (Leiden, the Netherlands) [27] based on predictive model) showed a cumulative incidence from 7.5% to 17.5% at 3 and 10 years of age, respectively. At the level of Spain, a recent study [22] has verified that the screening of relatives of individuals with CD must be improved since family screening has not been recommended in 20% and 40% of pediatric and adult cases with CD, respectively.

A greater increase in the incidence has been observed in the elderly than in children < 5 years old across Europe [3]. We observed a similar trend. Also, we verified higher CD incidence in women, particularly among adult/elderly group in relation to children and young ones. We attributed this finding, at least in part, to more medical testing and higher prevalence of anemia in adult/elderly which orients to CD testing (one our previous study [28]). Increasing trends in female CD rates have been also reported in other countries [3, 6]. Some studies showed that the risk of undetected CD appeared to be higher among female compared to male [relative risk (RR), 1.42; 95% CI, 1.27-1.57; $p < 0.00001$] [29]. Nevertheless, it was showed that when men show diarrhea or weight loss is less likely to undergo duodenal biopsy and consequently there could be underdiagnosed [30].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

When the changing in the clinical presentation of CD over time is addressed, we observed a changing pattern in CD onset manifestations from traditional gastrointestinal symptoms to "non-classical" symptoms (Figure 3, Results section). It could be related to some factors previously mentioned. Our results are similar to those showed by Ludvigsson et al. [6].

Independently of the factors above mentioned, others can influence the higher CD incidence detected in our study. CD has high prevalence in the Nordic countries or some zones of North Africa where there is high proportion of HLA-DQ2.5 and/or DQ8 carriers. In Western Europe, the Middle East and North Africa, CD is common in paralleled to HLA-DQ2.5 and DQ8 that reach 20% and 10% [4, 31]. In our health care area, we observed similar haplotypes distribution [32, 33]. Paraphrasing to Iversen and Sollid [34], HLA-DQ25 is considered a "chief factor" which is exhibited by around 90% of patients, showing an equal distribution between HLA-DQ2.2 and HLA-DQ8 remaining patients. Nevertheless, HLA genes are a necessary but not a sufficient factor to develop CD [35]. In favor of that postulate is the evidence that only 3% of HLA-DQ2.5-all individuals harboring HLA-DQ8 loci among Europeans that has gluten consumption develop CD [36]. In the same way, among CD patients in Spain 3% are negative for HLA-DQ2.5 and HLA-DQ8. Non-HLA risk loci could be involved in CD pathogenesis [37, 38].According to ESPGHAN 2020 [13], "HLA-testing is not required in patients with positive TGA-IgA if they qualify for CD diagnosis with biopsies or if they have high serum TGA-IgA ≥10xULN and EMA-IgA positivity. A negative test for HLA-DQ2 and/or -DQ8 indicates a very low risk of CD, while a positive result does not confirm the diagnosis. If no risk alleles are found, CD is unlikely".

Additionally, we cannot rule out some environmental risk or protective factors associated with CD that need further study in our health care setting. Wheat-based food consumption could be a contributing factor. Bread is the most common wheat-based food in Spain [39]. Particularly, Galician County, where our study was conducted, is the geographical area of Spain with the highest consumption of bread. As an example, in 2018 bread consumption was 30% higher than the average in Spain, which represents a consumption of 41.37 kg of bread per person per year [40] compared to around 20 Kg of bread per person per year consumption in US [41] or Italy [42] in the same period. Nevertheless not only per capita consumption of wheat flour but also other gluten-related factors (vital gluten as a food additive, variations in individual diets with regard to the amount and types of wheat consumed, wheat genetics, and agronomic practices such as nitrogen fertilization) could contribute to determining the "toxicity" of wheat [43-47] for people with the appropriate genetic susceptibility for CD; mainly those carrying the genes for particular proteins of the major histocompatibility complex, DQ2 and DQ8. Also, gastrointestinal micromilieu and some infectious agents [48-52] appeared to be associated to CD decreased risk and increased protection such as H. pylori, even against villous atrophy in infected persons with CD [52]. H. pylori infection prevalence and H. pylori subtypes shows a great inter-country variability across Europe. It could likely due to sociodemographic, socioeconomic and diet differences [53, 54]. In comparison to other Southwestern European countries such as Italy, Spain shows similar H.pylori prevalence [54.9 (48.6-61.1 95%IC) vs 56.2 (46.9-65.4 95%IC)] [54]. Regard H. pylori subtypes, cagA+ subtype are associated with Marsh 0-1 in CD patients [55]. In Spanish adult population H. pylori seroprevalence, considered as seropositivity among at least four bacterial proteins, is high; being 53.3% for cagA [56].

This study shows some limitations due to the population are predominantly Caucasian. Thereby, our data could be not extrapolated to other populations. The main strength of our study is an integrative health care approach with the availability of unique applicable algorithm under accreditation quality criteria. In our study was used a standard computerized algorithm used by the physicians and pediatrics of primary care as well as hospital pediatrician and gastroenterologist (see Methods section). Murray et al., [5] (1950-2001 Rochester Epidemiology Project.) or Ludvigsson et al. [6] (2000-2010, Rochester Epidemiologic Project and Mayo Clinic) were precursors in postulating an integrative approach between health care providers.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

In conclusion, the increase in incidence of CD between 1912 and 2012 has observed. Standardized algorithm to CD diagnosis with prime-line serology testing followed by biopsy, if was mandatory, confirmed the CD increasing incidence over 8 years period.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Dr. Fernando Bal Nieves and Dr. Jesus Alba Losada for providing us with the histological data.

REFERENCES

1. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 2012;54(1):136-60.
2. King JA, Jeong J, Underwood FE, et al. Incidence of Celiac Disease Is Increasing Over Time: A Systematic Review and Meta-analysis. Am J Gastroenterol. 2020;115(4):507-25.
3. Roberts SE, Morrison-Rees S, Thapar N, et al. Systematic review and meta-analysis: the incidence and prevalence of paediatric coeliac disease across Europe. Aliment Pharmacol Ther. 2021;54(2):109-28.
4. Kang JY, Kang AHY, Green A, et al. Systematic review: worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. Aliment Pharmacol Ther. 2013;38(3):226-45.
5. Murray JA, Dyke CV, Plevak MF, et al. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950–2001. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2003;1(1):19-27.
6. Ludvigsson JF, Rubio-Tapia A, van Dyke CT, et al. Increasing incidence of celiac disease in a North American population. Am J Gastroenterol.2013;108(5):818-24.
8. Norström F, Myléus A, Nordyke K, et al. Is mass screening for coeliac disease a wise use of resources? A health economic evaluation. BMC Gastroenterol. 2021;21(1):159.
9 OECD/European Observatory on Health Systems and Policies (2019), Spain: Country Health Profile 2019, State of Health in the EU, OECD Publishing, Paris/European Observatory on Health Systems and Policies, Brussels. ISBN 9789264943360 (PDF). Series: State of Health in the EU. SSN 25227041 (online).
10 Bernal-Delgado E, García-Armesto S, Oliva J et al. Spain: Health system review. Health Systems in Transition.2018;20(2):1–179.
11 INAP. Instituto Nacional de Administraciones Públicas. Ministerio de Hacienda y Función Pública. Gobierno de España. Legislación. Areas Sanitarias y Distritos Sanitarios de Salud. 2019.
12 Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Grupo de trabajo del Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS). 2018.
13 Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó I, et al. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020. JPGN. 2020;70(1):141-56.
14 Vitoria JC, Sojo A, Martín E et al. Incidence of celiac disease in Vizcaya. An Esp Pediatr. 1991;35(4):251-53.
15 Cilleruelo ML, Roman-Riechmann E, Sanchez-Valverde F et al. Spanish National Registry of Celiac Disease: Incidence and Clinical Presentation. JPGN. 2014;59(4):522-26.
16 Fernández A, González L, Fuente JDL. Coeliac disease: clinical features in adult populations. Rev Esp Enferm Dig. 2010; 102(8):466-71.
17 Caio G, Volta U, Sapone A, et al. Celiac disease: a comprehensive current review. BMC 2019;17(1):142.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

18 Elwenspoek MMC, Jackson J, O'Donnell R et al. The accuracy of diagnostic indicators for coeliac disease: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2021;16(10):e0258501.
19 Salinas M, López-Garrigós M, Flores E, et al. Big differences in primary care celiac disease serological markers request in Spain. Biochem Med (Zagreb). 2017;27(1):231-36.
20 Altobelli E, Paduano R, Petrocelli R. Burden of Celiac Disease in Europe: a review of its childhood and adulthood prevalence and incidence as of September 2014. Ann Ig. 2014;26(6):485-98.
21 Kårhus LL, Skaaby T, Petersen J et al. Long-term Consequences of Undiagnosed Celiac Seropositivity. Am J Gastroenterol. 2020;115(10):1681-88.
22 Casellas F,Argüelles F, Burgos R et al. National survey on the experiences of people with celiac disease in Spain. The CELIAC-SPAIN project. Rev Esp Enferm Dig. 2020;112 (5):343-54.
23 Hill I.D, Fasano A, Guandalini S et al. NASPGHAN Clinical Report on the Diagnosis and Treatment of Gluten-related Disorders. JPGN. 2016;63(1):156-65.
24 National Institute of Care Excelence. UK NIH. 2019 surveillance of coeliac disease: recognition, assessment and management. NICE guideline NG20. [Published: 18 december 2019][Acces 12 June 2023]. Available in: https://www.nice.org.uk/guidance/ng20/resources/2019-surveillance-of-coeliac-disease-recognition-assessment-and-management-nice-guideline-ng20-pdf-9097196600005
25 Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ et al. US Preventive Services Task Force. Screening for Celiac Disease US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. JAMA.2017;317(12):1252-57.
26 NICE. Coeliac disease Quality standard [QS134] Quality standar. Quality statement 1: Serological testing for coeliac disease [Published: 19 October 2016][Acces 12 June 2023]. Available in: https://www.nice.org.uk/guidance/qs134/chapter/Quality-statement-1-Serological-testing-for-coeliac-disease
27 Meijer CR, Auricchio R, Putter H et al. Prediction Models for Celiac Disease Development in Children From High-Risk Families: Data From the Prevent CD Cohort. Gastroenterology. 2022;163(2):426-36.
28 Cabo Del Riego JM, Núñez-Iglesias MJ, Paz Carreira J, et al. Red Cell Distribution Width as a Predictive Factor of Celiac Disease in Middle and Late Adulthood and Its Potential Utility as Celiac Disease Screening Criterion. IJERPH. 2022;20(1):66.
29 Jansson-Knodell CL, Hujoel IA, West CP, et al. Sex Difference in Celiac Disease in Undiagnosed Populations: A Systematic Review and Meta-analysis. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2019;17(10):1954-1968.e13.
30 Lebwohl B, Tennyson, CA, Holub JL et al.. Sex and racial disparities in duodenal biopsy to evaluate for celiac disease. Gastrointest Endosc;76(4):779-85.
31 Viken MK, Flåm ST, Skrivarhaug T, et al. HLA class II alleles in Norwegian patients with coexisting type 1 diabetes and celiac disease: HLA.89(5):278-84.
32 Cabo-del Riego JM, García-Plata C, Rodríguez P, et al. Estudio de incidencia de haplotipos HLA DQ2/DQ8 en el área sanitaria de Lugo. Proceedings of IV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca. 2014.
33 Ferreiro-Mazón, P. Tipificación del HLA en niños celíacos del área de Lugo y porcentaje de familiares celiáticos. Bachelor's Thesis. Medicine Degree. School of Medicine and Dentistry.University of Santiago de Compostela. 2014.
34 Iversen R, Sollid LM. The Immunobiology and Pathogenesis of Celiac Disease. Annu Rev Pathol. 2023;18:47-70.
35 Ludvigsson JF, Murray JA. Epidemiology of Celiac Disease. Gastroenterol Clin North Am. 2019;48(1):1-18.
36 Sallese M, Lopetuso LR, Efthymakis K, et al. Beyond the HLA Genes in Gluten-Related Disorders. Front Nutr. 2020;7:575844.

UNIVERSIDADE SANTIAGO COMPOSTELA

37 Núñez C, Garrote JA, Arranz E, et al. Recommendations to report and interpret HLA genetic findings in coeliac disease. Rev Esp Enferm Dig. julio de 2018;110(7):458-61.

38 Fernández-Bañares F, Arau B, Dieli-Crimi R, et al. Systematic Review and Meta-analysis Show 3% of Patients With Celiac Disease in Spain to be Negative for HLA-DQ2.5 and HLA-DQ8. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2017;15(4):594-6.

39 Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación. Gobierno de España 2019. NIPO 03191619. Gobierno de España; 2019.

40 Trenda E. Bread consumption volume in Spain from 2008 to 2022. Statista. 2022 Available in https://www.statista.com/statistics/443940/bread-consumption-volume-in-spain/.

41 Nils-Gerrit Wunsch. Per capita consumption of the bread and cereal products in the U.S. 2017-2027 2023. Available in https://www.statista.com/forecasts/1374278/size-of-the-bread-and-cereal-product-market-in-the-united-states

42 Statista Market Insights. Breat-Italy. Available in: https://www.statista.com/outlook/cmo/food/bread-cereal-products/bread/italy.

43 Kasarda DD. Can an increase in celiac disease be attributed to an increase in the gluten content of wheat as a consequence of wheat breeding? J Agric Food Chem. 2013;61(6):1155-9.

44 Verrill L, Zhang Y, Kane R. Food label usage and reported difficulty with following a gluten-free diet among individuals in the USA with coeliac disease and those with noncoeliac gluten sensitivity. J Hum Nutr Diet. 2013;26(5):479-87.

45 Shewry PR, Hassall KL, Grausgruber H, et al. Do modern types of wheat have lower quality for human health? Nutr Bull. 2020;45(4):362-73.

46 Brouns F, Geisslitz S, Guzman C, et al. Do ancient wheats contain less gluten than modern bread wheat, in favour of better health? Nutr Bull. 2022;47(2):157-67.

47 Pronin D, Börner A, Weber H, et al. Wheat (Triticum aestivum L.) Breeding from 1891 to 2010 Contributed to Increasing Yield and Glutenin Contents but Decreasing Protein and Gliadin Contents. J Agric Food Chem. 2020;68(46):13247-56.

48 Sánchez D, Hoffmanová I, Szczepanková A et al. Contribution of Infectious Agents to the Development of Celiac Disease. Microorganisms. 2021;9(3):547.

49 Caio G, Lungaro L, Segata N, Guarino M, Zoli G, Volta U, De Giorgio R. Effect of Gluten-Free Diet on Gut Microbiota Composition in Patients with Celiac Disease and Non-Celiac Gluten/Wheat Sensitivity. Nutrients. 2020;12(6):1832.

50 Lebwohl B, Blaser MJ, Ludvigsson JF et al. Decreased risk of celiac disease in patients with Helicobacter pylori colonization. Am J Epidemiol. 2013;178(12):1721-30.

51 Amlashi FI, Norouzi Z, Sohrabi A et al. A systematic review and meta-analysis for association of Helicobacter pylori colonization and celiac disease. PLoS One. 2021;16(3):e0241156.

52 Maxim R, Pleşa A, Stanciu C et al. Helicobacter pylori prevalence and risk factors among children with celiac disease. Turk J Gastroenterol. 2019;30(3):284-89.

53 Nilüfer A. The geohraphic variance of Helicobacter pyori infection in Europe and its impact on the incidence of gastric cancer.EMJ Gastroenterol. 2014;3: 94-102.

54 Hooi JKY, Lai WY, Ng WK et al. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology. 2017;153(2):420-29.

55 Lucero Y, Oyarzún A, O´Ryan M et al. Helicobacter pylori cagA+is assoiated with milder duodenalhistological changes in Chilean celiac patients. Front Cell Infect Microbiol. 2017

56 Lorenzo I, Fernández-de-Larrea N, Michel A, et al. Helicobacter pylori seroprevalence in Spain: influence of adult and childhood sociodemographic factors. Eur J Cancer Prev. 2019;28(4):294-303.

57 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.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO 10.5

SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

PLAN DE MEJORA 2023

ÁREA: AUTOINMUNIDAD

OBJETIVOS

Nº OBJETIVO	DESCRIPCIÓN OBJETIVO	F. INICIO	F. FINAL	RESPONSABLE	RESULTADO
7	Modificación de los Valores de Referencia en niños y adultos para la Enfermedad Celíaca (EC), basados en un estudio prospectivo propio con resultados histológicos de biopsias intestinales.	15-09-2022	30-06-2023	Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Sánchez Dra. Maiz	**APTO**

Nº META	DESCRIPCIÓN META				RESULTADO
1	Diseño y planificación.	15-09-2022	15-10-2022	Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Sánchez Dra. Maiz	APTO
2	Desarrollo.	16-10-2022	14-04-2023	Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Sánchez Dra. Maiz	APTO
3	Implantación.	30-06-2023		Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Sánchez Dra. Maiz	APTO

SEGUIMIENTO: Anual

Recursos materiales: SIL Laboratorio. **Recursos humanos:** Dra. Cabo, Dr.Penedo, Dra Sánchez y Dra. Maiz.

Observaciones:
Se introducen nuevos valores de referencia diferenciando entre niños y adultos para aumentar la sensibilidad diagnóstica y disminuir el porcentaje de falsos negativos en base a un estudio propio con estudio histológico de biopsias.

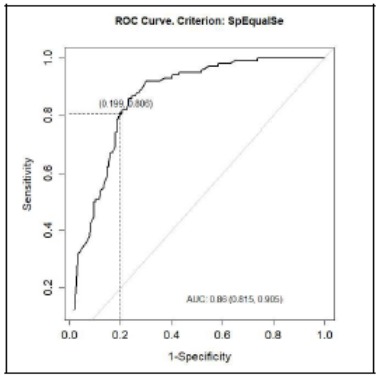
SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Actividades de Seguimiento		
RESPONSABLE META	**Nº META**	**SEGUIMIENTO / OBSERVACIONES:**
Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Maiz	1	Tras la publicación de las nuevas guías ESPGHAN 2012-2020 y por Consenso Clínico con el gastroenterólogo infantil y el especialista en digestivo de adultos, se elabora un algoritmo común para todas las edades y se evalúan los anticuerpos específicos para establecer un cut-off como recomienda el protocolo español. Estudiamos prospectivamente de 264 pacientes adultos sometidos a biopsia intestinal (2012-2020). Rango edad 15-87 años (media 46,7) 65% mujeres: • 175 diagnóstico de EC, 85 no/no concluyente EC y 5 dermatitis herpetiforme (DH). Los resultados fueron presentados en el VIII Congreso Nacional de Sociedad Española de Enfermedad Celiaca y publicado en la Revista Gastroenterología y Hepatologia en el Volumen 45 especial del Congreso (Ver anexo 1). Se realizaron curvas ROC de rendimiento diagnostico para EC, basado en algoritmos del protocolo del Ministerio Español para el grado de atrofia duodenal: • Análisis ROC sobre EC = AUC 0.888 (0.848 – 0.927) Cutpoint (Youden) 9 Cutpoint (Se=Sp) 3.8; Análisis ROC sobre atrofia duodenal = AUC 0.860 (0.815-0.905) Cutpoint (Youden) 8 Cutpoint (Se=Sp) 5.1. Se calcularon las medianas para IgA-TG2 en los distintos grados de atrofia duodenal: Grado 0= 3.1 (2.1 – 4.8) Grado 1= 0.4 (0.2 – 2.5); Grado 2 = 4.0 (3.3 – 9.7); Grado 3a= 14.0 (1.2 – 116); Grado 3b= 60.0 (18.0 – 142); Grado 3c= 98.0 (22.0 – 339) p <0.001 (test de Kruskal-Wallis). Se describe un 24.57 % de seronegativos en adultos utilizando el **cut-off de 8 U/mL** (utilizado para aplicar las guías ESPGHAN), de ellos el 13.14 % presentan valores de IgA-TG2 entre **2-8 U/mL** (4 % entre 5.1-8 y 9.14 % entre 2.1-5U/mL).

SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Sanchez	2	1.PETITORIO ELECTRÓNICO: PERFIL ENFERMEDAD CELÍACA. 2. ALGORITMO DIAGNÓSTICO: Ver anexo 1-PNT 10 Ed. 3 30-06-2023. 3. ESTUDIO ESTADÍSTICO: • **Valor de referencia para IgA-TT2** =8 U/mL. Se realizó un análisis ROC sobre atrofia AUC 0.860 (0.815-0.905) Cutpoint (Youden) 8 y Cutpoint (Se=Sp) 5.1 .  • **Si los niveles de Ac anti-Transglutaminasa IgA (IgA-TT2) >2 U/mL** se generara Ac. antiendomisio IgA (IgA-EMA).

SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

HOSPITAL UNIVERSITARIO LUCUS AUGUSTI
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Sanchez Dra. Maiz	3	Unificación del petitorio electrónico y establecimiento de los nuevos criterios diagnósticos. En niños valoramos los siguientes casos: 1. En niños anular el IgA-EMA si la **IgA-TT2 es < 8 U/mL**. No se hacen más estudios. 2. En niños si el valor de **IgA-TT2 es entre 8,1-79,8 U/mL** se hace se hace IgA-EMA en todos los casos. Se utilizará una dilución de IgA-EMA de 1/5 como cut-off positivo por recomendación de las guías. 3. En niños con valores de **IgA-TT2 ≥ 80 U/mL** se realizan dos determinaciones en muestras diferentes: el IgA-EMA se determina en la segunda muestra, confirmatoria de IgA-TG2. En éstos se activa la vía rápida. 4. Siempre se informa el valor exacto de **IgA-TT2** haciendo las diluciones necesarias hasta obtener un valor dentro de la curva de calibración. 5. En niños **anular IgA-EMA** en seguimientos ESPGHAN cuando en el acumulado se compruebe que la **IgA-TT2 está en descenso**. 6. Se utilizará una dilución de **IgA-EMA de 1/5 como cut-off positivo** por recomendación de las guías.
Dra. Cabo Dra. Penedo Dra. Sanchez Dra. Maiz	4	En adultos los Valores de referencia: 1. **Se utilizan el cut-off de 5 U/mL** como valor positivo. (basados en curvas ROC de rendimiento diagnóstico). 2. **Valores comprendidos entre 2-5 U/mL** se corresponderán con zona gris o bordeline positivo. (basados en análisis de las medianas para grados histológicos bajos). 3. En adultos todos los **valores de IgA-TT2 >2 U/mL se confirman** con IgA-EMA para detectar seronegativos y tener más datos serológicos que indiquen la biopsia. Se utilizará una dilución de IgA-EMA de 1/5 como cut-off positivo por recomendación de las guías.

FECHA Y FIRMA

SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

Yo, Carmen Blas Fraga, responsable de la Gestión de la Calidad del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Lucus Augusti de Lugo (HULA), por medio de la presente, hago constar que:

Julia María Cabo del Riego es la autora del programa de mejora 7-2023: ***"Modificación de los Valores de Referencia en niños y adultos para la Enfermedad Celíaca, basados en un estudio prospectivo propio con resultados histológicos de biopsias intestinales"*** igualmente del anexo: ***"Algoritmo diagnóstico_Criterios informáticos_Petitorio electrónico"*** con el código-Anexo1 PNT_10 Ed.3, aprobado en la fecha 30/06/2023 certificado por ENAC dentro de la norma UNE-EN-ISO 15189:2023 y que se aplicará en el Servicio de Análisis Clínicos para la mejora en el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca y la gestión de la demanda de biomarcadores serológicos para esta enfermedad.

Constancia que se expide a petición de quién lo requiera.

Firmado por MARIA CARMEN BLAS FRAGA - ***2902** el día 06/07/2023 con un certificado emitido por AC CAMERFIRMA FOR NATURAL PERSONS - 2016

Fecha y firma
Carmen Blas Fraga
7 -07-2023

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO 10.6.

SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

Este protocolo ha sido diseñado por la Dra. Julia María Cabo del Riego en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Lucus Augusti (HULA) en mayo del presente año, consensuado con la Dra. Carmen García-Plata Fernández y el Dr. José Abel González Rodríguez, facultativos responsables de las consultas especializadas de digestivo, integrado en el plan de mejora 7-2023 y posteriormente aprobado en la revisión documental en fecha 30/06/2023 y certificado por ENAC dentro de la norma UNE-EN-ISO 15189:2023.

Dada la relevancia de instaurar un diagnóstico y tratamiento precoz de la enfermedad celiaca, con el fin de reducir el tiempo de espera para la confirmación diagnostica y agilizar el flujo de pacientes de atención primaria y especialidades periféricas al hospital y garantizar la correcta indicación de una dieta libre de gluten de por vida, este protocolo se integrará en el programa HERMES.

Fdo. Dra. Lola Maíz Suárez

Jefa de Servicio del Laboratorio de Análisis clínicos

Fdo. Dr. Fernando Fernández Lamelo

Director Médico de Procesos Asistenciales

SERVIZO GALEGO de SAÚDE EOXI LUGO CERVO E MONFORTE
SERVICIO A. CLINICOS

ÁREA SANITARIA DE LUGO, A MARIÑA E MONFORTE DE LEMOS
SERVIZO GALEGO de SAÚDE
XERENCIA

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria de Lugo, A Mariña e Monforte de Lemos

VÍA RÁPIDA DE CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA DE ENFERMEDAD CELÍACA

La enfermedad celíaca (EC) es un trastorno sistémico de base inmunológica, causado por la ingesta de gluten y otras proteínas afines que afecta a individuos genéticamente susceptibles. Se caracteriza por la presencia de una variedad de manifestaciones clínicas dependientes de la ingestión de gluten, autoanticuerpos circulantes específicos, haplotipos HLA (antígeno leucocitario humano) DQ2 y/o DQ8 y enteropatía. El único tratamiento vigente es la *dieta estricta sin gluten de por vida (DLG)*, por ello es imprescindible confirmar de forma inequívoca el diagnóstico antes de proceder a eliminar un amplio grupo de alimentos para toda la vida, con las implicaciones sociales y económicas que implica (1).

Debido a la alta variabilidad de los síntomas la petición de anticuerpos diagnósticos se suele producir en la consulta de Atención Primaria, casi siempre en revisiones de carácter periódico.

El diagnóstico de la EC en pediatría sigue las guías ESPGHAN 2020 (Sociedad Europea de Gastroenterología Hepatología y Nutrición Pediátrica) con criterios clínicos y serológicos para el diagnóstico sin biopsia (2). En adultos, el diagnóstico definitivo requiere la endoscopia con biopsia duodenal y la confirmación histológica de atrofia vellositaria, siguiendo protocolo de diagnóstico precoz propuesto por el Ministerio de Sanidad Español (3), pero es imprescindible no suprimir el consumo de gluten previo a la biopsia, para evitar falsos negativos.

Esta situación requiere una atención preferente de estos enfermos por las complicaciones asociadas a esta enfermedad (anemia crónica, malabsorción de nutrientes, infertilidad, depresión o linfoma) si sigue consumiendo gluten a la espera del diagnóstico definitivo.

Objetivo:

Poner en marcha por el EOXI una vía rápida para mejorar la accesibilidad a las unidades de digestivo (pediátrico y adultos) y reducir el tiempo de espera para la confirmación diagnóstica de la EC en los pacientes que presenten autoanticuerpos específicos positivos (anticuerpos antitransglutaminasa 2 IgA, Anticuerpos antiendomisio IgA y/o anticuerpos antigliadina desaminada IgG) con el fin de agilizar el diagnóstico y comenzar el tratamiento:

- En niños aplicar las guías ESPGHAN vigentes (2020) y comenzar la DLG
- En adultos la realización de endoscopia con biopsia duodenal que garantice la confirmación diagnóstica y la instauración rápida de una DLG con todas las garantías diagnósticas.

ÁREA SANITARIA DE LUGO, A MARIÑA E MONFORTE DE LEMOS SERVIZO GALEGO de SAÚDE XERÊNCIA

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Aplicación:

El laboratorio de análisis clínicas del HULA realiza todos los anticuerpos que se solicitan desde todas las unidades asistenciales del EOXI. Esta vía se pondrá en marcha desde el laboratorio cuando, en la validación facultativa, se detecte que los de anticuerpos antitransglutaminasa tisular IgA superan el valor de referencia (considerado primer marcador diagnóstico en todas las guías clínicas) y, tras la confirmación diagnóstica con anticuerpos antiendomisio IgA por inmunofluorescencia. Estos dos biomarcadores específicos establecen la enfermedad (siguiendo el algoritmo propuesto por el Ministerio de Sanidad Español y las guías ESPGHAN 2020), que debe ser confirmada por las unidades hospitalarias de digestivo para empezar el tratamiento lo más pronto posible. En este supuesto se activa la VIA RÁPIDA (ver anexo 1), para la confirmación diagnóstica precoz de enfermedad celíaca.

Con la puesta en marcha de esta vía rápida, se garantizará el acceso rápido a la consulta del especialista en digestivo en el Hospital Universitario Lucus Augusti de Lugo de todos los pacientes con anticuerpos positivos que se derivarán a la atención especializada infantil o de adultos en un plazo no superior a 30 días del primer diagnóstico para establecer el diagnóstico definitivo antes de eliminar el gluten de por vida.

Coordinación de tres servicios:

- Análisis Clínicos (Dra. Julia María Cabo del Riego): primer nivel en la detección de los nuevos casos de enfermedad celíaca. El petitorio de los anticuerpos se puede solicitar desde todas las unidades de atención primaria y hospitalaria. Una vez detectado los casos positivos se pone en contacto con el médico peticionario y con los servicios de digestivo.
- Servicio de Digestivo de adulto (Dr. José Abel González Rodríguez): responsable de la gestión de los casos positivos de adultos. Se programará la biopsia desde la consulta hospitalaria y se solicitará una nueva analítica de control del paciente y, si procede, las pruebas genéticas.
- Servicio de Gastroenterología infantil (Dra. Carmen García-Plata Fernández): responsable de la gestión de los casos positivos de adultos. Se pone en marcha la aplicación de las Guías ESPGHAN 2020. El niño/adolescente será citado para una nueva determinación de marcadores con anticuerpos específicos confirmatorios y en caso de cumplir criterios se establece el diagnóstico sin biopsia. Si no cumple los criterios ESPGHAN se programará la biopsia duodenal.

Estos a su vez se coordinarán con el resto de las unidades asistenciales desde donde se soliciten los autoanticuerpos diagnósticos en atención primaria y hospitalaria pediátrica y de adultos. El HULA trata con ello de acelerar determinadas consultas con el especialista en digestivo, una vez detectada la enfermedad desde los diferentes lugares asistenciales y confirmado en el laboratorio de análisis clínicos.

La vía rápida homogeneiza la atención sanitaria en todas las áreas del Sergas, atención primaria y hospitalaria y define con claridad qué pacientes cumplen criterios de enfermedad celíaca desde el laboratorio que podrán ser incluidos en esta vía rápida.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Anexos:

Anexo 1-PNT 10 ed 3.

Comprende 3 algoritmos de elaboración propia integrados en el Sistema informático del laboratorio SIL unificando las guías ESPGHAN 2020 (2) y Protocolo de actuación para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca (3) del Ministerio Español para Atención Primaria y Hospitalaria. Integran niños/adolescentes y adultos/ancianos y, han elaborados en base a supuestos clínicos

Estos algoritmos están diseñados para gestionar al máximo la demanda de las pruebas y por esto, y establecido a través del SIL (Sistema Informático del Laboratorio) de forma que se van implementado las pruebas necesarias en función de los resultados y, anulando informáticamente las pruebas innecesarias, para conseguir una gran eficiencia en el diagnóstico.

Anexo 2: Circuito asistencial rápido.

Bibliografía

1. Catassi C, Verdu EF, Bai JC, Lionetti E. Coeliac disease. Lancet. 25 de junio de 2022;399(10344):2413-26.

2. 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. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. enero de 2020;70(1):141-56.

3. Ministerio de Sanidad. Grupo de trabajo del Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS); 2018.

AREA SANITARIA DE LUGO, A MARIÑA E MONFORTE DE LEMOS
SERVIZO GALEGO de SAÚDE
XERENCIA

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

El diagnóstico de la enfermedad celiaca (EC) supone un reto para la salud pública. En esta Tesis Doctoral, realizada en el ámbito del área sanitaria de Lugo (2012-2023), se ha diseñado y aplicado un algoritmo computarizado basado en recomendaciones de sociedades científicas que ha sido integrado en el Sistema Informático del Laboratorio para su aplicación por los profesionales de AP y hospitalaria implicados en el diagnóstico de EC. Su uso ha permitido sistematizar el diagnóstico de EC, conocer su incidencia para todos los grupos etarios, postular el uso de amplitud de dispersión eritroide como ayuda en la detección de EC, validar y acreditar un plan de mejora en el laboratorio clínico del Complejo Hospitalario Universitario de Lugo y poner en marcha una vía rápida de confirmación diagnóstica de la enfermedad.