



Prevalença global de la malaltia celíaca a Catalunya. Impacte del cribratge poblacional en població en edat laboral

Meritxell Mariné i Guillem

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

PREVALENÇA GLOBAL DE LA MALALTIA CELÍACA A CATALUNYA. IMPACTE DEL CRIBRATGE POBLACIONAL EN POBLACIÓ EN EDAT LABORAL

Tesi doctoral presentada per la Llicenciada en Medicina

Meritxell Mariné i Guillem

per aspirar al grau de doctora en el programa de doctorat de Medicina

Directora de la tesi: Dra. Maria Esteve i Comas

El projecte que es presenta s'ha dut a terme a l'Hospital Universitari Mútua de
Terrassa i a l'Hospital de Sant Joan de Déu de Barcelona.

Facultat de Medicina

Universitat de Barcelona

Tutor de tesi: Dr. J.M^a Viver Pi i Sunyer

Barcelona, 2011

A la meva mare, amb tot l'amor i respecte del món, de qui he après (entre moltes altres coses) que la constància és el camí.

Gràcies mama per TOT.

A la Dra. Maria Esteve. Sense tu tot això no hagués estat possible.
Gràcies per ser com ets.

Al Josep M, pels millors moments viscuts de la meva vida i pels que
encara ens queden per viure.

ÍNDEX DE CONTINGUTS

AGRAÏMENTS	8
1. ABREVIATURES	15
2. INTRODUCCIÓ	16
2.1. Definició i criteris diagnòstics de la MC	17
2.1.1. Definició de la MC	17
2.1.2. Criteris diagnòstics de la MC	20
2.2 Mètodes diagnòstics de la MC	26
2.2.1. La serologia	26
2.2.2. L'estudi genètic	33
2.2.3. La biòpsia intestinal	37
2.3 Prevalença global de MC en diferents àrees geogràfiques del món	45
2.3.1. Consideracions metodològiques dels estudis epidemiològics	46
2.3.2. Diferències de prevalença en funció de l'edat	49
2.3.3. Altres factors relacionats amb les variacions de la prevalença de la MC	52
2.4 Utilitat del cribratge poblacional	59
2.4.1 Criteris de cribratge massiu	59
2.5 Història natural de la MC	68
3. HIPÒTESI I OBJECTIUS	71
3.1 Hipòtesi de treball	72
3.2 Objectius	72
3.2.1 Objectius de l'estudi 1	72
3.2.2 Objectius de l'estudi 2	73
4. MATERIAL I MÈTODES	74
4.1 Subjectes i disseny (estudi 1)	75

4.2 Seguiment dels pacients i resposta a la DSG (estudi 1)	76
4.3 Subjectes i disseny (estudi 2)	77
4.4 Detecció d'anticossos (estudis 1 i 2)	80
4.5 Marcadors genètics (estudis 1 i 2)	81
4.6 La mesura de la densitat mineral òssia (estudi 1)	81
4.7 Biòpsia duodenal i criteris diagnòstics de la MC (estudis 1 i 2)	82
4.8 Anàlisi estadística (estudi 1)	83
4.9 Anàlisi estadística (estudi 2)	83
5. RESULTATS	86
5.1 Resultats de l'estudi 1: IMPACTE DEL CRIBRATGE MASSIU PER L'ENTEROPATIA SENSIBLE AL GLUTEN EN LA POBLACIÓ SANA EN EDAT LABORAL	87
5.1.1 Freqüència de l'ESG i gravetat histològica relacionades amb serologia positiva i marcadors genètics	87
5.1.2 Característiques clíniques de l'ESG en relació amb el grau de lesió histològica	90
5.1.3 Seguiment després de la DSG	92
5.2 Resultats de l'estudi 2: LA PREVALENÇA DE LA MALALTIA CELÍACA ÉS SIGNIFICATIVAMENT SUPERIOR EN NENS EN COMPARACIÓ ALS ADULTS	96
5.2.1 Prevalença de MC en la mostra global (4230 individus)	96
5.2.2 Prevalença de la MC en la mostra pediàtrica ampliada (2010 nens)	100
5.2.3 Histologia i genètica dels individus amb serologia frontera	103
6. DISCUSSIÓ	106
6.1 Discussió estudi 1	107
6.2 Discussió estudi 2	112

7. CONCLUSIONS

119

8. BIBLIOGRAFIA

122

AGRAÏMENTS

M'imagino que qualsevol projecte sempre té una llarga història i mil anècdotes curioses darrera, i aquesta tesi no n'és l'excepció. Tampoc és que ara vulgui explicar-la, però recordar com va començar tot sempre ajuda a veure les coses amb perspectiva i a valorar la importància dels fets. En certa manera (i només en certa manera) el monòleg inicial de la pel·lícula de Woody Allen 'Match Point' podria ser un bon punt de partida (mai millor dit) per un relat com aquest. Per aquells que no l'hagueu vist, us en transcric el text literalment:

“ Aquell que va dir ‘més val tenir sort que talent’ coneixia l'escència de la vida. A la gent li fa por reconèixer que gran part de la vida depèn de la sort i espanta pensar quantes coses escapen del nostre control. En un partit de tennis hi ha moments en què la pilota roça la xarxa i durant una fracció de segon pot seguir endavant o caure enrere. Amb una mica de sort tira endavant i guanyes el partit, o no ho fa i el perds”

I això, és clar, et pot canviar la vida.

Jo no sóc precisament de les persones que pensí que hi ha gent amb sort i gent sense sort (més aviat em sembla que la sort se la busca un mateix), però sí que és cert que l'atzar juga un paper important en mil detalls imperceptibles de la vida quotidiana, de manera que sense una circumstància concreta, hi ha tota una sèrie d'esdeveniments posteriors que mai succeïrien. Com en un efecte dominó, si la primera fitxa no cau, la resta queden inamovibles al seu lloc.

Així, l'atzar va voler que durant el meu segon any de residència (ens remuntem al 2002!!), mentre rotava pel Servei de Digestiu, tingués la gran sort (i això sí que va ser una sort) de conèixer la Dra. Maria Esteve. I realment

devia ser l'atzar, perquè poc després de la meua rotació, per qüestions de reorganització del servei, l'activitat assistencial de la Dra. Esteve es va concentrar a endoscòpia, recerca i consulta externa, perdent (en gran part) el seu talent científic i personal pels pacients ingressats a Planta convencional. I aquí no només hi van perdre els propis pacients, sinó també, i sobretot, els residents que no van tenir mai la oportunitat (a diferència de jo) de viure-la en primera persona. El meu primer agraïment és, evidentment per ella.

Maria, no parlaré de la teua capacitat científica i professional, perquè em sembla que és evident i reconeguda arreu, però en canvi sí que voldria destacar trets de la personalitat que et fan, no només una gran metge sinó una millor persona. Quan et vaig conèixer, em va encantar la teua il·lusió infinita per engegar qualsevol projecte. I és que l'energia que transmits és admirable i es contagia, com si d'un virus es tractés, de forma inevitable (i així he acabat, 'malalta' de recerca). A més, la teua predisposició a escoltar i ser-hi sempre, la teua humilitat, i la teua paciència (per certes coses) infinita, et fan una persona excepcional, i per descomptat, una amiga inoblidable. Perquè sense el teu bon humor, la teua alegria i els teus coneixements, tot això no hagués estat mai possible. I perquè la teua aparent senzillesa (en el bon sentit de la paraula) amaga un talent insospitat. Ets com una caixa de sorpreses i un motor per tots els que t'envoltem. Gràcies Maria, no canviis mai.

Un record pel Josep, fill de la Maria. Tots els que t'hem conegut et trobem a faltar.

Al Dr. Josep M. Viver, tutor de la present tesi i Cap del Servei de l'Aparell Digestiu de l'Hospital Universitari Mútua Terrassa. Perquè el nivell humà i professional que aporta al Servei és envejable, i per desgràcia, poc habitual. Gràcies pel suport rebut al llarg d'aquests anys i per donar-me l'oportunitat de formar part d'un gran equip.

A la Carme Farré, bioquímica de l'Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona i una de les responsables de la part pediàtrica de la present tesi. Més enllà del teus càrrecs laborals i professionals, Carme et trobo una individua única i irrepètible. Tinc la impressió (de fet, n'estic convençuda) que en el teu desorganitzat món hi ha un pou de ciència, i em fascina haver-lo anat descobrint al llarg del temps. És increïble perquè la teva visió de les coses, sempre des de l'altre angle, aporten aquell punt màgic i diferent als treballs. En realitat diria que la Maria és la ment racional, mentre que tu ets el contrapunt artístic. Gràcies infinites per la teva espontaneïtat i el teu afecte.

A la Pitus Ribes (i al seu col·laborador Ramon Clèries) perquè la teva (vostra) aportació estadística en la present tesi no té preu. Perquè en els diferents 'brain stormings' que hem fet al llarg del projecte, tinc la sensació que tu eres l'única que aconseguies posar ordre. Deu ser cosa de la professió, però la visió numèrica i més endreçada han ajudat a encarrilar aquest apassionant camí. Ha estat un plaer, i espero que aquesta no sigui la darrera col·laboració.

Al Dr. Fernando Fernández Bañares. Persona genial i amb un intel·lecte privilegiat com no n'he conegut mai d'altre. Agraïda per les teves sempre brillants aportacions científiques que fan que els treballs tinguin aquell acabat final sense el qual els hi faltaria alguna cosa.

A la Rebeca Santaolalla, a qui vaig conèixer de forma casual (o més aviat per l'atzar induït per la Maria) en un congrés a Parma. Biòloga (també doctora) i col·laboradora del present projecte. T'has convertit en una de les meves millors amigues i no tinc paraules per tu. No té preu les mil i una xerrades que hem tingut al 'xiringu' (altrament conegut com laboratori de recerca), els mil i un congressos i viatges d'oci que hem compartit i els sopars que s'allargaven amb sobretaula fins altes hores de la matinada. I és que les desventures viscudes al llarg d'aquests anys donen per escriure'n un llibre. Ara ets a Miami, continuant el projecte que va ser la teva tesi. Ja saps que

des d'aquí et trobem molt a faltar. Gràcies pel teu recolzament científic i evidentment personal.

A la Carme Loras, amb qui aquests últims anys hem fet camí conjunt amb la tesi doctoral. La Maria sempre deia, 'a veure qui acabarà abans'. Era evident que amb tantes hores d'entrenament d'atletisme, tu acabaries primer, però veig que finalment tot arriba. Gràcies Carme per permetre'm desfogar-me de l'estres laboral a la graderia del Barça. I és que al Camp Nou hem viscut partits realment emocionants...i com hem cridat! I agraeixo les converses reconfortants mantingudes a deshores, perquè mai no hi ha manera de trobar el moment ni el lloc adequat...

(Lab de recerca)

A les biòlogues Anna Carrasco i Fina Malloles, per les molt bon estones compartides tant en congressos com en sopars laborals i extralaborals.

(Planta 11 i endoscòpia)

A la resta de companys del Servei de Digestiu, Dra. Rosinach, Dr. Espinós, Dra. Forné, que han realitzat les moltes endoscòpies que han fet possible aquest projecte. Gràcies pel vostre suport i la vostra paciència.

A les infermeres i auxiliars d'endoscòpia (Núria, Sara, Rosa, Anabel, Jenny...), sense les quals, les moltes endoscòpies que comento, tampoc s'haurien pogut fer. Per la seva eficiència i professionalitat, i per mantenir la calma, que ja costa en el reduït espai on treballeu.

(Anatomia Patològica)

A tot el Servei d'Anatomia Patològica, part imprescindible de la present tesi. Gràcies per la vostra valuosa aportació.

(Laboratori, Departament de Medicina del Treball i Extraccions)

A tota la gent de *Catlab*, d'*Egarsat* i d'extraccions que han participat a la recollida infinita de dades i sèrums que ha suposat aquest projecte. I sobretot a la Montse Alsina, que sempre has tingut un moment per dedicar-me i que la teva col·laboració sempre ha estat de gran ajuda. Gràcies a tots.

(Hospital Sant Joan de Déu)

A tots els pediatres, bioquímics i patòlegs que han fet possible el grup infantil del present treball. Gràcies.

(Planta 13 i 15)

A tots els meus companys de Medicina Interna, del primer a l'últim, del Cap (actual i antic) fins als Residents (d'ara i d'abans), passant per tots els Adjunts (no cito noms perquè no vull deixar-me ningú), amb qui comparteixo el dia a dia i que per tant heu viscut (uns més que d'altres) més d'aprop les il·lusions però també les angoixes que suposa compaginar la vida laboral i personal amb la realització de la tesi. Gràcies per la vostra comprensió i per ser-hi sempre que us he necessitat. I gràcies per ensenyar-me cada dia l'apassionant i sempre sorprenet món de la medicina.

(Amics i família)

A les meves amigues Mireia i Susana, ara tan lluny (una a Chicago i l'altra a Mallorca) però sentimentalment tant a prop. Sempre fantàstiques les retrobades i inoblidable el llarg camí recorregut des que ens vam conèixer durant els anys de carrera. Un petó immens a totes dues (a veure si torneu aviat!!).

Al Jordi, la M. Rosa, l'Álvaro i la Marivi, pels sempre fantàstics sopars amb 'ambiente marocaine' i perquè mai no falti un 'cavita frio' per poder brindar quan l'ocasió s'ho mereixi.

A la meva germana Cris, perquè si no fossis ma germana, series una fantàstica amiga. Gràcies per ser tan genial i diferent. I gràcies per les eternes converses amb les que mai arreglem el món però de les que sempre n'aprenc coses noves. Ets l'artista de la família.

I al meu estimat nebot Guillem de qui, als seus 12 anys, admiro la seva curiositat infinita per tot el que l'envolta. No perdis mai la il·lusió que tens, perquè és aquesta la que et farà arribar lluny.

Un petó molt fort a la resta de la família, tiets, cosins... I molts ànims a la meva cosina Lluïsa, que ha decidit emprendre els estudis de Medicina. Ja veuràs que no te n'arrepentiràs mai. Molta sort.

I per últim, un record pel meu pare i pels meus avis, Joan i Isabel, de qui agraeixo la seva gran bondat i el seu exemple com a persones. M'hagués encantat que hi fossiu.

I a tots aquells que no hi sou però que d'una manera o d'una altra també m'heu ajudat. Gràcies mill!

'Només una vida dedicada als altres mereix ser viscuda'

Albert Einstein

1. ABREVIATURES

- MC: malaltia celíaca
- EL: enteritis limfocítica
- DSG: dieta sense gluten
- EmA: anticòs antiendomisi
- tTGA: anticòs antitransglutaminassa
- AGA: anticossos antigliadina
- VPN: valor predictiu negatiu
- α -DGP: anticòs antigliadina deaminada
- VPP: valor predictiu positiu
- ESG: enteropatia sensible al gluten
- LIEs: limfòcits intraepitelials
- RR: Risc relatiu
- OR: Odds Ratio
- IC: interval de confiança
- EAV: escala analògica visual
- DMO: densitat mineral òssia
- IFI: immunofluorescència indirecta

2. INTRODUCCIÓ

2.1 Definició i criteris diagnòstics de la malaltia celíaca

2.1.1. Definició de la malaltia celíaca

La malaltia celíaca (MC) és una enteropatia produïda per una reacció immunològica desencadenada pel gluten de la dieta, proteïna que es troba al blat, ordi, sègol i cibada i que es desenvolupa en individus genèticament predisposats. Des de l'any 1957, quan John Pauley va descriure per primera vegada la lesió morfològica de la MC, el diagnòstic d'aquesta malaltia s'ha basat precisament en la demostració de la lesió característica que es produeix al budell prim i que depèn de l'exposició al gluten. Aquest concepte general bàsic continua sent avui dia vigent. De totes maneres, al llarg de les últimes dècades han anat apareixent nous mètodes diagnòstics precisos (serològics i genètics) que han permès identificar, mitjançant cribatge poblacional o de grups de risc, a gran quantitat de pacients que pateixen formes silencioses o paucisintomàtiques de la malaltia. Aquests descobriments han permès saber que la MC no és una malaltia poc freqüent, que l'espectre de manifestacions clíniques, tant pel tipus com per la gravetat, és molt ampli i que no sempre hi ha correlació entre el grau de lesió histològica i la intensitat de les manifestacions clíniques. En aquest sentit, un canvi notable en els criteris diagnòstics de la MC ha estat la progressiva acceptació que l'enteropatia histològicament lleu (coneguda com enteritis limfocítica-EL, enteropatia limfocítica o limfocitosi duodenal) també forma part de l'espectre de la MC, i cal tractar-la com a tal quan produeix símptomes o signes clínicament rellevants. Tots aquests canvis han generat

una sèrie de termes i definicions sobre la MC sovint confosos a la literatura mèdica i que es revisen a continuació.

MC clàssica

És la forma de presentació més coneguda i es manifesta amb símptomes gastrointestinals típics de malabsorció com són la diarrea, la distensió abdominal, la manca de creixement, etc... La gravetat dels símptomes que presenten determina que la gran majoria d'aquests casos tinguin una biòpsia duodenal on s'objectiva atròfia vellositària.(1) Sol ser una forma habitual de debut de la malaltia durant la infància, però no n'és l'única. En canvi, és una forma quasi inexistent a l'edat adulta.

MC atípica

Actualment aquesta és la forma més freqüent de presentació, sobretot a l'edat adulta. Són pacients que no tenen símptomes digestius o que tenen símptomes mínims, inespecífics o clàssicament poc relacionats amb la MC (constipació, flatulència...). Aquests pacients sovint consulten a un facultatiu per altres raons, com ara ferropènia, osteoporosi o infertilitat. Tot i l'escassetat de símptomes gastrointestinals, molts d'aquests pacients presenten lesió histològica consistent en atròfia vellositària, (1) i un tant per cent no despreciable tenen limfocitosi intraepitelial. Aquesta forma de presentació la trobem també descrita a la literatura com a MC subclínica o paucisimptomàtica.(2)

MC silent

La utilització sistemàtica de cribatge poblacional o de grups de risc de MC ha permès identificar individus totalment asimptomàtics que presenten lesió histològica compatible amb MC (des de limfocitosi intraepitelial fins atròfia vellositària). Aquesta MC totalment asimptomàtica se la coneix amb el terme de MC silent. Aquests pacients no presenten símptomes gastrointestinals ni altres alteracions relacionades amb la MC com ara l'anèmia ferropènica o l'osteoporosi.(1)

MC latent

El terme de MC latent s'ha utilitzat per a definir situacions clíniques que no són conceptualment idèntiques. S'ha aplicat, per exemple, per a definir a pacients amb mucosa duodenal normal, però que es considera que tenen un risc augmentat de desenvolupar MC. Aquest augment del risc ve determinat pel fet de tenir un estudi genètic positiu (HLA-DQ2/8)(3) i/o pertànyer a algun grup de risc (familiars de primer grau, pacients amb malalties autoimmunes monoorgàniques...). També s'inclouen en aquest grup, aquells pacients que en el passat havien estat diagnosticats de forma correcta de MC i que per motius diversos, al llarg dels anys van reiniciar una dieta normal amb gluten, sense que aquest fet desencadenés de nou lesió duodenal, i que per tant mantenen a l'actualitat una histologia normal. Aquest concepte de latència implica el desenvolupament de fenòmens de tolerància al gluten que es comentaran més endavant. No obstant cal considerar que el terme *latent* és un dels que ha generat més controvèrsia a

la literatura, de manera que sota aquesta definició trobem erròniament descrits aquells pacients celíacs que presenten biòpsia duodenal normal o amb limfocitosi intraepitelial pel fet d'estar sota dieta sense gluten (DSG) (1), o aquells individus amb serologia positiva que tenen biòpsia duodenal normal o amb limfocitosi intraepitelial.(4) Inclús a vegades també trobem que es fan servir, equívocament, el termes latent i silent com a sinònims.(2)

MC refractària

Són aquells pacients amb diagnòstic inequívoc de MC que han deixat de respondre a la DSG. Aquests individus són els que tenen més risc de desenvolupar complicacions relacionades amb la malaltia com ara jejunoileïtis ulcerativa o limfoma T intestinal pel fet de mantenir de forma persistent lesió intestinal activa.(1)

2.1.2. Criteris diagnòstics de la MC

Els primers criteris diagnòstics de MC van ser proposats per la Societat Europea de Gastroenterologia Pediàtrica i Nutrició (ESPGAN)(5) a Interlaken l'any 1969, van quedar establerts i enunciats en el segon simposi de la Societat l'any 1974 i pràcticament acceptats i publicats sense canvis l'any 1979.(6) Davant la manca de mètodes no invasius pel diagnòstic, aquest s'establí exclusivament mitjançant biòpsia en aquells individus amb elevada sospita clínica de MC. S'exigien 3 biòpsies per tal de demostrar la dependència entre el desenvolupament de la lesió intestinal i la presència de gluten al budell: 1) basal abans de l'inici de la DSG, 2) demostració de la

milloria histològica sota tractament amb DSG i 3) reparació de la lesió histològica amb la reintroducció del gluten a la dieta. La complexitat d'aquest procediment diagnòstic, que a més a més requeria la realització de biòpsia jejunal mitjançant la càpsula de Watson-Crosby, va determinar que només es diagnosticuessin aquelles formes veritablement greus de MC, i que en molts països del món, com va passar als EUA, es considerés que la MC era una malaltia molt infreqüent.(7) És també en part per aquest motiu que durant molts anys, la MC es diagnosticava quasi exclusivament durant la infància, sent considerada així una malaltia pediàtrica, ja que la forma clàssica de MC amb diarrea greu, desnutrició i deshidratació és gairebé inexistent a l'edat adulta.(8) La realització de les 3 biòpsies garantia, a més a més, una condició diagnòstica indispensable, que és la demostració d'una permanent sensibilitat al gluten al llarg de la vida; aquest fet permetia diferenciar la MC d'altres entitats que produeixen una alteració transitòria de la mucosa amb aspecte histològic similar. Malgrat tot, la necessitat de la realització de la 3^a biòpsia va començar a ser qüestionada per l'escàs seguiment en la pràctica clínica i després que es publicuessin grans sèries pediàtriques (més de 3000 casos) que demostraven una clara resposta clínica i histològica a la DSG i en les que el diagnòstic de MC es confirmava de forma majoritària després de la biòpsia de provocació.(9) De totes maneres, inclús disposant de mètodes diagnòstics poc sofisticats, va començar a ser evident que, en una proporció no despreciable de casos (al voltant d'un 10%) existia una variabilitat en la sensibilitat de la mucosa intestinal al gluten la qual semblava ser transitòria.(10) I cal tenir present que,

la majoria de pacients diagnosticats abans de la era de la serologia i l'estudi genètic, representen probablement una subpoblació de pacients amb una gran sensibilitat al gluten. Dit d'una altra manera, els pacients situats a la punta de *l'iceberg celíac* amb una clínica molt evident, difícilment desenvoluparan mai tolerància al gluten ni romandran durant anys en una situació de latència.

L'any 1990 es van publicar els criteris diagnòstics revisats de la ESPGAN, els quals segueixen vigents pel diagnòstic de MC en població pediàtrica, però que estan sent actualment revisats.(11) La principal diferència respecte els criteris previs va consistir en la simplificació del procés diagnòstic, de manera que només s'exigia una única biòpsia basal amb histologia característica (atròfia de vellositats, hiperplàsia de criptes i infiltració limfocítica) i una clara i ràpida resposta clínica (en setmanes) a la DSG. Aquests criteris concedeixen a més a més un indubtable valor diagnòstic complementari a les proves serològiques, sobretot als anticossos antiendomisi (EmA). La segona i tercera biòpsies exigides en els criteris de 1974 van quedar per tant relegades a aquells casos de diagnòstic dubtós. El desenvolupament de mètodes serològics de diagnòstic sensibles i específics (EmA i anticossos antitransglutaminassa- tTGA) van permetre profunditzar en *l'iceberg celíac* i van posar en evidència que la MC no és una malaltia de la infància sinó que es pot diagnosticar a qualsevol edat de la vida. Les guies de la Societat Nord-americana de Gastroenterologia Pediàtrica, Hepatologia i Nutrició (NASPGHAN)(12), de publicació molt més recent, poc més aporten als criteris de la ESPGAN. Reafirmen la necessitat de la biòpsia intestinal per establir el

diagnòstic de MC, que es considera definitiu quan existeix una biòpsia basal amb atròfia i es produeix una clara resposta clínica a la DSG. La negativització de la serologia confereix una major consistència al diagnòstic. Segons aquesta guia, l'enteropatia limfocítica no es considera diagnòstica de MC en edat pediàtrica. En canvi, l'Associació Americana de Gastroenterologia (AGA) va establir l'any 2006 unes recomanacions pel diagnòstic de MC (1) (Taula 1) on s'admet ja com a MC tot l'espectre histològic de la lesió gluten depenent (des del patró infiltratiu o enteropatia limfocítica fins a l'atròfia total) i reconeix el valor diagnòstic complementari d'un estudi genètic positiu.(1) De totes maneres, no es contempla com a MC l'enteropatia limfocítica amb serologia negativa, la qual representa més d'un 70% del total de l'enteropatia limfocítica, ja que és ben sabut que la positivitat dels anticossos depèn de la gravetat de la lesió histològica.

Taula 1. Recomanacions diagnòstiques de l'American Gastroenterological Association (AGA) (1)

<ul style="list-style-type: none"> • Lesió histològica característica: atròfia total/parcial/limfocitosi intraepitelial
<ul style="list-style-type: none"> • Resposta clínica i serològica inequívoca a la DSG
<ul style="list-style-type: none"> • Test de provocació en els casos dubtosos
<ul style="list-style-type: none"> • Descartar altres entitats que produeixin lesió similar
<ul style="list-style-type: none"> • Informació complementària de l'estudi genètic (Elevat VPN)

VPN: Valor predictiu negatiu

En aquest sentit, la revisió dels criteris diagnòstics vigents, al menys en l'edat adulta, hauria de considerar l'enteropatia limfocítica amb serologia positiva o negativa, ja que existeixen evidències que aquesta pot ser tant

simptomàtica com la MC amb atròfia (13) i respondre d'igual forma a la DSG.(14-16)

En contraposició al parer de la major part de societats científiques, cada vegada hi ha més experts que consideren que, donada l'elevada especificitat de la serologia, en determinats casos amb símptomes compatibles, anticossos positius a títols alts i bona resposta a la DSG, la biòpsia intestinal és innecessària per establir el diagnòstic.(17) S'ha proposat a més a més una simplificació del diagnòstic amb l'anomenada regla '4 de 5' quan es compleixen 4 del 5 criteris següents (o '3 de 4' en absència d'estudi genètic) (Taula 2): 1) Clínica compatible, 2) Positivitat de la serologia a títols alts, 3) Positivitat d'HLA-DQ2 o DQ8, 4) Biòpsia intestinal amb lesió característica (incloent tot l'espectre de gravetat) i 5) Resposta a la DSG.

Taula 2. Criteris diagnòstics 'regla 4 de 5' (o '3 de 4' en absència d'estudi genètic) (17)

1. Síntomes típics (ex. Diarrea, retard de creixement, anèmia...)
2. Positivitat d'anticossos de classe A a títols alts (s'accepta positivitat d'IgG si hi ha dèficit d'IgA. Els Ac IgG anti-gliadina deamidada afegixen major valor en el diagnòstic)
3. Positivitat dels genotips HLA-DQ2 i DQ8
4. Enteropatia en la biòpsia intestinal (inclou des de Marsh I- amb serologia positiva o associat a dipòsits subepitelials d'IgA, fins a Marsh III)
5. Resposta a DSG (histològica en pacients seronegatius)

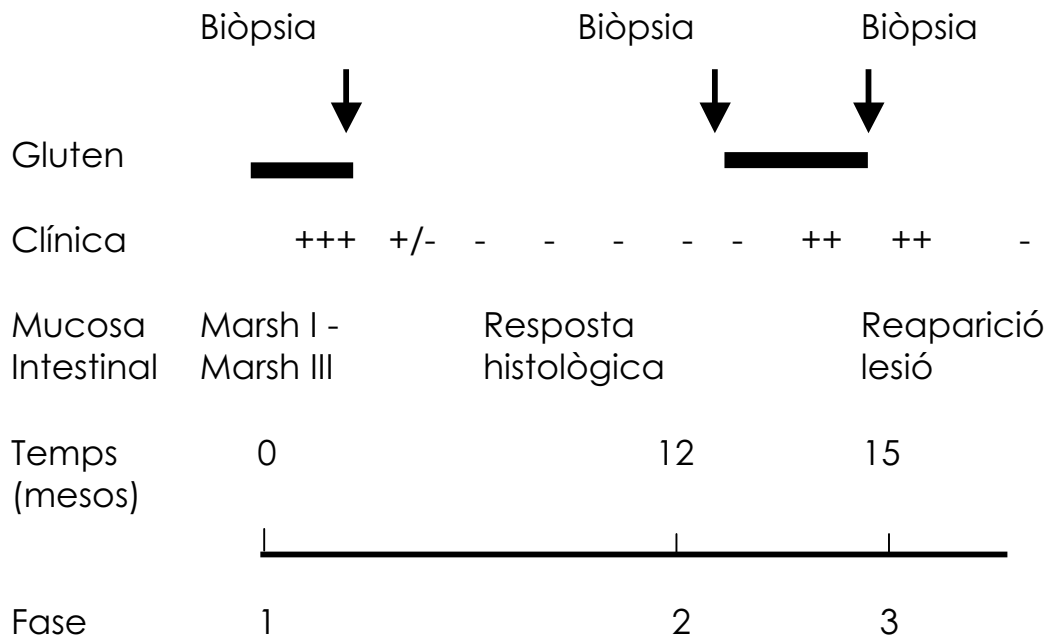
No obstant, tal i com reconeixen els propis autors, la realitat és bastant més complexa i no són infreqüents els casos en els que el diagnòstic de MC continua sent un repte. Alguns exemples el constitueixen pacients amb

serologia positiva i biòpsia normal, pacients simptomàtics amb serologia negativa i lesions mínimes amb arquitectura totalment o parcial conservada o pacients simptomàtics amb estudi genètic negatiu i biòpsia intestinal compatible.

En els casos de pacients simptomàtics amb serologia negativa i lesions mínimes amb arquitectura vellositària totalment o parcial conservada, la resposta histològica ha de ser inequívoca i pot ser necessària la realització de 3 biòpsies seguint un esquema similar al proposat per la ESPGAN l'any 1979 (Figura 1). I aquesta resposta histològica és fonamental per establir el diagnòstic ja que, en cas contrari, es poden diagnosticar de MC pacients que en realitat tenen una enteropatia ocasionada per altres causes i que provoca una lesió de la mucosa intestinal indistingible de la produïda per la sensibilitat al gluten (veure apartat 2.2.3. Biòpsia Intestinal).

Per altra banda, cada vegada existeix major informació que demostra que la sensibilitat al gluten pot ser transitòria.(18) Es desconeix la freqüència amb la que aquesta situació es pot produir, així com tampoc es sap la manera com identificar als pacients que poden presentar-la. Per tant, en aquest moment, i fins que no es disposi d'informació més precisa sobre la història natural de la MC, tots els pacients amb MC ben documentada hauran de seguir una DSG estricta durant tota la vida.

Figura 1. Esquema diagnòstic dels pacients amb MC i serologia negativa* (modificació dels criteris de la ESPGAN 1979)



*La positivitats dels genotips HLA-DQ2 i/o DQ8 augmenta la probabilitat del diagnòstic de MC, la positivitats d'un dels al·lels d'HLA-DQ2 i/o DQ8 el fa menys probable però no impossible, mentre que la negativitat de tots els al·lels de l'HLA-DQ2/DQ8 pràcticament exclou el diagnòstic de MC.

2.2 Mètodes diagnòstics de la MC

2.2.1. La serologia

Els marcadors serològics són útils per identificar els individus que requereixen la realització de biòpsia intestinal diagnòstica, recolzen el diagnòstic en aquells que presenten alteracions histopatològiques característiques de MC a l'intestí prim i serveixen per monitoritzar la resposta i l'adherència a la DSG. En el context d'estudis d'investigació, s'utilitzen també per determinar la

prevalença de MC en determinats grups de població, com és el cas del present estudi.

Donat que les proves serològiques s'utilitzen cada vegada més per aprofundir en l'iceberg celíac, és de gran importància definir les característiques diagnòstiques dels diferents tests serològics disponibles i la seva funció en cada una de les poblacions on s'utilitzen.

Anticossos antiendomisi (EmA) IgA

El 1984 es van descriure els EmA IgA dirigits en contra de la substància intermiofibril·lar del múscul llis. L'estudi inicial va definir les característiques clau dels EmA: la seva presència a la majoria de pacients amb MC, la seva elevada especificitat per MC, i valors de títols d'anticòs que augmenten de forma paral·lela al grau de lesió histològica.(19) Estudis posteriors van confirmar que la sensibilitat i l'especificitat dels EmA era molt superior a la dels anticossos antigliadina (AGA) i antireticulina sèriques, utilitzats fins aquell moment com a mètode diagnòstic de la MC. L'ús dels kits d'EmA inicials va estar limitat per la necessitat d'utilitzar com a substracte esòfag de mono, que era car i va generar problemes ètics. Més endavant, es va demostrar que la valoració dels EmA utilitzant com a substrat cordó umbilical humà (més barat i de més fàcil accés) proporcionava resultats similars pel que fa a sensibilitat i especificitat.(20) No obstant, sigui quina sigui la procedència del substrat, la realització dels EmA continua sent cara i requereix personal entrenat en interpretar, mitjançant un microscopi, la fluorescència de l'anticòs, fet que condiciona que sigui una tècnica subjectiva i que produeixi

consum de temps.

De totes maneres, es considera que la concentració sèrica dels EmA IgA presenta una especificitat més elevada (propera al 99%) que altres tests serològics, sent per exemple més útils en pacients amb cirrosi hepàtica, on els tTGA poden ser falsament positius. Els esmentats problemes de subjectivitat fan que la determinació dels EmA IgA presentin més resultats falsament negatius que la concentració sèrica dels tTGA (21) (Taula 3).

Anticòs antitransglutaminassa tissular IgA (tTGA)

Després d'identificar que la tTG era l'autoantigen de la MC en contra dels quals anaven dirigits els EmA, es van desenvolupar mètodes per detectar anticòsos anti-TG. Típicament, aquests utilitzen ELISA que proporciona resultats quantitius i no depenents de l'operador. Els *kits* inicials utilitzaven tTGA de conill d'índies, però a l'actualitat existeixen en el mercat diversos *kits* que utilitzen tTGA humana purificada o tTGA humana recombinant. Un meta-anàlisi de 21 estudis va mostrar que els tests amb substracte humà eren superiors als que utilitzaven tTGA de cobai (sensibilitat, 94% vs 91%; especificitat 95% vs 89%, respectivament), amb poca diferència entre els *kits* amb tTGA humana purificada o recombinant.(22) Per tant, existeix una evidència científica sòlida per abandonar els tests que utilitzen el substracte de conill d'índies.

Malgrat el seu baix cost, la facilitat d'ús i el grau de precisió diagnòstica, la sensibilitat i especificitat difereix entre laboratoris (23), i poden existir falsos positius en persones amb síndrome coronari agut i en pacients amb cirrosi

hepàtica (24), que són més freqüents quan s'utilitza el substrat de conill d'índies.

Anticossos IgA i IgG anti-gliadina deamidada (a-DGP)

Aquest és un test relativament nou que detecta els anticossos que s'uneixen als pèptids deamidats de la gliadina. Aquesta deamidació, important en la patogènesi de la MC, està catalitzada per la tTGA. S'ha demostrat recentment que existeix una relació creuada entre a-DGP i tTGA creant epitops immunogènics i augmentant la presentació antigènica de la gliadina.(25) El fet que existeixi aquesta relació creuada entre a-DGP i tTGA fa pensar que s'haurien de trobar resultats similars dels tests serològics que utilitzen aquests marcadors. No obstant, un meta-anàlisi que inclou 11 estudis on comparen els 2 tipus de tests demostra que, tot i que els dos tests funcionen adequadament, la tTGA proporciona millors resultats i segueix sent el test serològic d'elecció (a-DGP: sensibilitat, 88%; especificitat, 94%; tTGA: sensibilitat, 93%; especificitat, 96,5%).(26)

Anticossos antitransglutaminasa tissular IgG (tTGA IgG)

La prevalença del dèficit selectiu d'IgA a la població general és d'1:700, mentre que per motius que es desconeixen, aquesta prevalença augmenta fins a 1:50 en els pacients amb MC.(27) Donat que els individus que pateixen aquest dèficit no produeixen IgA, els anticossos associats a la MC tTGA IgA i EmA IgA no estan presents en aquests individus. Per tant, es recomana determinar la IgA total per avaluar el dèficit selectiu d'IgA en tots aquells

individus a qui s'ha de realitzar la determinació d'anticossos sèrics. En casos amb dèficit d'IgA es recomana la determinació de tTGA IgG. El funcionament dels kits IgG és una mica pitjor que els d'IgA, amb sensibilitats entre el 75 i el 95% i especificitats entre 94 i 100%.(28)

Anticossos antigliadina (AGA) IgA i IgG

La conferència de consens sobre MC de la NIH ('NIH Consensus Depelopment Conference on Celiac Disease') va recomanar no utilitzar més aquest tipus d'anticossos en el diagnòstic de la MC degut a la seva baixa sensibilitat i la disponibilitat de tests més sensibles i específics, com els anteriorment esmentats (12).

Taula 3. Sensibilitat i especificitat dels tests seològics en la MC, segons la revisió sistemàtica de Rostom et al. (21)

Test serològic	Sensibilitat (%)	Especificitat (%)
AGA		
IgA AGA	75-95	80-95
IgG AGA	69-85	73-90
IgA EMA	85-98	97-100
IgA tTG		
tTGA cobai	81-96	92-98
tTGA humana	86-99	91-99

Problemes al valorar la precisió diagnòstica dels mètodes serològics

Ja s'ha comentat amb anterioritat que existeix una tendència actual que pretén obviar la realització de la biòpsia duodenal per establir el diagnòstic definitiu de MC, i per tant aquest es basaria sobretot en criteris clínics, serològics i genètics. Respecte aquest punt cal tenir precaució, ja que com s'ha comentat, la realitat clínica és força més complexa, i el valor d'una biòpsia inicial pot ser de gran utilitat en el seguiment d'aquells casos dubtosos. A més a més cal considerar que la serologia presenta les seves limitacions.(26, 29) En aquest sentit, una de les grans vàlues que sempre s'ha atribuït als tests serològics és la seva gran sensibilitat i especificitat. El problema d'aquest fet ve determinat en què aquesta sensibilitat ha estat avaluada, en la majoria dels casos, en poblacions seleccionades, on la taxa de MC/no MC és molt més elevada que la que es troba habitualment en la pràctica clínica. Aquest fet condiona que la sensibilitat resultant estigui sobreestimada. D'altra banda, l'especificitat queda afectada si un requisit per la inclusió és la presència de serologia negativa (l'especificitat pot resultar falsament elevada) o si els individus control s'obtenen a partir de pacients amb sospita de MC (en part basat pel fet de tenir serologia positiva), però que en canvi tenen una biòpsia normal (especificitat falsament baixa). A més a més el valor predictiu positiu (VPP) dels tests serològics depèn de forma directament proporcional de l'especificitat del mètode diagnòstic i de la prevalença de MC en la població a estudi. De manera que amb una prevalença del 10% (marcadament superior a les situacions clíniques habituals) i una especificitat del test del 99%, el VPP és de

92%. En canvi, si l'especificitat baixa només un punt (98%), el VPP disminueix fins el 85%. És a dir que en aquesta última situació un 15% d'individus amb serologia positiva serien sotmesos a proves diagnòstiques i/o tractaments innecessaris. En les situacions de baixa prevalença (aproximadament 1%), com és el cas del cribratge poblacional, l'especificitat del test hauria de ser quasi perfecte per què el VPP es mantingués per sobre del 90%. A la Taula 4 s'especifiquen els VPP utilitzant sensibilitats i especificitats d'un test amb bona precisió diagnòstica, en funció de la prevalença de la població a estudi.

Taula 4. VPP d'acord a la prevalença de la població a estudi, amb una S del 98% i una E del 97,2% del test diagnòstic

Prevalença a la població	VPP
1% (població general estandard)	26%
5%	64,8%
10% (familiars de primer grau de MC)	79,5%
15% (familiars de primer grau de MC)	86%
20% (altres grups de risc)	89,7%

S: sensibilitat; E: especificitat; VPP valor predictiu positiu

Per tot plegat, en la majoria de situacions clíniques habituals, el VPP dels tests és massa baix, fet que condiona que la serologia sigui insuficient per establir el diagnòstic definitiu de MC, i que per tant la biòpsia duodenal confirmatòria continuï tenint un paper important en el diagnòstic d'aquesta malaltia.

2.2.2. L'estudi genètic

La MC s'associa a la presència d'al·lels específics de classe II del Sistema Major d'Histocompatibilitat (HLA-DQ). L'existència d'aquests al·lels és a més una condició necessària, encara que no suficient, perquè es produeixi l'activació de la MC, independentment de l'àrea geogràfica. La majoria dels pacients celíacs expressen un heterodímer HLA-DQ2 particular (DQA1*05-DQB1*02). Aquesta molècula, necessària perquè es produeixi la presentació al sistema immunitari de la gliadina deamidada, pot estar codificada en *cis* en individus que tenen l'haplotip DR3-DQ2 o en *trans* en individus que són heterozigots DR5-DQ7 i DR7-DQ2.(30, 31) Per a una millor comprensió del paper de l'estudi genètic en el diagnòstic de la MC, es proporcionen alguns conceptes sobre la terminologia utilitzada en el sistema HLA a la MC (Taula 5).(32)

Taula 5. Terminologia HLA

Terme	Significat	Exemple
HLA-DQ #	Símbol del gen	HLA-DQA1
DQ #	Heterodímer específic	DQ2
* ##	Família d'al·lels	* 03
* ####	Variants al·lèliques específiques	HLA-DQB1*0302

HLA-DQB1*0302: *03 representa la família d'al·lels i 02 és la variant al·lèlica

Per tal que un individu sigui capaç de desenvolupar MC cal que expressi l'heterodímer DQ2 (codificat pels al·lels HLA-DQB1*02 i DQA1*05) o l'heterodímer DQ8 (codificat pels al·lels HLA-DQB1*0302 i DQA1*03).

L'heterodímer DQ2 (Figura 2) comprèn els productes específics de les 2 següents variants genètiques:

1- HLA-DQA1 (designat com HLA-DQA1 * 0501 o * 0505)

2- HLA-DQB1 (designat com HLA-DQB1 * 0201 o * 0202)

Els pacients celíacs són HLA-DQ2 positius en més d'un 90% dels casos, mentre que a la població general la positivitat d'HLA-DQ2 està al voltant d'un 20-30%, depenent de les àrees geogràfiques. Al nostre medi la prevalença d'HLA-DQ2 positiu a la població general no celíaca és del 18%.(34)

L'heterodímer HLA-DQ8 comprèn els productes específics de la variant al·lèlica HLA-DQB1*0302 que s'hereta juntament amb la variant HLA-DQA1*03 a causa d'un desequilibri de lligament (associació d'al·lèls no aleatòria) (Figura 2).(7) El DQ8 es detecta entre un 5 a un 10% de pacients celíacs i en més d'un 10% de la població general.(32,33)

Els genotips que s'haurien d'analitzar a la MC són els HLA-DQA1 i els HLA-DQB1 per determinar la presència o absència dels següents al·lèls associats: HLA-DQA1*0501, HLA-DQA1*0505, HLA-DQB1*0201 o HLA-DQB1*0202, HLA-DQB1*0302. El mètode analític més habitualment utilitzat és la tècnica estàndard d'extracció de DNA i amplificació amb PCR seguit de detecció mitjançant electroforesi. Pràcticament el 100% de pacients celíacs tindran presència d'algun d'aquests al·lèls. Però a més, la majoria tindran els 2 al·lèls del DQ2. En aquest sentit, un estudi multicèntric europeu amb inclusió de 1.008 pacients amb MC i atròfia histològicament confirmada va demostrar

que el 88% eren positius per als dos al·lels del DQ2, el 6% ho van ser per al DQ8 i només 4 pacients (0,3%) van ser negatius per a tots els al·lels del DQ2 i DQ8. La resta de pacients DQ2 i DQ8 negatius van mostrar positivitat per a un dels heterodímers del DQ2, generalment l'HLA-DQB1*02.(34)

Figura 2. Formació del DQ2 i DQ8

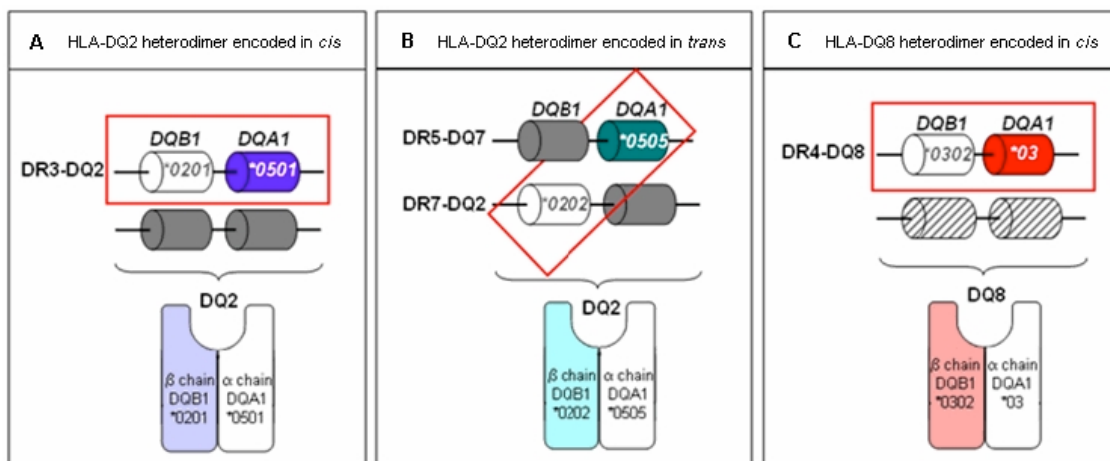


Fig 2A. La molècula de DQ2 està constituïda per una cadena proteica α codificada per HLA-DQA1*0501 i una cadena proteica β codificada per HLA-DQB1*0201 del mateix cromosoma parental (configuració *cis*). **Fig 2B.** La molècula DQ2 és codificada pels al·lels HLA-DQB1*0202 (cadena β) i per HLA-DQA1*0505 (cadena α) situats en 2 cromosomes parentals separats (configuració *trans*). **Fig 2C.** La molècula de DQ8 està constituïda per una cadena proteica α codificada per HLA-DQA1*03 i una cadena proteica β codificada per HLA-DQB1*0302 del mateix cromosoma parental (configuració *cis*) (32)

Per tant, la utilitat de l'estudi genètic no és tant diagnosticar un pacient de MC sinó excloure els que no la tenen o no la tindran. Un individu que no tingui cap dels al·lels del DQ2 o DQ8 difícilment tindrà una MC, i per tant l'estudi genètic delimita les poblacions susceptibles d'avaluació histològica i / o de seguiment clínic. Aquest elevat VPN d'un estudi genètic negatiu va quedar demostrat en un treball que va incloure 463 pacients amb símptomes de risc de MC. El VPN va ser del 100% amb una probabilitat post-test de tenir MC de 0 quan l'estudi genètic va ser negatiu. En aquest treball es comparava també la utilitat de l'estudi genètic amb la serologia per al diagnòstic de MC

amb atròfia. Es va observar una sensibilitat superior de l'estudi genètic per al diagnòstic de MC respecte la serologia (93.7% i 81%, respectivament), a expenses d'una pèrdua de l'especificitat (77% i 99.3%, respectivament).(35) Aquest estudi confirma, com ja s'ha esmentat anteriorment (veure apartat 2.2.1. Serologia), que en situacions de pràctica clínica la sensibilitat de la serologia per al diagnòstic de MC disminueix notablement.(35) I de fet, en aquest estudi només es té en compte el diagnòstic de MC amb atròfia i no s'avalua la utilitat de l'estudi genètic per al diagnòstic de tot l'espectre histològic de la sensibilitat al gluten. En aquest sentit, l'estudi genètic seguit de biòpsia intestinal ha demostrat la seva utilitat en la identificació de més casos de MC amb serologia negativa en grups de risc com els familiars de primer grau (13) o en pacients amb símptomes de risc com la diarrea crònica aquosa (14) o l'anèmia ferropènica d'origen incert.(16)

És possible que en el futur l'estudi genètic proporcioni també informació sobre el fenotip dels pacients amb MC. En aquest sentit, s'ha descrit per exemple que els pacients homozigots per l'al·lel HLA-DQB1*02 tenen un risc 5 vegades superior de ser celíacs que els heterozigots (36) i presenten amb més freqüència MC clàssica i complicada incloent MC refractària.(38) Pel que fa a l'existència d'altres gens de susceptibilitat, els estudis "Genoma Wide Association" (GWA) han identificat altres possibles candidats, la rellevància dels quals en la pràctica clínica no està encara ben establerta.(30-32)

2.2.3. La biòpsia intestinal

L'intestí prim és l'òrgan diana de la resposta inflamatòria de la MC i per tant no és d'estranyar que la biòpsia intestinal s'hagi considerat el 'patró or' per al diagnòstic de la mateixa.

Classificació histopatològica de l'ESG

El 1992 Michael N Marsh va publicar una classificació del grau de lesió histològica basada en els resultats d'estudis dinàmics de provocació amb gluten que van permetre descriure tot l'espectre de la lesió histològica.(38) Aquesta classificació, posteriorment modificada per Oberhuber *et al.*, és la que més acceptació ha tingut entre clínics i patòlegs.(39) No obstant, s'han proposat classificacions més senzilles, amb menys categories de gravetat, el que permet una major reproductibilitat i grau de concordança entre patòlegs (Taula 6).(40, 41) En aquestes classificacions més recents s'han eliminat el tipus 2 o hiperplàsia de criptes, ja que aquesta fase de lesió histològica és molt inestable (es detecta fugaçment durant la progressió de la lesió 1 a atròfia) (38) i la de tipus 4 (relacionada amb formes de MC refractària) que generalment es diagnostica amb tècniques citomètriques i d'immunohistoquímica mostrant una expansió clonal aberrant.(41)

En la classificació més recent, Arzu Ensari proposa mantenir els mateixos nivells de gravetat de lesió que la classificació de Corazza però canvia el terme "grau" per "tipus" per evitar l'ús d'un terme que els patòlegs utilitzen per a la gradació de tumors.(41)

Així, la classificació més recent preveu 3 nivells de gravetat de lesió (Figura 3. Imatges A Salas):

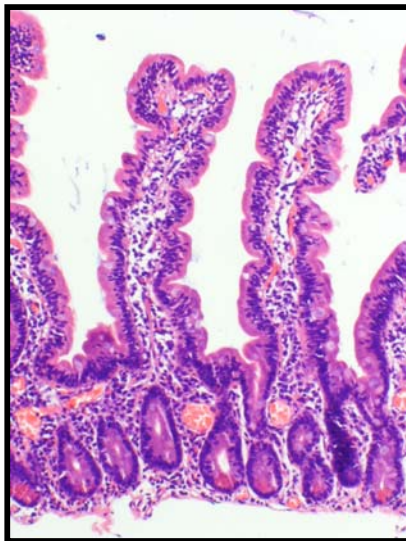
Tipus 1. Estructura vellositària conservada amb augment dels limfòcits intraepitelials (LIEs) (limfocitosi intraepitelial o EL) i els escassos casos detectats amb hiperplàsia de criptes.

Tipus 2. Eскурçament de les vellositats (<3:1 o <2:1 en bulb duodenal) més les troballes del tipus 1.

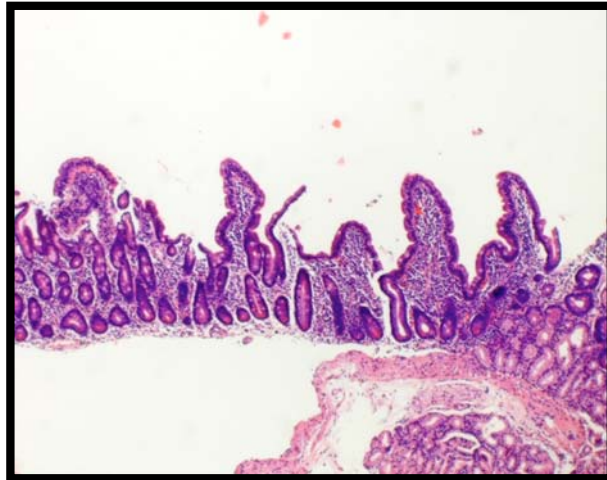
Tipus 3. Aplanament total de vellositats més les troballes del tipus 1.

Figura 3. (Imatges cedides per A. Salas)

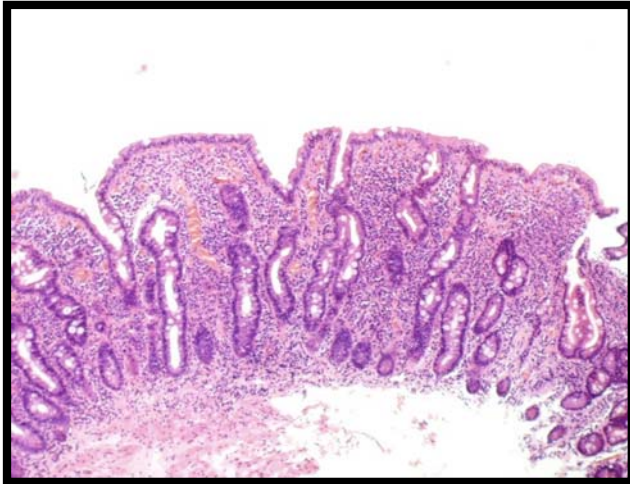
Tipus 1 . Enteritis limfocítica



Tipus 2. Escurçament de vellositats

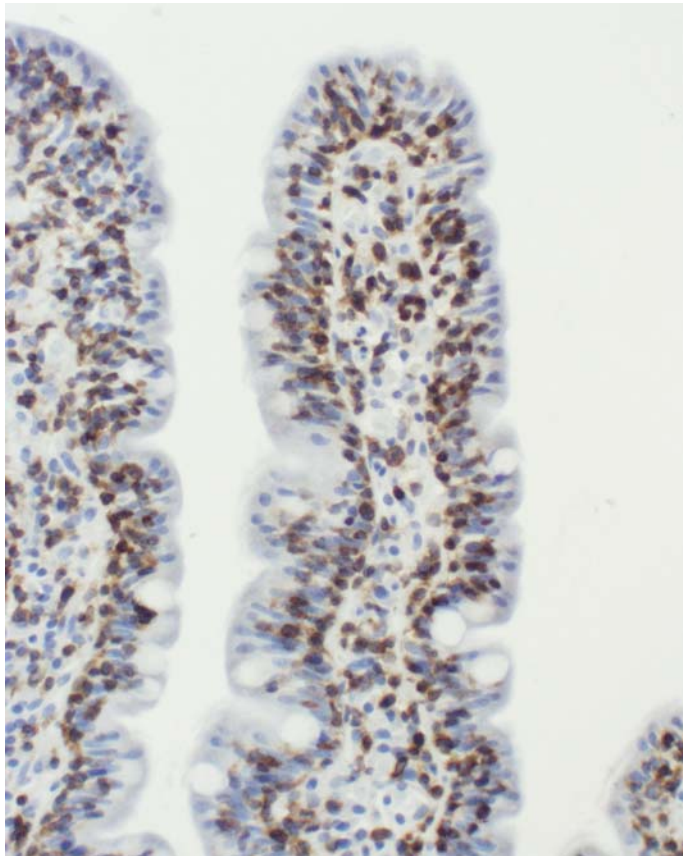


Tipus 3. Aplanament total de vellositats (atròfia)



Un aspecte essencial del diagnòstic anatomopatològic és establir el límit de normalitat de la mucosa intestinal i això és particularment important en les lesions amb arquitectura vellositària conservada. El límit de normalitat més generalment acceptat per al nombre de LIEs és el de 25 per 100 cèl·lules epitelials (42) i s'aconsella realitzar sistemàticament una immunotinció per CD3 el que permet una millor diferenciació entre els limfòcits i els nuclis de les cèl·lules epitelials (Figura 4, imatge A Salas).(41) Per facilitar el recompte cel·lular s'ha proposat la valoració de 20 enteròcits en 5 vellositats ben orientades considerant com a límit de la normalitat la troballa de menys de 5 limfòcits per 20 enteròcits (41). A L'Hospital Universitari Mútua de Terrassa es segueix utilitzant la classificació de Marsh modificada per Oberhuber (segona columna, Taula 6) i és la que s'ha utilitzat als estudis d'investigació de la present tesi doctoral.

Figura 4. Immunotinció amb CD3 dels LIEs (imatge cedida per A. Salas)



LIEs: limfòcits intraepitelials

Taula 6. Esquemes de classificació per l'avaluació histopatològica de l'enteropatia sensible al gluten (ESG)

Marsh 1992 (38)	Oberhuber et al 1999 (39)	Corazza & Villanacci 2005 (40)	Ensari A 2010(41)
Tipus 1 Lesió infiltrativa	Tipus 1 Lesió infiltrativa	Grau A	Tipus 1
Tipus 2 Hiperplàsia criptes	Tipus 2 Hiperplàsia criptes	Desapareix S'afegeix a grau A	Tipus 1 S'afegeix a grau A
Tipus 3 Atròfia	Tipus 3. Atròfia Tipus 3A. Parcial Tipus 3B. Subtotal Tipus 3C. Total	Atròfia Grau B1 Grau B1 Grau B2	Atròfia Tipus 2 Tipus 2 Tipus 3
Tipus 4 Lesió destructiva	Tipus 4 Lesió destructiva	Obsolet	Obsolet

Dificultats en el diagnòstic anatomopatològic i en la valoració de la resposta a la DSG

Actualment les biòpsies per al diagnòstic de MC s'obtenen majoritàriament amb pinça de biòpsia endoscòpica que ha substituït progressivament l'ús de biòpsia per càpsula de succió. L'obtenció de les biòpsies per via endoscòpica ofereix indubtables avantatges respecte a l'ús de càpsula: 1) Permet l'obtenció de diverses mostres (s'aconsella l'obtenció d'almenys 4 biòpsies de duodè a diferents nivells) el que contribueix a minimitzar un fals diagnòstic negatiu per l'existència de lesió segmentària (43, 44), 2) Permet dirigir la presa de mostra a les zones amb afectació macroscòpica evident; 3) Consumeix molt menys temps que la biòpsia amb càpsula i la fa més còmoda per al pacient, ja que es realitza generalment sota sedació (sobretot en edat pediàtrica). No obstant, respecte a la mostra obtinguda per càpsula de succió, la mostra obtinguda per endoscòpia sol ser més proximal (de vegades de bulb duodenal) i de menor mida i la interpretació de les lesions és per tant diferent. Cal tenir en compte que la lesió de la MC augmenta en gravetat en sentit proximal i per tant les biòpsies de duodè poden mostrar una major gravetat que les biòpsies jejunal obtingudes per càpsula de succió.(41) La generalització a la pràctica clínica de la presa de biòpsies múltiples ha permès comprovar que fins a un 50% de pacients presenten lesió segmentària i que la variabilitat pot anar des d'una biòpsia amb arquitectura vellositària conservada fins l'atròfia completa.(43,44) S'ha suggerit també que entre un 5 a 10% de pacients la lesió característica de la MC es detecta només en el bulb duodenal.(45) Hi ha altres aspectes

essencials en la interpretació de la biòpsia que si no es tenen en compte poden determinar un diagnòstic anatomopatològic erroni. En primer lloc les biòpsies han de contenir com a mínim 4 vellositats ben orientades i amb *muscularis mucosae* conservada. La pèrdua de la *muscularis mucosae* pot ocasionar una separació de la base de la vellositat i donar una falsa sensació d'escurçament. Es poden produir errors similars si les vellositats estan tallades transversalment i no longitudinalment el que pot donar una falsa impressió d'atròfia parcial. A més, la infiltració limfocitària de la lesió inicial de la MC té sovint una característica distribució decreixent cap a la base de la vellositat de manera que un tall transversal difícilment proporcionarà un diagnòstic correcte. Tot això emfatitza la necessitat que les biòpsies siguin avaluades per patòlegs experts, motivats en el diagnòstic de la patologia intestinal. Es recomana a més, quan hi ha dubtes diagnòstics, una segona opinió per un patòleg expert.(41)

La valoració de la resposta histològica és essencial sobretot quan es planteja el diagnòstic diferencial d'una falta de resposta a la DSG. L'absència de millora en un pacient que segueix una DSG estricta suggereix la possibilitat d'una MC refractària. És a més una part essencial de l'esquema diagnòstic en els casos de MC amb serologia negativa. No hi ha criteris establerts que determinin quan es produeix una bona resposta histològica. No obstant, i com s'ha comentat anteriorment, és ben sabut que, en una elevada proporció de pacients que presenten una bona resposta clínica i serològica a la DSG, persisteixen lesions que van des de la infiltració limfocitària a l'atròfia parcial.(46) Donada la possible existència de lesió segmentària i per

valorar adequadament la resposta és necessari identificar de forma clara la localització de la presa de les mostres tant en la biòpsia basal com en les biòpsies de control.

Diagnòstic diferencial anatomopatològic de la ESG

La lesió histopatològica de l'espectre d'ESG no és patognomònica d'aquesta entitat, ja que altres entitats poden produir lesions microscòpiques indistingibles (Taula 7).(41, 47, 48) El diagnòstic diferencial és fins i tot més ampli per a les lesions mínimes amb arquitectura vellositària conservada que per l'atròfia. Aquelles poden ser el resultat d'una resposta inespecífica i transitòria de l'intestí a múltiples noxes (al·lèrgiques, infeccioses, tòxiques). En molts casos la freqüència d'aquestes alteracions i la rellevància clínica no està ben establerta. No obstant, en els casos en què s'ha realitzat un estudi sistemàtic per determinar la freqüència i gravetat de la lesió associada a un determinat agent causal, com és el cas de la parasitosi per *Giardia lamblia* s'ha observat que l'atròfia i la limfocitosi intraepitelial estan rarament produïdes per aquesta.(49)

Les malalties que ocasionen atròfia de vellositats, a part de la MC, són generalment molt poc freqüents, com la malaltia d'inclusió dels microvilli, l'enteropatia neonatal, la qual és molt rara, o l'enteropatia autoimmune que afecta fonamentalment a nens. En els països desenvolupats les infeccions gastrointestinals que ocasionen atròfia són a més molt menys freqüents que en els països en vies de desenvolupament. En canvi, el diagnòstic diferencial amb l'enteropatia limfocítica produïda per *H. pylori* constitueix un repte

diagnòstic i de la mateixa manera que la produïda per la sensibilitat al gluten, pot ser clínicament rellevant (13,14,16,50). Establir un diagnòstic etiològic és per tant essencial. Altres causes freqüents d'enteropatia limfocítica que s'han de descartar són la lesió per AINEs, la parasitosi per *Blastocystis hominis* i la malaltia de Crohn.(41,47,48,50) En els propers anys les investigacions en aquest camp han de centrar-se en la troballa de marcadors cel·lulars (immunohistoquímics i citomètrics) i/o moleculars que permetin establir el diagnòstic etiològic en el moment basal sense necessitat d'haver d'esperar a la resposta al tractament específic . Actualment arribar a un diagnòstic etiològic es pot prolongar en el temps ja que es necessita determinar la resposta a l'aplicació de tractaments seqüencials i requereixen molta motivació, acceptació i disciplina, tant per part del pacient, com del metge.

Taula 7. Diagnòstic diferencial histopatològic de l'ESG (41, 47, 48)

Limfocitosi intraepitelial (Tipus 1)	Atròfia (Tipus 2 i 3)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gastroduodenitis per <i>H pylori</i> ▪ Hipersensibilitat alimentària ▪ Infeccions (Víriques, parasitàries, bacterianes) ▪ Sobrecreixement bacterià ▪ Fàrmacs (principalment AINEs) ▪ Dèficit d'IgA ▪ Inmunodeficiència comú variable ▪ Malaltia de Crohn 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Malaltia d'inclusió de microvilli ▪ Enteropatia autoimmune ▪ Sprue Tropical ▪ Sprue col·làgena ▪ Celiàquia refractària (incloent limfoma de limfòcits T associat a enteropatia). ▪ Lesions per irradiació i/o quimioteràpia. ▪ Malaltia de l'empelt contra l'hoste ▪ Dèficits nutricionals.

2.3 Prevalença global de MC en diferents àrees geogràfiques del món

Als anys 50, quan el diagnòstic de la MC es basava en gran part en la clínica del pacient, la prevalença a la població general s'estimava en aproximadament 1:8000.(51) Posteriorment, a finals dels 90, coincidint amb l'aparició de mètodes serològics més precisos per al diagnòstic, van començar a aparèixer estudis sobre prevalença de MC, no només en pacients simptomàtics, sinó també en aquells que pertanyien a algun grup de risc però estaven aparentment asimptomàtics respecte a clínica gastrointestinal. Aquests treballs són els que van donar a conèixer l'existència de formes silents de la MC, presents tant a la població general com en grups de risc, i per tant van permetre entreveure que la MC estava infradiagnosticada.(52-54) De fet, múltiples estudis realitzats tant a Europa (55-58) com al Nord de l'Àfrica (59, 60), l'Àsia (61, 62), l'Amèrica del Sud (63, 64) i Estats Units (65) van posar de manifest que la prevalença real de MC era molt més elevada del que es pensava anteriorment, i actualment s'estima que de forma global, aquesta es troba entre 1:100 i 1:250. No obstant, existeixen marcades diferències de prevalença entre els diferents estudis, de manera que pot arribar a oscil·lar des d'1:66 (66) a 1: 559.(67) Si bé aquestes diferències poden ser degudes a factors ambientals i genètics existeixen altres factors igualment importants que s'analitzaran a continuació.

2.3.1. Consideracions metodològiques dels estudi epidemiològics

Variacions de prevalença relacionades amb el mètode serològic

Malgrat que avui dia és ben sabut que els EmA i els tTGA són els marcadors serològics amb major sensibilitat i especificitat i per tant d'elecció en el diagnòstic i cribratge de MC (29), encara continuen existint estudis epidemiològics de MC relativament recents que utilitzen com a mètode diagnòstic inicial els AGA (63, 68, 69) fet que evidentment comporta un infradiagnòstic de la MC i una possible prevalença falsament baixa. D'altra banda, si bé els EmA i els tTGA poden ser utilitzats indistintament pel diagnòstic de MC, sembla que els últims tenen una major sensibilitat que els primers, sobretot determinada pel fet que, a la lesió histològica lleu, es positivitzen amb més freqüència que no pas els EmA, la detecció dels quals apareix quan més greu és la lesió duodenal (67). Això pot venir determinat en part pel fet que el resultat dels EmA depèn de l'experiència i la subjectivitat de l'observador. En canvi, la determinació de tTGA proporciona un valor objectiu que permet establir un punt de tall òptim. Aquest punt de tall es pot disminuir incrementant la sensibilitat de la tècnica a expenses generalment d'una disminució de l'especificitat. En aquest sentit, també trobem estudis que, malgrat utilitzar ambdós marcadors serològics pel cribratge poblacional, la biòpsia duodenal es decideix en base al resultat dels EmA (70); aquest fet comporta que a individus amb tTGA positiu no se'ls practiqui una biòpsia duodenal i que per tant no siguin correctament diagnosticats. Altres treballs en canvi, utilitzen únicament EmA com a mètode

diagnòstic (71, 72) fet que, pel motiu prèviament esmentat, també pot contribuir a un infradiagnòstic de la MC.

Un altre aspecte de la serologia que també pot conduir a marcades diferències de prevalença de la MC és la seva sensibilitat en funció del grau de lesió histològica. Com ja s'ha apuntat anteriorment, la sensibilitat dels tests serològics varia en funció del grau de lesió histològica, de manera que en situacions d'atròfia vellositària la sensibilitat oscil·la entre un 70-100%, mentre que aquells individus amb lesions histològiques mínimes amb arquitectura vellositària conservada (tipus Marsh I) la sensibilitat cau fins al 30% o menys.(73, 74) Aquest fet pot contribuir a diferències en la prevalença difícils de resoldre, si bé s'han plantejat noves estratègies diagnòstiques en grups de risc per tal de minimitzar aquest fenomen, com és la inclusió de la detecció de l'HLA com a cribratge inicial.(14)

Variacions de prevalença relacionades amb la definició de MC

Un fet que també ha introduït variabilitat en els resultats en els diferents estudis de prevalença és la inclusió o no com a pacients celíacs als individus amb lesió duodenal de tipus Marsh I. Alguns treballs inclouen aquest grup de pacients com a grup control mentre que d'altres els consideren com a MC lleu (66, 67, 75), fet que comporta, evidentment, diferències en la prevalença degudes a la diferent definició histològica de MC. En aquest mateix sentit, cal també esmentar la dificultat que implica el diagnòstic d'aquestes formes lleus de MC, el que fa indispensable col·laborar amb un patòleg expert que

identifiqui aquest tipus de lesió per tal que el diagnòstic inicial no sigui erroni i influencii en la prevalença final de MC.

Variacions de prevalença relacionades amb el tipus de població avaluada

Un altre factor que també pot jugar un paper important en les diferències de prevalença, és l'elecció de la mostra a estudi. Així, hi ha treballs que utilitzen donants de sang per realitzar cribratge de MC.(56, 64, 66, 70, 71, 76, 77) Això suposa un biaix clar d'inclusió, determinat sobretot per 2 motius: 1) és un grup de subjectes amb una percepció més elevada de salut que la població general, 2) dins dels criteris d'exclusió per ser donant de sang n'hi ha de clarament relacionats amb la MC, com són l'anèmia, l'alteració de les proves hepàtiques, o el diagnòstic previ de càncer. El reconeixement d'aquest biaix d'inclusió ha fet que en alguns estudis concrets s'hagin inclòs per al càlcul de la prevalença aquells individus exclosos per a la donació degut a la detecció d'anèmia.(64, 66) Altres grups han utilitzat la crida poblacional pel reclutament de subjectes.(57) Aquest mètode també implica un biaix d'inclusió ja que, al contrari del que passa amb els donants de sang, pot existir una percepció de malaltia que impulsi als subjectes a participar en l'estudi. La fiabilitat d'aquest mètode de reclutament depèn per tant de l'existència d'un alt percentatge de participació. En qualsevol cas és evident que no existeix un mètode totalment òptim que permeti tenir un reflex exacte de la població general però és important intentar minimitzar al màxim els possibles biaixos d'inclusió com s'ha fet a la present tesi doctoral.

Variacions de la prevalença relacionades amb el mètode diagnòstic (detecció serològica amb o sense confirmació histològica)

Hi ha una altra consideració metodològica a tenir en compte i que contribueix a la gran variabilitat en la prevalença dels diferents estudis i és l'exigència o no de confirmació histològica de la MC per establir-ne la prevalença final. Alguns estudis proporcionen només prevalença serològica i així veiem que hi ha treballs que tenen un percentatge de confirmació histològica del cribratge serològic inicial d'entre el 30-50% (65, 66, 72, 77), mentre que en d'altres arriba a ser d'entre el 70-100%. (58, 67, 70, 71, 75, 76, 78, 79) Aquest fet pot comportar, evidentment, marcades diferències en la prevalença histològica final de MC. I per tant, en funció del criteri establert per al càlcul de la prevalença és essencial proporcionar, no només el percentatge d'acceptació de l'estudi serològic inicial de cribratge, sinó també del grau d'acceptació de la biòpsia duodenal confirmatòria.

2.3.2. Diferències de prevalença en funció de l'edat

Des del moment de la seva descripció, la MC s'ha considerat clàssicament una malaltia de la infància i no ha estat fins a les últimes dècades que s'ha posat de manifest que la MC es pot activar en qualsevol moment de la vida, fins i tot a la senectut. Malgrat això, molt pocs estudis epidemiològics han inclòs individus de totes les edats. (80-82)

La major prevalença a les cohorts d'edat més joves es va identificar en dos estudis realitzats a Itàlia fa més de 10 anys. En el primer d'ells, dissenyat com a estudi transversal de prevalença amb cribratge serològic, es van incloure

subjectes de 12 a 65 anys d'edat distribuïts de manera homogènia. Es va detectar una prevalença global d'1:204 però amb una prevalença clarament superior en els individus de menor edat.(80) En el segon d'aquests estudis l'enfocament metodològic va ser totalment diferent. Es va instaurar un programa de recerca activa de casos en una comunitat italiana. La detecció de casos, tant abans com després de la instauració del programa de recerca activa, va mostrar una prevalença major en dones que en homes per a cada grup d'edat i una disminució de la prevalença amb l'edat de manera similar en ambdós sexes. I aquesta troballa va ser similar tant per els casos prevalents (període total d'estudi entre 1983 i 2003) com per els casos incidents (del 1997 al 2003).(81)

Un altre estudi de prevalença transversal realitzat al Brasil amb inclusió d'individus d'1 a 60 anys va mostrar uns resultats similars amb una prevalença molt superior a l'edat pediàtrica que a l'edat adulta.(82) Aquest fenomen de prevalença més elevada a l'edat pediàtrica que a l'edat adulta ha passat molt desapercebut i quasi no s'esmenta a la literatura. Els propis autors d'aquests articles proporcionen com a única hipòtesi plausible de la dràstica reducció de casos a l'edat adulta a un augment de la mortalitat associada a la pròpia malaltia. Al Brasil es considera a més deguda en part a la deficiència dels serveis d'atenció sanitària d'algunes regions d'aquest país. En cap d'aquests estudis la inclusió d'individus es va fer reproduint la distribució de la població general de referència que ha estat la metodologia emprada a la present tesi doctoral.

L'anàlisi dels diferents estudis de prevalença realitzats en diferents àrees geogràfiques del món utilitzant un mètode serològic similar a l'emprat en els estudis d'aquesta tesis (EmA i/o tTGA), permet intuir que en general es detecta una prevalença més elevada en nens i adolescents en comparació als adults. De tota manera, ja s'ha esmentat que la majoria d'aquests estudis inclouen individus de determinades edats (només nens, o adolescents, o adults o vells). En aquest sentit a les Taules 8, 9 i 10 es detallen les prevalences de MC en funció de l'edat classificades en 3 grans grups: aquells que analitzen la prevalença en nens/adolescents, els que analitzen la prevalença en adults i els que inclouen tots el grups d'edat (58, 66, 67, 70-72, 75-82)

Taula 8. Estudis epidemiològics de MC en nens-adolescents (58,72,75,78,79)

	n	Confirmació histològica	Prevalença serològica
Mäki M <i>et al.</i> NORD FINLÀNDIA (58)	3.654	Sí, 78%	1:67
Szaflarska-Poplawska A <i>et al.</i> POLÒNIA (72)	3.235	Sí, 44%	1:124
Abu-Zekry <i>et al.</i> EGIPTE (75)	1.500	Sí, 100%	1:187
Tommasini <i>et al.</i> TRIESTE, NORD ITÀLIA (78)	3.188	Sí, 77%	1:66
Demirçeken <i>et al.</i> TURQUIA (79)	1.000	Sí, 90%	1:100

Taula 9. Estudis epidemiològics de MC en adults (66,67,70,71,76,77)

	<i>n</i>	Confirmació histològica	Prevalença serològica
Oliveira <i>et al.</i> SAO PAULO, BRASIL (66)	3.000	Sí, 47%	1:66
Akbari <i>et al.</i> IRAN (67)	2.799	Sí, 75%	1:559
Roka <i>et al.</i> GRÈCIA (70)	2.230	Sí, 100%	1:558
Cook <i>et al.</i> AUSTRÀLIA (71)	1.064	Sí, 100%	1:82
Melo <i>et al.</i> SAO PAULO, BRASIL (76)	3.000	Sí, 87%	1:125
Shamir <i>et al.</i> ISRAEL(77)	1.571	Sí, 50%	1:196

Taula 10. Estudis epidemiològics de MC amb inclusió de tots els grups d'edat (80, 81, 82)

	<i>n</i>	Confirmació histològica	Prevalença serològica
Volta <i>et al.</i> ITÀLIA (80)	3.483	Sí, 100%	1:175
Lanzini <i>et al.</i> ITÀLIA (81)	1.016.426	-	1:714
Pratesi <i>et al.</i> BRASIL (82)	4.405	Sí, 94%	1:150

2.3.3. Altres factors relacionats amb les variacions de la prevalença de MC.

Durant el període de temps comprès entre els anys 1985 i 1995 es va detectar a Suècia una epidèmia de MC simptomàtica, amb una incidència 3 vegades superior a l'esperada, especialment en nens i nenes menors de 2 anys i amb una major afectació del sexe femení respecte el masculí. Passats aquests 10 anys, la incidència de MC va disminuir de nou als valors habituals. Aquest fenomen no ha estat descrit enlloc més del món i ha estat objecte de d'anàlisi i reflexió en diferents treballs.(83-85) És evident que no només existeix

un únic factor responsable d'aquesta epidèmia, i en aquest sentit, s'han proposat diferents hipòtesis (86) que analitzarem a continuació. No obstant abans d'avaluar possibles factors desencadenants, cal puntualitzar dos conceptes importants, com són els efectes període i cohort que, conjuntament, responen a canvis en les taxes (en la present tesi, taxes de prevalença de la MC) associats al temps; a continuació definim cadascun d'aquests efectes:

Efecte període. Representa canvis en les taxes degut a factors localitzats en un moment determinat del temps i que influeixen a tots els grups d'edat simultàniament.(87)

Efecte cohort. S'associa a factors que afecten a una generació i provoca canvis en les taxes de magnitud diferent en els successius grups d'edat, en successius períodes.(87)

Descobrimet del gluten

Cap a principis dels anys 50 Charlotte M. Anderson va descobrir que el gluten, proteïna continguda en el blat, era el responsable de desencadenar la lesió pròpia de MC en el budell.(88) Avui sabem per tant que la presència de gluten és un factor necessari i indispensable sense el qual la MC no es desenvolupa. Atenent per tant al concepte d'efecte cohort, entendríem que l'esmentat descobrimet hagués pogut generar un 'fals' augment de prevalença de MC en aquells individus nascuts en la cohort de principis dels anys 50, i que aquest hagués perdurat en el temps degut a un efecte període.

Descobriments de noves tècniques diagnòstiques de la MC

D'altra banda, les successives aparicions de tècniques diagnòstiques cada vegada més acurades per a la detecció de la MC, com són els AGA a finals dels anys 80, i els anticossos EmA i tTGA durant els anys 90, pot haver generat pics de major prevalença de MC durant aquests períodes, determinats per una major sensibilitat i especificitat d'aquests nous mètodes diagnòstics. Aquest fenomen el podríem atribuir per tant a un efecte període, i no pas un augment real d'aquesta prevalença.

Factors infecciosos ambientals

Sembla que les infeccions intestinals poden desencadenar la secreció de tTGA i conduir a un increment de la permeabilitat intestinal. Aquest augment de permeabilitat intestinal, sovint observat a la MC, permet l'absorció de molècules de gliadina intacta que són les responsables de produir el procés immune que acaba desembocant en la MC. Hi ha molt pocs estudis que hagin avaluat quin paper poden tenir els agents infecciosos com a etiologia inicial de la MC. La infecció per Rotavirus, una de les causes universals més freqüents de gastroenteritis en nens, podria representar doncs un dels factors infecciosos de risc per desenvolupar MC. Aquest microorganisme indueix l'expressió de citoquines inflamatòries a nivell intestinal, incrementant la permeabilitat del budell i produint canvis estructurals transitoris a l'intestí prim. A més, cap als tres anys de vida, la majoria de nens han patit en algun moment un o més episodis de gastroenteritis per Rotavirus. D'altra banda,

durant les infeccions entèriques per Adenovirus s'ha descrit la producció de proteïnes amb seqüències similars a les proteïnes del gluten, que podrien també induir a la lesió típica de la MC.(86) En un estudi prospectiu amb inclusió de 1931 nens portadors d'HLA DQ2 i/o DQ8, on s'avalua la presència de tTGA i anticossos IgG i IgM de Rotavirus als 0-9-15-24 mesos i posteriorment anualment, es detecten 27 nens amb MC confirmada per biòpsia, amb un RR de desenvolupar MC d'1,94 (IC 95%, 0,39-9,46) per aquells individus que havien tingut 1 episodi d'infecció per Rotavirus i un RR de 3,76 (IC 95%, 0,76-18,7) en aquells individus que havien tingut 2 o més episodis d'infecció per Rotavirus, resultats que es mantenen després d'haver-los ajustat per possibles factors de confusió com el sexe, pertinença a un determinat grup ètnic, educació materna, lactància materna, etc...(89) De manera indirecta, un altre treball dut a terme a Israel (90) avalua l'estacionalitat del mes de naixement en una cohort de nens amb MC en comparació a nens no celíacs. Una de les conclusions que s'estableix és que l'estacionalitat de les nenes celíaques menors d'un any és diferent de les nenes no celíaques ($p < 0,01$), amb un pic de naixement a l'estiu per les primeres en comparació a les segones. La hipòtesi que proposen per explicar aquestes diferències és la possible presència d'infeccions virals endèmiques durant aquests mesos, com són l'Enterovirus, el Rotavirus o el virus Influenzae, que podrien actuar com a factors desencadenants de la MC. Els autors de l'estudi atribueixen el fet que aquests resultats no es reproduïxin en nens celíacs del sexe masculí de la mateixa edat, a una combinació de la susceptibilitat genètica, de gènere i d'altres factors ambientals diferents de les virals. En un altre estudi

on els autors avaluen 2151 nens celíacs menors de 15 anys nascuts entre el 1974 i el 1997 i en determinen el mes de naixement, s'han obtingut resultats similars.(91) Observen un major risc de tenir MC en els nens < 2 anys nascuts durant l'estiu en comparació amb els que neixen a l'hivern (RR=1,4, IC 95% 1,2-1,7). Aquest fenomen els suggereix la presència de factors ambientals causals que varien al llarg de l'any, i proposen la diferent exposició tant a agents infecciosos com no infecciosos que es modifiquen en funció de la temperatura. La hipòtesis de que algunes infeccions intestinals podrien ser responsables d'activar la MC en persones genèticament predisposades, ens condueix a pensar que una epidèmia de gastroenteritis per Rotavirus, Adenovirus o altres microorganismes gastroentèrics en un moment determinat podria comportar la detecció d'una elevada prevalença de MC, atribuïda en aquest cas a un efecte període. En aquest sentit, els estudis existents de prevalença de MC no han tingut mai en compte aquesta possibilitat.

Lactància materna

Ja a principis dels anys 50 es va suggerir que la lactància materna podia demorar l'aparició de la MC, i possiblement reduir-ne de forma global el risc de desenvolupar-la. Des de llavors varis estudis han analitzat aquest fet, amb conclusions similars.(92-95) Tal i com s'observa en una metanàlisi (96), sembla que quan la introducció del gluten es du a terme durant el període de lactància materna, el risc de desenvolupar MC és significativament menor (OR 0,48; IC 95% 0,40-0,59). A més a més, independentment del moment

d'introducció del gluten, la lactància materna en sí, s'ha postulat com a factor protector per la MC, de manera que de forma global, el risc d'aparició de MC és significativament menor en aquells nens que han estat alimentats amb llet materna durant un període més llarg de temps respecte als que han rebut menys temps de lactància materna.(96) No obstant no queda clar quants són els dies/mesos òptims per obtenir aquesta disminució del risc, ja que quan s'analitzen els diferents treballs s'observa que el temps que produeix una protecció envers l'aparició de MC oscil·la des dels 30 dies fins els 7 mesos (92-94, 97, 98), sent la relació significativa en tots els casos excepte en un.(95) Així podríem dir que en funció de la política de lactància aplicada a cada generació i a cada país, la prevalença de MC podria haver variat, per un efecte cohort, en una població determinada.

Edat d'introducció del gluten i dosi de gluten ingerida

Tant l'edat d'introducció del gluten com la dosi diària de gluten ingerida també s'han suggerit com a factors que poden influir en l'aparició de MC. Respecte el primer, ja cap als anys 70, diferents estudis apuntaven cap a una disminució de la incidència de MC en aquells nens a qui se'ls introduïa el gluten de forma tardana. Treballs posteriors no han confirmat de forma homogènia aquests resultats. Així, segons un estudi cas-control (95) l'edat d'introducció del gluten no va resultar ser un factor de risc independent per desenvolupar la MC. De forma contrària, un treball posterior on s'analitza, entre d'altres, la influència que representa el moment d'introducció del gluten en nens amb risc elevat de patir MC, mostra el benefici d'introduir-lo

entre el 4t i el 6è mes de vida en comparació a realitzar-ho abans o després d'aquest període.(99) Així, la introducció del gluten entre els 0-3 mesos suposa un risc d'aparició de MC cinc vegades major [RR 5,17 (IC 95%, 1,44-18,57, p=0,02)] mentre que introduir-lo més enllà del 7è mes únicament representa un lleu increment del risc que no arriba a ser significatiu [RR 1,87 (IC 95%, 0,97-3,60, p=0,07)].

Pel que fa a la dosi de gluten ingerida, avaluada en alguns del treballs citats anteriorment, sembla que també és un factor que pot determinar el risc d'aparició de MC. Així, una gran quantitat de gluten (16 g/dia) en comparació a dosis intermitges o menors (7g/dia), s'ha mostrat com un factor de risc independent per patir MC (OR 1,5, IC 95%, 1,1-2,1) (94). No obstant, s'ha proposat també un model quantitatiu pel desenvolupament de la MC en el que l'expressió HLA-DQ i la disponibilitat del nombre de cèl·lules T estimuladores de pèptids del gluten interactuen per configurar major o menor risc de tenir MC.(100) Semblaria doncs que la quantitat de gluten tolerada variaria en funció de la predisposició genètica individual i altres exposicions ambientals, sense que aquest punt s'hagi pogut aclarir de forma definitiva amb les dades de què disposem a dia d'avui.

Tant l'edat d'introducció del gluten, determinada per la política sanitària i d'alimentació de cada país, com la quantitat de gluten ingerida a cada regió, variable en funció de la cultura i costums propis, poden haver generat variacions de prevalença determinats per un efecte cohort en el primer cas, o a la idiosincràsia pròpia de cada país en el segon.

Totes aquestes hipòtesis sobre el perquè existeixen variacions de prevalença tant marcades entre els diferents estudis de prevalença de MC no han estat, de forma global, avaluades ni contemplades correctament a la literatura.

2.4 Utilitat del cribratge poblacional

Definim com a cribratge la recerca sistemàtica indiscriminada aplicada per a descobrir els individus afectats d'alguna particularitat. Es realitza mitjançant l'aplicació de procediments senzills de diagnòstic a poblacions de subjectes aparentment sans, per tal de detectar malalties subclíniques.(101) Com ja s'ha comentat anteriorment en aquest treball, aquesta recerca sistemàtica de MC en grups de risc ha permès diagnosticar un gran nombre d'individus que es mantenen absolutament asimptomàtics, fet que es coneix com MC silent. Aquests individus romandrien indetectats si no es realitzés cribratge de MC. No obstant, la necessitat d'instaurar una DSG i la dificultat d'adherència a la mateixa en el subgrup de pacients asimptomàtics o paucisimptomàtics ha fet qüestionar la utilitat del cribratge massiu d'aquesta malaltia.

2.4.1 Criteris de cribratge massiu

Els principis de Wilson i Jungner publicats l'any 1968 per la Organització Mundial de la Salut (102), i vigents encara a l'actualitat, estableixen quines propietats ha de tenir certa condició per tal de ser susceptible de realitzar-ne un cribratge poblacional sistemàtic (Taula 11). Així, si ens atenem a aquests principis, sembla que la MC en podria ser una bona candidata: la seva prevalença a la població general és elevada, està infradiagnosticada,

disposem de mètodes serològics no invasius pel seu diagnòstic així com d'un tractament eficaç per la mateixa.

Taula 11. Principis de Wilson i Jungner (102)

Principis	Malaltia celíaca
La malaltia ha de constituir un important problema sanitari	SI
Existència d'un tractament acceptat per la malaltia	SI
Facilitats pel diagnòstic i tractament	SI
Existència d'una fase precoç o latent identificable	SI
Existència d'una prova diagnòstica adequada	SI
El test diagnòstic ha de ser acceptat per la població	SI
Bon coneixement de la història natural de la malaltia, incloent l'evolució des de formes latents a formes clínica i histològicament evidents	NO
Acord consensuat de qui cal tractar	NO
Cribat cost-eficaç	?
La identificació de pacients ha de ser un procés continuu	?

A pesar d'això, aquest tema continua sent actualment motiu de controvèrsia, i no existeix un consens sobre si cal o no realitzar cribratge massiu. A continuació s'analitzen, de forma global, alguns d'aquest criteris i es valoren punts a favor i en contra.

MC com a problema de salut pública

Com hem vist en l'apartat 2.3 de la present tesi, i malgrat totes les consideracions metodològiques descrites, s'estima que la prevalença de la MC és elevada, i de forma global es troba entre 1:100 i 1:250. En aquest sentit doncs, podríem establir que és una patologia prou freqüent com per plantejar la possibilitat de fer-ne cribratge massiu. De fet, a l'actualitat es realitza cribratge sistemàtic en el moment del naixement de malalties molt

menys prevalents, com són l'hipotiroïdisme, amb afectació d'1/3400 nens o la fenilcetonúria, amb afectació d'1/18000 nens. Un altre punt considerat també d'importància en els principis de Wilson i Jungner és que la malaltia a cribrar tingui una morbiditat i mortalitat augmentades si no s'inicia un tractament de forma precoç. S'ha descrit una morbiditat elevada relacionada amb la MC; per una banda, una part dels subjectes diagnosticats en el sí d'un cribratge poblacional i considerats per tant asimptomàtics, presenten en realitat símptomes inespecífics, com són la distensió, la flatulència, o l'astènia, amb els quals han après a conviure, integrant com a 'normalitat' un estat crònic de malaltia.(103) D'altra banda existeixen una sèrie de complicacions de la MC no tractada que també s'han utilitzat com a argument a favor del cribratge. L'aparició d'osteopènia/osteoporosi és una complicació a llarg termini ben coneguda de la MC.(104) Existeixen dades sobre l'aparició de pèrdua de massa òssia tant en subjectes amb formes histològicament lleus de la malaltia com amb atròfia vellositària (13, 50). A més sembla que aquesta pèrdua de massa òssia és recuperable amb la instauració de DSG, tot i que la recuperació completa en adults està debatuda.(105-108) Malgrat que semblaria lògic que la milloria o desaparició de l'osteoporosi/osteopènia es traduís a nivell clínic en la disminució del risc de fractures, existixen poc treballs que avaluin aquest fet, i els resultats de què disposem són opostats. Així, un d'aquests treballs demostra únicament un discret i no significatiu augment del risc de presentar fractures en pacients celíacs respecte els controls no celíacs.(109) En canvi, un altre estudi cas-control que avalua una mostra gran de pacients

amb MC, evidencia un RR per patir fractures de qualsevol localització d'1,30, per fractures de maluc d'1,90, i per fractures d'húmer/radi d'1,77.(110) De totes maneres, un altre treball d'aquest mateix grup, obté un RR no significatiu d'1,13 per aparició de fractures de baix impacte en pacients celíacs després d'haver-lo ajustat per índex de massa corporal i antecedent de tabaquisme.(109) Un altre factor de morbiditat relacionat amb la MC és la possibilitat d'aparició, a llarg termini, de patologia autoimmune en aquells individus celíacs no tractats. S'ha hipotitzat que el gluten podria estar directament involucrat en la patogènesi i desenvolupament de certes condicions autoimmunes en subjectes genèticament predisposats, i que la instauració precoç d'una DSG en aquests pacients podria prevenir aquest risc. Existeix un estudi cas-control on s'avaluen 909 adolescents i adults joves celíacs majors de 15 anys, a qui se'ls ha iniciat una DSG durant la primera etapa de la infància, demostrant que aquest grup té una menor incidència de patologia autoimmune que aquells individus que són diagnosticats de MC a major edat i que per tant se'ls introdueix la DSG de forma més tardana.(111) En aquest mateix treball observen a més a més que els nens celíacs diagnosticats (i per tant tractats) de forma precoç no tenen un risc augmentat de patir malalties autoimmunes quan es compara amb el grup control. De totes maneres aquest és un punt encara debatut, i altres treballs suggereixen que és l'edat dels pacients i no el temps d'exposició al gluten el que condiciona l'aparició futura de complicacions autoimmunes.(112, 113)

La mortalitat relacionada amb la MC s'ha atribuït en part a un augment d'incidència de neoplàsies malignes, una altra de les complicacions

clàssicament descrita de la MC no tractada. De fet, des que Gough l'any 1962 va suggerir per primera vegada que la 'reticulosi intestinal' (o MC) era un estat pre-maligne que podia evolucionar a reticulosarcoma (nomenclatura antiga en la classificació dels limfomes)(114), aquesta ha sigut la complicació més temuda de la MC. Fins fa relativament poc temps, es pensava que el risc global de la població celíaca de patir càncer era molt superior al de la població general. Recentment s'ha demostrat que en realitat aquest risc no està tant augmentat.(115) Tot i que s'han reportat casos de pacients celíacs que han desenvolupat limfoma B no Hodgkin intestinal i extraintestinal, adenocarcinomes d'esòfag, d'orofaringe i neoplàsies del sistema hepatobiliar i pàncrees (116, 117), aquesta associació continua sent controvertida (118, 119) i l'única relació ben establerta amb la MC no tractada és la del limfoma T primàriament intestinal.(120) És cert que la instauració d'una DSG ha demostrat reduir el risc d'aparició de patologia maligne en els pacients amb atròfia intestinal (Marsh III)(121), i aquest ha estat probablement un dels arguments més potents a favor de realitzar cribratge massiu per la MC. De totes maneres no disposem de prou evidència científica respecte si el grup de pacients amb lesió intestinal tipus Marsh I té el mateix risc d'aparició de patologia maligna que aquells amb atròfia, ni si la instauració de DSG en aquest grup d'individus redueix d'igual forma l'esmentat risc de malignitat. Sembla doncs raonable pensar que els pacients simptomàtics amb lesió tipus Marsh I i aquells amb atròfia que no han estat identificats per presentar símptomes inespecífics són els que més es beneficiarien d'un hipotètic cribratge poblacional. Ara bé, està per definir si

aquesta maniobra tindria un impacte real en la supervivència global d'aquests pacients.

La MC disposa d'un tractament acceptat?

L'únic tractament acceptat i eficaç per la MC és el mateix que ja va descriure fa més de 50 anys Willem Karel Dicke: la instauració d'una DSG que, amb les dades que disposem a dia d'avui, cal mantenir-la de per vida. Quan la MC simptomàtica es detecta i es tracta de forma precoç, totes les conseqüències negatives anteriorment esmentades es minimitzen de manera dràstica, i la percepció de salut i de benestar del subjecte augmenta de forma notable. Ara bé, es desconeix si aquests beneficis són els mateixos quan inicies una DSG en individus amb MC diagnosticada en un estat pre-sintomàtic.(103) El seguiment d'una DSG suposa una alteració evident en els hàbits dietètics del pacient, a vegades difícils de complir. El desconeixement social, tot i que cada cop menor, d'aquesta malaltia així com la baixa sensibilitat dels Òrgans de Govern fan que, una part de Centres escolars, institucions i restaurants encara no disposin de les infraestructures necessàries per poder oferir una dieta exempta de gluten. En canvi, on sí que sembla existir un augment creixent de productes aptes per celíacs és en el mercat comercial, que poc a poc s'ha anat sensibilitzant envers aquets grup de pacients, si bé els preus d'aquests productes continuen sent, pels sectors de població més desfavorits, prohibitius. Aquesta situació es veu a més agreujada per la manca de subvencions que la Sanitat Pública del nostre país ofereix per l'adquisició dels esmentats aliments, si tenim en

compte que en realitat no deixen de ser un tractament més. Tots aquests factors sumats a la manca de clínica o clínica '*minor*' de tots aquells subjectes detectats en el sí d'un cribratge sistemàtic han fet decaure l'adherència a la DSG, i això ha estat un dels arguments més utilitzats en contra de l'esmentat cribratge sistemàtic. Si bé és cert que existeixen estudis que posen de manifest un baix seguiment de la DSG dels individus detectats per cribratge (122, 123), l'experiència no és homogènia. Així, es detecten resultats d'adherència de fins a un 90%.(78) A més a més, el seguiment d'una DSG descrit en els esmentats treballs és en molts casos superior a l'adherència a tractaments crònics de malalties tant freqüents com la hipercolesterolèmia o la malaltia coronària crònica, en les que la instauració d'una dieta específica o els canvis en l'estil de vida resulten de gran importància per evitar complicacions que poden resultar mortals.(124)

Facilitats pel diagnòstic i tractament de la MC

Per establir el diagnòstic de la MC, actualment s'utilitzen indiferentment els anticossos EmA i tTGA. La sensibilitat i especificitat d'aquests marcadors, la variació d'aquestes en funció del grau de lesió histològica, les limitacions que aquest fet comporta en el diagnòstic de pacients amb lesions mínimes (Marsh I) així com les noves estratègies diagnòstiques (introducció d'HLA en el cribratge inicial en grups de risc) per vèncer aquesta limitació, són temes que ja han estat àmpliament debatuts en la present tesi en l'apartat 2.3.1. Així, l'aplicació dels mètodes de cribratge per detectar la MC són senzills i fàcils de dur a terme, fet que seria un factor afavoridor per realitzar un

cribratge. Cal recordar que, si bé els mètodes serològics són la primera arma de detecció de la MC, el *gold standard* per establir el diagnòstic definitiu a dia d'avui continua sent la realització de biòpsia duodenal.

Existència d'una fase precoç o latent identificable de la MC

Podriem descriure 2 tipus de pacients amb fases pre-sintomàtiques de la MC:

- Els individus que pertanyen a un grup de risc, són HLA DQ2 o DQ8 positius i tenen una biòpsia duodenal normal (amb o sense serologia positiva). Aquests pacients es troben en una situació de MC latent.
- Els individus que pertanyen a un grup de risc, són HLA DQ2 o DQ8 positius, tenen una lesió duodenal tipus Marsh I i malgrat això es mantenen asimptomàtics.

El coneixement d'aquestes fases pre-sintomàtiques ha estat en gran part possible gràcies als estudis de cribratge massiu. No obstant, la necessitat d'identificar i/o tractar aquests estadis és encara un motiu de debat actual. Aquest fet ve determinat sobretot per l'escassa informació que es té actualment sobre l'evolució a llarg termini d'aquest subgrup d'individus, o dit d'una altra manera, de la manca de dades complertes de la història natural de la MC. Alguns treballs de seguiment a curt termini de nens en aquesta fase pre-sintomàtica de la MC semblen mostrar una millora en la salut i prevenció de complicacions.(103, 125) De totes maneres aquest és encara un terreny a explorar en un futur pròxim de cara a delimitar els individus susceptibles de ser tractats.

Una situació ben diferent és la d'aquells subjectes diagnosticats de MC amb atròfia durant un procés de cribratge, i que durant anys havien passat desapercebuts, no pel fet d'estar precisament asimptomàtics sinó per presentar símptomes atípics difícils de reconèixer pel facultatiu, o símptomes no prou intensos com per motivar una consulta mèdica. En aquesta situació la DSG ha mostrat un clar benefici en la prevenció de complicacions, i per tant un motiu de pes per justificar el cribratge sistemàtic.

Hi ha un acord consensuat de quins pacients cal tractar?

L'acord d'instaurar una DSG estricta als pacients simptomàtics amb MC Marsh III (atròfia) és pràcticament unànime. No obstant, i com ja hem explicat anteriorment, el desconeixement parcial de la història natural de la MC dificulta la decisió d'iniciar tractament en aquells individus amb lesions mínimes o en els que estan absolutament asimptomàtics. En aquests casos la pràctica clínica actual no és uniforme, i sovint cal individualitzar-la i inclús pactar-la en funció de cada pacient i de la seva evolució durant el seguiment.

És cost-eficaç la realització d'un cribratge massiu de MC?

El cost econòmic real que implica la MC i les complicacions que d'ella se'n deriven quan no s'instaura una DSG és encara desconegut. Hi ha estudis que han avaluat el cost-efectivitat de diferents estratègies diagnòstiques serològiques, però n'hi ha pocs que hagin analitzat l'impacte que suposa cribrar de forma sistemàtica a tota la població. En aquest sentit existeix un

treball relativament recent que conclou que, assumint una taxa de mortalitat estandaritzada (TME) d'1,5 per pacients celíacs no tractats, el cribratge és cost-efectiu en poblacions amb una prevalència elevada (1:200) i en individus que pertanyen a grups de risc (familiars de primer grau, DM tipus I...).(126) Aquests models teòrics tenen les seves limitacions ja que només són aplicables quan compleixen les suposicions sobre les que es basen, i aquestes no sempre són reals (la TME dels pacients que s'adhereixen a una DSG és d'1,1, mentre que oscil·la entre 1,3 i 5,8 en els estudis que avaluen mortalitat relacionada amb la MC).(115, 127) D'altra banda, un treball realitzat a Holanda, suggereix que el cost nominal de només 5 de les possibles complicacions a llarg termini de la MC puja a 9 milions d'euros per any.(103) Si tenim present que el cost generat per altres complicacions diferents de les 5 avaluades no ha estat mai analitzat, i que actualment encara desconeixem la prevalença de les complicacions en pacients amb lesions mínimes, aquesta quantitat podria estar subestimada. Per tant es requereixen més estudis per analitzar els aspectes econòmics i de salut que implica la MC i per poder precisar amb major exactitud si l'estratègia de cribrar sistemàticament la població és cost-efectiva.

2.5 Història natural de la MC

Els criteris diagnòstics de la MC s'han anat modificant a mesura que els mètodes diagnòstics han anat millorant. Això ha permès detectar un ampli espectre de gravetat de la MC tant a nivell clínic com histològic, el que s'ha traduït en un major coneixement de la història natural d'aquesta malaltia. No

obstant, encara queden per aclarir algunes qüestions: 1) Quants celíacs potencials desenvoluparan MC al llarg de la seva vida? i, 2) Quants pacients celíacs es poden mantenir durant anys en una situació de latència o desenvolupar tolerància?. La freqüència real d'aquestes situacions no es coneix amb exactitud, però probablement és diferent en funció dels grups de risc. En aquest sentit, un estudi longitudinal de seguiment, va avaluar una cohort de 92 familiars de primer grau (18 fills i 74 germans), i els va seguir durant 12 anys mitjançant la realització d'EmA anual. Van detectar que 6 familiars tenien EmA positiu en el moment de l'avaluació inicial i 5 més els van positivitzar entre el 2n i el 5è any de seguiment, confirmant-se, en tots ells, la presència de MC amb atròfia.(128) Hi ha un altre estudi que demostra que els nens amb EmA persistentment positiu i biòpsia normal presenten una progressió de gravetat de la MC si es mantenen sota dieta normal.(125) Per tant aquest és un altre estudi que posa de manifest que la MC en fase latent es pot activar en qualsevol moment durant el seguiment.

Una altra pregunta per resoldre és amb quina freqüència pot aparèixer tolerància o si existeix una situació de latència que es mantingui al llarg del anys. En contrast amb aquest estudis que mostren que la MC es pot activar en qualsevol moment de la vida, existeixen evidències que la situació inversa també es pot produir (fenòmens de tolerància o evolució a la latència). Els estudis clàssics d'àmplies cohorts de nens amb MC ben documentada a qui se'ls realitzava seguiment amb 3 biòpsies, van demostrar que la majoria d'ells tornaven a presentar la mateixa lesió característica poc temps després de la reintroducció del gluten, generalment abans dels 2 anys.(10, 129) Però també

van evidenciar que en un 5 -10% de pacients aquesta recaiguda apareixia de forma molt més tardana o inclús no arribava a apareixer després d'un llarg temps de seguiment. Estudis molt més recents han demostrat que la MC latent es pot presentar fins i tot en un percentatge major de casos (20%) després d'un seguiment superior a 10 anys i que aquesta situació és molt més freqüent en nens diagnosticats abans dels 3 anys.(130) La MC diagnosticada en la infància per manifestacions clíniques molt probablement no és la mateixa situació dels pacients amb MC diagnosticats per cribratge serològic, en els quals l'evolució a la latència o tolerància podria ser més freqüent. En aquest sentit, en un estudi en el qual es van avaluar 1.320 nens amb predisposició genètica (DQ2 +) i en què es van realitzar determinacions seqüencials d'autoanticossos específics (EmA, tTGA, AGA i antireticulina) van detectar durant un període de seguiment de 3 anys i mig (edat mitjana de 5.5 anys) que en gairebé un 50% dels casos es va detectar serologia fluctuant i generalment transitòria. En 20 de 26 nens amb serologia positiva que van acceptar la biòpsia es va diagnosticar MC amb atròfia.(18)

El coneixement sobre la història natural de la MC té importants implicacions terapèutiques ja que ha de permetre establir si l'ESG es manté en tots els pacients durant tota la vida o si és possible induir fenòmens de tolerància. D'altra banda, també ha de permetre dilucidar quin és el moment adequat per realitzar el cribratge sistemàtic, ja que hi ha escasses dades que apunten que aquest no s'hauria de practicar abans dels 2-3 anys.(131)

3. HIPÒTESI I OBJECTIUS

3.1 Hipòtesi de treball

Els Departaments de Salut Laboral proporcionen prevenció i tractament de patologies relacionades amb l'entorn laboral, però alhora també ajuden a detectar patologies freqüents de les que se'n pot realitzar prevenció. La incorporació d'autoanticossos específics de la MC al perfil analític dels Departaments de Salut Laboral és útil per detectar la malaltia celíaca i per revertir les complicacions associades a aquesta.

La prevalença de MC a Catalunya no ha estat mai avaluada i no hi ha dades a la literatura mèdica que demostrin de manera inequívoca si hi ha diferències en la prevalença relacionades amb l'edat. La MC de l'adult és més prevalent del que es pensava prèviament i les seves característiques clíniques i histològiques difereixen de les del nen.

3.2 Objectius

3.2.1 Objectius de l'estudi 1

- 1) Avaluar la freqüència i la rellevància clínica de l'ESG (tant de Marsh I com de Marsh III) detectada per serologia en un programa de cribatge poblacional sistemàtic de població en edat laboral.
- 2) Comparar la sensibilitat dels tTGA i EmA per detectar tot l'espectre de l'ESG (de Marsh I a Marsh III)
- 3) Avaluar el grau d'adherència al programa de cribatge sistemàtic i l'efectivitat de la instauració de DSG en els individus detectats per cribatge.

3.2.2 Objectius de l'estudi 2

- 1) Avaluar la prevalença global de la MC en la població general de Catalunya.
- 2) Avaluar si existeixen diferències en la prevalença de la MC relacionades amb l'edat i el sexe.

4. MATERIAL I MÈTODES

4.1. Subjectes i disseny (estudi 1)

Entre el gener de 2004 i el desembre de 2005 es van reclutar consecutivament els primers 1868 subjectes [1308 homes, 560 dones, $36,6 \pm 0,5$ anys] que formarien finalment part de la mostra total ($n=4230$) inclosa en el segons estudi sobre la qual es va determinar la prevalença global de la MC. Aquests primers 1868 subjectes, que són la mostra total del primer estudi, tenien en comú haver estat reclutats al Departament de Medicina del Treball d'Egarsat, i representar per tant la població laboral. Per aquest motiu es van considerar que els pacients diagnosticats de MC en aquest context eren una subgrup idoni per realitzar-ne un seguiment, tant a nivell clínic i/o histològic com d'adherència al programa de cribratge tal i com es descriurà a continuació. Cap d'aquests 1868 subjectes havia estat prèviament diagnosticat de MC. Després d'obtenir el consentiment informat, es van extreure mostres de sèrum per determinació d'EmA i tGA i es va realitzar una enquesta (si/no) de símptomes sistèmics i gastrointestinals així com de malalties associades. A tots aquells individus que van resultar positius per EmA i/o tGA se'ls va oferir la possibilitat de realitzar estudi genètic amb determinació d'HLA DQ2/DQ8 i biòpsia duodenal. D'altra banda, i tal com ha estat descrit anteriorment (13, 132), se'ls va autoadministrar un qüestionari per avaluar la gravetat de símptomes mitjançant una escala analògica visual (EAV) que puntuava de 0 a 100. Els símptomes avaluats van ser: diarrea, dolor abdominal, flatulència, distensió abdominal i astènia. També es van registrar la presència d'anèmia, elevació de les transaminases i les alteracions de la densitat mineral òssia (DMO). Es va considerar que un

individu estava simptomàtic quan presentava al menys un dels esmentats símptomes i/o existien alteracions en els paràmetres analítics i/o existien alteracions en la DMO. Així mateix es va considerar que un símptoma estava present quan puntuava un valor de l'EAV superior a 20, i es va anotar com a símptoma greu quan puntuava més de 50.

4.2 Seguiment dels pacients i resposta a la DSG (estudi 1)

Es va recomanar iniciar una DSG a tots aquells pacients que es van diagnosticar de MC Marsh III (atròfia vellositària) i als pacients simptomàtics amb lesió Marsh I (EL); es va registrar l'adherència al tractament. Per tal d'assegurar un bon compliment de la DSG, els pacients es van remetre a la Societat de Celíacs de Catalunya. Si a més a més existia anèmia o alteracions de la DMO, es van iniciar suplementes de ferro i calci + vitamina D respectivament. A tots els pacients que es van adherir a la DSG, al cap de com a mínim un any d'haver iniciat la mateixa, se'ls va oferir seguiment mitjançant revaloració clínica i histològica i realització d'analítica incloent marcadors serològics. També es va oferir la possibilitat de realitzar una nova DMO en aquells pacients que presentaven alteracions en l'estudi inicial. De manera addicional, a la resta de pacients amb marcadors serològics elevats en l'estudi basal que no van voler iniciar una DSG, se'ls va oferir seguiment clínic, analític i serològic al cap de com a mínim un any.

Es va considerar que un individu assolia una resposta clínica completa a la DSG quan tots els símptomes desapareixien (EAV<20 punts) i quan s'aconseguia normalització dels paràmetres analítics i densitomètrics. Per

contra, es va definir com a resposta clínica parcial a la DSG una disminució de més de 30 punts en l'EAV i una milloria significativa, sense normalització completa, dels paràmetres analítics i densitomètrics. Es va interpretar com a resposta histològica completa el pas d'una lesió inicial Marsh III a Marsh I o Marsh 0, i en el cas dels Marsh I, la normalització del recompte inicial de LIEs o una reducció de com a mínim el 50% respecte la biòpsia basal. Es va definir com a resposta histològica parcial una milloria del grau d'atròfia (p. ex el pas de Marsh IIIC a IIIA) o una reducció del recompte de LIEs entre el 25 i el 50% respecte de la biòpsia basal en el cas dels Marsh I. En aquells pacients que no van acceptar la realització d'una nova biòpsia després d'un any de DSG, la negativització dels marcadors serològics es va interpretar com un criteri de com a mínim resposta parcial. Es va recomanar amb especial èmfasi la realització de la segona biòpsia en aquells pacients que en l'estudi basal tenien lesió tipus Marsh I i/o nivells baixos de tTGA.

4.3. Subjectes i disseny (estudi 2)

El període d'inclusió es va dividir en dues fases. Durant la primera, del gener de 2004 al desembre de 2007, es van reclutar consecutivament dels centres participants (Hospital Universitari Mútua de Terrassa i Hospital de Sant Joan de Déu), 4.230 subjectes d'1 a més de 80 anys (2.076 homes, 2.154 dones). Cap d'aquests subjectes va declinar la participació en l'estudi. Una gran proporció de subjectes en l'edat mitja de la vida (de 20 a 55 anys) van ser reclutats en el Departament de Medicina del Treball d'Egarsat (subjectes que van configurar la mostra total de l'estudi 1), mentre que els individus en edats

extremes de la vida van ser reclutats en els Departaments de Cirurgia menor ambulatoria dels hospitals participants. La cirurgia més freqüentment practicada en nens va ser la circumcisió, l'adenoidectomia i la cirurgia oftalmològica, mentre que en adults va ser la fauquetomia, la varissectomia i l'artroscòpia. Per tal d'evitar un biaix en la inclusió, només es van incloure aquells individus procedents de les zones de referència de cadascun dels hospitals participants.

La mesura de la mostra es va calcular assumint una prevalença de MC d'1:250 ($\alpha = 0.05$, $\delta = 0.25$), la qual es basa en la prevalença detectada en diferents estudis epidemiològics realitzats a Espanya, que oscil·la d'1:118 a 1:389 (57, 133, 134). La inclusió d'individus va reproduir exactament la distribució de la població de Catalunya de l'any 2003, respecte a edat i sexe, segons dades proporcionades per l'Institut d'Estadística de Catalunya (disponible a:

<http://www.idescat.cat/territ/BasicTerr?TC=5&V0=3&V1=3&V3=669&V4=498&P=N&PARENT=1&CTX=B&ALLINFO=TRUE&ANYS=2003&x=10&y=5>). Els subjectes de la mostra total es van classificar en 18 grups d'edat dividits en intervals de 5 anys (d'1-4 a ≥ 85 anys) per a cadascun dels 2 sexes. La inclusió consecutiva de subjectes va finalitzar quan es va assolir el nombre calculat de subjectes per cada grup d'edat-sexe.

En la segona fase de l'estudi, compresa entre el gener de 2006 i el febrer de 2007, es va decidir realitzar una ampliació de la mostra pediàtrica fruit dels resultats obtinguts en una anàlisi preliminar realitzada a la meitat del període de reclutament (desembre de 2005) i que va demostrar una elevada

prevalença de MC en els nens. La mostra es va tornar a calcular en base a una prevalença de MC d'1:100 en subjectes d'1 a 14 anys ($\alpha = 0,05$, $\delta = 0,25$). Es van reclutar un total de 1.230 nens més en el departament de Cirurgia menor ambulatoria de l'hospital pediàtric de Sant Joan de Déu. Així, el grup pediàtric va consistir finalment en 2.010 nens (780 reclutats en la primera fase, més 1.230 afegits en la segona fase; 1.042 nens, 968 nenes).

A tots els participants se'ls va interrogar sobre diagnòstic previ de MC i/o sobre la possibilitat d'ingesta de dietes restrictives com la DSG. En els casos afirmatius, el diagnòstic de MC va ser confirmat mitjançant una revisió acurada de la serologia i la histologia duodenal en el moment del diagnòstic, així com a una bona resposta a la DSG. Això va succeir en 3 dels 4.230 casos de la mostra total, i en 7 casos del grup pediàtric ampliat.

Després de l'obtenció del consentiment informat tant dels subjectes de la mostra total com dels de la mostra pediàtrica ampliada, es va procedir a determinar els anticossos de MC (EmA i tTGA, veure més endavant) de les mostres de sèrum obtingudes al Departament de Salut Laboral i als Departaments de Cirurgia menor ambulatoria. Aquesta determinació es va realitzar utilitzant sèrum excedent de l'anàlisi preoperatòria o de l'anàlisi de revisió d'empresa, fet que va facilitar que l'acceptació per a la realització de la serologia fos del 100%. Quan un o ambdós marcadors serològics van ser positius, es va proposar realitzar el mateix algoritme diagnòstic de MC descrit pel primer estudi (biòpsia duodenal i estudi genètic). L'acceptació de realització de biòpsia duodenal va ser del 91% en la mostra total i del 95% en la mostra pediàtrica ampliada.

El protocol de l'estudi va ser aprovat pels Comitès d'ètica dels hospitals participants.

4.4 Detecció d'anticossos (estudis 1 i 2)

La determinació d'IgA-EmA es va realitzar mitjançant immunofluorescència indirecta (IFI) en mostres de sèrum a una dilució d'1/5, segons el descrit prèviament.(135) Com a substrat es van utilitzar seccions comercials d'esòfag distal de mico (BioMedical Diagnostics, Marne-la-Vallée, França). La determinació d'IgA-tTGA en sèrum es va realitzar amb un mètode quantitatiu automatitzat ELISA mitjançant un kit comercial de detecció disponible al mercat (Varelisa Celikey™, Phadia AB, Freiburg, Alemanya) que utilitza tTG humana recombinant com antigen.(136) Seguint les recomanacions del proveïdor, es van considerar positius títols d'EmA > 1/5 i de t-TG ≥ 8 U/ml. No obstant, i donat que > 98% dels individus tenien valors de tTGA <2 U/ml, a tots aquells subjectes amb valors ≥ 2 U/ml se'ls va proposar el mateix algoritme diagnòstic de MC que als individus amb serologia inequívocament positiva. Aquesta estratègia es va aplicar per tal de determinar el màxim abast de tot l'espectre d'ESG. La determinació d'IgA total es va mesurar utilitzant nefelometria [(BN II, Siemens Healthcare Diagnostics (Former Dade Behring), Frankfurt, Alemanya)]. En els casos de deficiència d'IgA, es va realitzar determinació d'EmA de classe IgG.

4.5 Marcadors genètics (estudis 1 i 2)

Es van utilitzar tècniques estàndard per a l'extracció d'ADN, amplificació per PCR i detecció de productes. Per tal de purificar l'ADN genòmic de la sang total, es va emprar el reactiu comercial Generation Capture Column Kit ® (Gentra Systems, Minneapolis, MN, EUA). El genotipat de l'HLA-DQ2 (al·lels DQA1 * 0501 i DQB1 * 0201) i HLA-DQ8 (al·lels DQA1 * 0301 i DQB1 * 0302) es va realitzar mitjançant amplificació per PCR utilitzant seqüències de *primer* específiques (PCR-SSP) (137) en un aparell de PCR GeneAmp 2400 System (Perkin Elmer, Norwalk, Connecticut, EUA). Els productes de la PCR es van detectar per electroforesi en gel d'agarosa al 2% i es van analitzar sota llum ultraviolada. L'anàlisi de l'haplotip HLA-DQ8 es va realitzar només en aquells pacients que van ser DQ2 negatius.

4.6 La mesura de la DMO (estudi 1)

A tots els pacients diagnosticats de MC (qualsevol grau de lesió histològica, de Marsh I a Marsh III), se'ls va practicar determinació de la DMO, tant a l'inici de l'estudi com després de realitzar DSG al menys durant 1 any. Els valors T i Z van ser avaluats tant a columna lumbar com a coll femoral esquerra, mitjançant absorciometria dual de raigs X (DXA) (Lunar DPX-aph, Madison, WI, EUA). D'acord amb els criteris de la Organització Mundial de la Salut, es va definir osteopènia com un valor de DMO entre 1 i 2.5 DE per sota del valor mitjà dels adults joves (T score -1 a -2,5), i osteoporosi com un valor de DMO major de 2,5 DE per sota del valor mitjà dels adults joves (T score <-2,5).(138)

4.7 Biòpsia duodenal i criteris diagnòstics de MC (estudi 1 i 2)

A la població adulta les mostres de duodè (4 biòpsies) es van obtenir de la segona i tercera porció duodenal mitjançant pinça endoscòpica mentre que a la majoria de la població pediàtrica les mostres es van obtenir mitjançant càpsula Watson-Crosby. Les mostres es van processar amb tinció d'hematoxilina/eosina, i es va realitzar immunofenotip dels CD3. Les biòpsies van ser avaluades a cegues per dos patòlegs experts en patologia digestiva (AS i VC). Les troballes histopatològiques es van classificar segons els criteris de Marsh (38) revisats per Rostami *et al.* (139): la lesió 'infiltrativa' amb limfocitosi intraepitelial es va definir com Marsh I, les lesions 'infiltratives/hiperplàsiques' es van definir com Marsh II, i les lesions amb atròfia de vellositats parcial (A), subtotal (B) i total (C) com Marsh III. Es va assumir que existia limfocitosi intraepitelial quan hi havia més de 25 LIEs/100 cèl·lules epitelials.(42)

Es va establir el diagnòstic de possible MC quan es va detectar qualsevol grau de lesió histològica de l'espectre de l'ESG. No obstant, i donat que no existia una avaluació clínica, histològica i/o serològica completa post-DSG per tots els pacients amb enteropatia lleu, es va considerar un diagnòstic segur de MC quan un pacient tenia atròfia i serologia inequívocament positiva (títols d'EmA > 1/5 i/o de tTGA \geq 8 U/ml). Els casos de MC diagnosticats prèviament i aquells diagnosticats durant l'estudi mitjançant serologia positiva (EmA > 1.5 i / o tTGA \geq 8 UI ml) amb atròfia vellositària comprovada per biòpsia són els que es van considerar pel càlcul de la prevalença de MC (estudi 2).

4.8 Anàlisi estadística (estudi 1)

Els paràmetres categòrics es van expressar com a proporcions, mentre que les variables contínues es van expressar utilitzant mitjana i error estàndard de la mitjana (EEM). Donat que la biòpsia intestinal es va realitzar quan EmA i/o tTGA van ser positius, la relació de la sensibilitat de les dues proves serològiques es va calcular mitjançant una estimació de la sensibilitat del test quan la confirmació de la MC es limitava a resultats positius. Les diferències en la sensibilitat es van avaluar utilitzant una versió modificada de la prova de McNemar.(140) Les comparacions estadístiques de les variables qualitatives es van realitzar mitjançant una extensió del test exacte de Fisher amb taules de contingència de 2 x 3 (test de Freeman-Halton).(141) Per comparar variables quantitatives es va utilitzar ANOVA d'un factor i test de la t-Student per a dades aparellades. El nivell de significació es va considerar del 5%. Totes les anàlisis estadístiques es van realitzar utilitzant el programa SPSS per a paquet estadístic de Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, EUA).

4.9 Anàlisi estadística (estudi 2)

Les taxes de prevalença de MC es van calcular dividint el nombre de casos de MC pel nombre de subjectes reclutats en cada grup d'edat (intervals de 5 anys), i aquestes taxes es van multiplicar per 1.000 subjectes. Donat que una anàlisi estadística preliminar de tota la mostra va evidenciar una disminució significativa en la prevalença de MC durant els primers 5 anys de vida en el grup pediàtric ampliat, les taxes de prevalença es van calcular amb grups d'edat anuals.

Els intervals de confiança del 95% (IC 95%) de les taxes de prevalença no es van poder calcular assumint una aproximació d'aquestes a la distribució normal, atès que en alguns grups d'edat no es va detectar cap cas de MC. Per tant, es va assumir una distribució binomial (142) pel nombre de casos de MC per tal de calcular un IC del 95% exacte per les taxes de prevalença, així com pel canvi percentual (% de variació) de la prevalença per grups d'edat. El % de variació es va estimar mitjançant un model lineal generalitzat (143), conegut com a model log-binomial.(144, 145) Aquest model es va considerar apropiat quan la relació entre la deviança residual i els graus de llibertat residuals era significativament diferent de la unitat (143). En aquesta anàlisi, el grup d'edat és la pendent d'aquest model log-lineal, on la variable resposta és la prevalença i, per tant, la variable grup d'edat es considera com a variable contínua. En aquest model cal assenyalar que l'edat va ser considerada com a variable explicativa. Per a l'anàlisi de tota la mostra es va emprar la mediana en cada grup d'edat mentre que en la modelització de la mostra pediàtrica va ser considerada l'edat anual com a variable explicativa. Mitjançant aquest model podem calcular el % de variació de la prevalença restant 1 a l'exponenciació del pendent d'aquest model i multiplicant aquesta quantitat per 100.(146) Aquests canvis % van ser considerats estadísticament significatius quan l'IC 95% no va incloure el valor 0. Els valors negatius del % de variació es van interpretar com un descens en la prevalença de MC, mentre que els valors positius van representar un augment en la prevalença de MC. Les diferències entre grups es van comparar mitjançant el test de la Chi-quadrat.(147) Totes les anàlisis

estadístiques es van dur a terme mitjançant el programari estadístic R (148) i assumint un nivell de significació del 5%.

5. RESULTATS

5.1 Resultats de l'estudi 1

IMPACTE DEL CRIBRATGE MASSIU PER L'ENTEROPATIA SENSIBLE AL GLUTEN EN LA POBLACIÓ SANA EN EDAT LABORAL

(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;15:1331-8).

5.1.1 Freqüència de l'ESG i gravetat histològica relacionades amb serologia positiva i marcadors genètics

La Figura 5 representa un diagrama dels pacients avaluats. Dels 1868 subjectes, 26 (1,39%) tenien marcadors positius per a MC (18 homes, 8 dones, edat mitjana $37,7 \pm 11,0$ anys). Dels 26 pacients amb marcadors positius, 7 ho van ser tant per EmA com per tTGA, 1 va ser positiu només per a EmA, i els 18 restants van ser positius només per tTGA. Vint-i-un d'aquests 26 individus (80,7%) van ser sotmesos a una biòpsia intestinal, amb els següents resultats histològics: 6 Marsh III (1 IIIA, 4 IIIB, 1 IIIC), 9 Marsh I i 6 Marsh 0. Tres casos Marsh I tenien infecció per *Helicobacter pylori*, però el recompte de LIEs no es va modificar després de sis mesos d'haver realitzat tractament eradicador. Per tant, dels subjectes avaluats inicialment, un 0,80% tenien una biòpsia amb qualsevol grau de lesió histològica de l'espectre de l'ESG (1:125), mentre que un 0,32% tenien atròfia de vellositats (1:312). A la Figura 6 es mostren els valors de tTGA en relació amb el grau de lesió histològica. Tots els pacients Marsh III van ser positius tant per EmA com per tTGA, tots els Marsh I i 2 Marsh III van tenir valors de tTGA superiors a 2 U/ml però inferiors al valor de tall recomanat pel proveïdor (8 U/ml).

Figura 5. Diagrama del reclutament de subjectes.

DSG: Dieta sense gluten
DCG: dieta que conté gluten

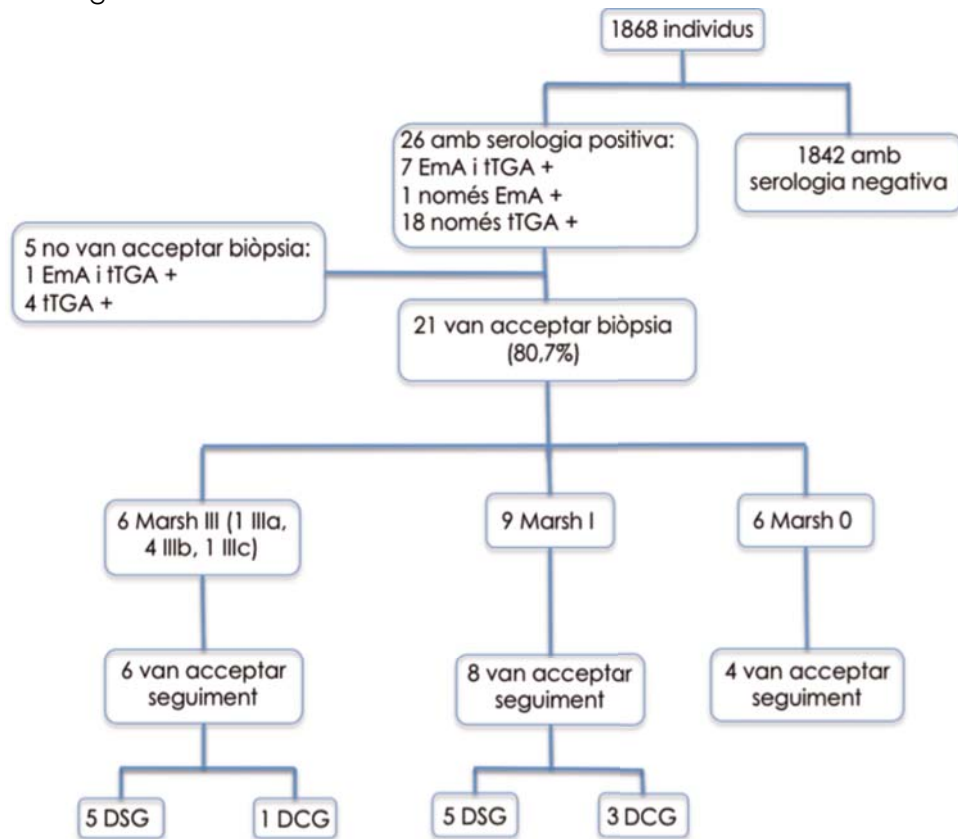
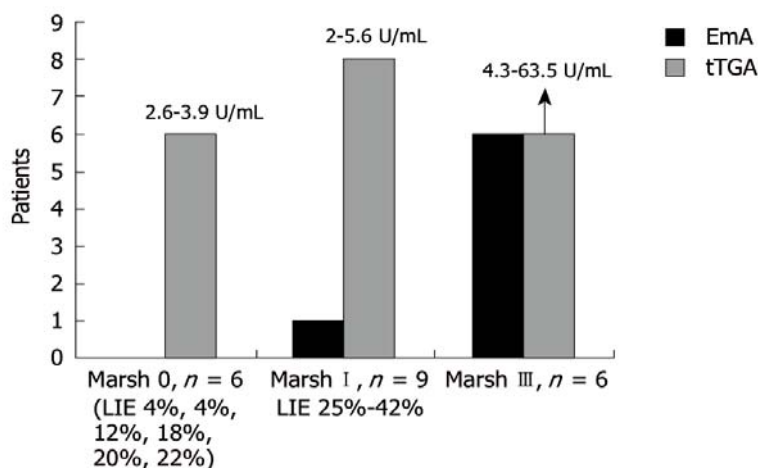


Figura 6. Valors de tTGA relacionats amb el grau de lesió histològica.

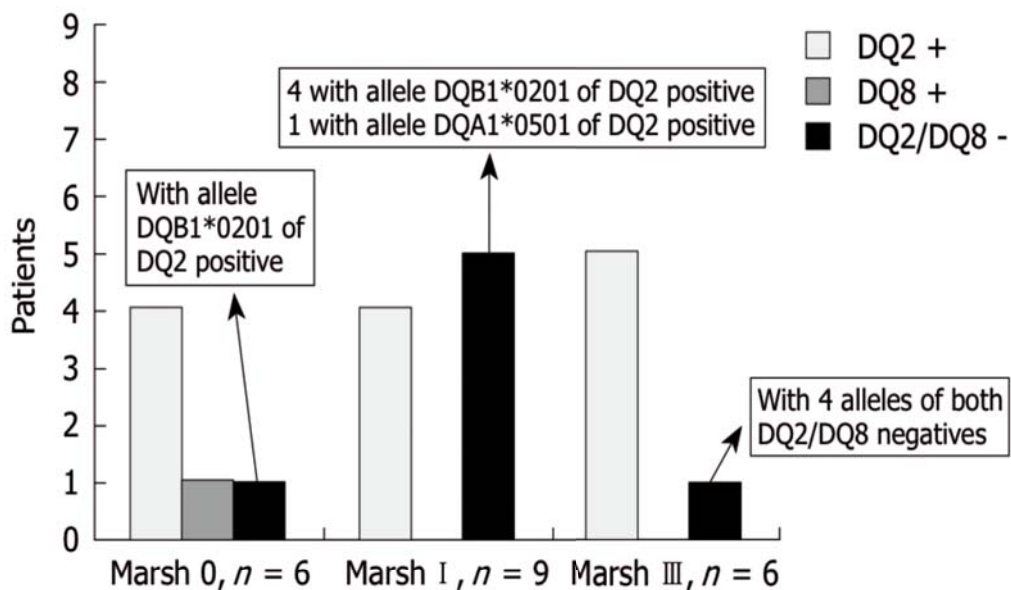


La sensibilitat dels EmA pel diagnòstic d'ESG va ser del 46,6% (11,1% per Marsh I i 100% per Marsh III), mentre que la sensibilitat dels tTGA va ser de 93,3%

(88,8% per Marsh I i 100% per Marsh III) ($p = 0,04$). La relació entre sensibilitats va mostrar una sensibilitat dues vegades major per tTGA en comparació amb EmA per al diagnòstic de tot l'espectre d'ESG (de Marsh I a Marsh III).

Dels 21 individus biopsiats, 13 (62%) van ser DQ2 +, 1 (4,7%) va ser DQ8 +, 6 tenien un al·lel del DQ2 + (28,6%) (DQB1 * 0201 en 5 individus i DQA1 * 0501 en 1) i només 1 Marsh III (4,7%) va ser negatiu pels 2 al·lells del DQ2 i del DQ8. A la Figura 7 es mostra una descripció detallada dels marcadors genètics en relació al grau de lesió histològica.

Figura 7. HLA DQ2/DQ8 en relació al grau de lesió histològica



Cinc individus amb marcadors serològics positius no van acceptar la realització de la biòpsia duodenal: 4 per no acceptar el procediment i un perquè no es va poder localitzar [1 va ser positiu tant per EmA (1/20) com per tTGA (3,94 U/ml) i els altres 4 van ser positius només per tTGA (2,21-5,10 U/ml)].

5.1.2 Característiques clíniques de l'ESG en relació amb el grau de lesió histològica

No es van trobar diferències significatives en el percentatge de malalties autoimmunes ($p = 0,415$), malalties tiroïdals ($p = 0,632$), diabetis mellitus tipus 1 ($p = 1$), anèmia ($p = 0,765$), diarrea ($p = 0,764$), dolor abdominal ($p = 1$), flatulència ($p = 0,965$) o distensió abdominal ($p = 0,621$) entre els individus amb marcadors serològics positius o negatius de la població adulta en edat laboral.

Els 15 individus amb histologia compatible amb ESG tenien característiques clíniques relacionades amb la malaltia. L'osteopènia va ser la única troballa clínica detectada en un pacient Marsh III i en 2 Marsh I (20%). A la Taula 11 es descriu la freqüència de la resta de manifestacions clíniques relacionades amb el grau de severitat histològica. Els pacients amb lesió histològica Marsh I i Marsh III van presentar més dolor abdominal (66,7%) que els que tenien mucosa duodenal normal (0%, $p=0,029$). Es va observar una tendència similar, encara que no significativa, per a la distensió i la diarrea, mentre que l'astènia es va detectar amb major freqüència en els pacients Marsh III. No es van trobar diferències en la presència d'hipertransaminasèmia i només un pacient Marsh III tenia anèmia. Quan es van avaluar els símptomes mitjançant una EAV, es va detectar un progressiu increment en la gravetat de la majoria dels símptomes des de Marsh 0 a Marsh III (Taula 12), assolint diferències estadísticament significatives per a la distensió ($p = 0,035$) i l'astènia ($p = 0,031$).

Taula 11. Freqüència de les manifestacions clíniques en relació al grau de lesió histològica

	Mucosa normal (Marsh 0) n=6 (%)	EL (Marsh I) n=9 (%)	Atròfia (Marsh III) n=6 (%)	Valor p
Flatulència	4 (66,7)	6 (66,7)	4 (66,7)	1
Distensió	2 (33,4)	7 (77,8)	4 (66,7)	0,282
Dolor abdominal	0 (0,0)	6 (66,7)	4 (66,7)	0,029
Diarrea	1 (16,7)	4 (44,5)	4 (66,7)	0,300
Astènia	2 (33,4)	2 (22,3)	4 (66,7)	0,213
Anèmia	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (16,7)	0,571
Hipertransaminasèmia	1 (16,7)	1 (11,9)	2 (33,3)	0,783

Les comparacions estadístiques es van realitzar mitjanant una extensió del test exacte de Fisher (Test de Freeman-Halton)

Taula 12. Relació entre els valors de l'EAV i el grau de lesió histològica

	Mucosa normal (Marsh 0) n=6	EL (Marsh I) n=9	Atròfia (Marsh III) n=6	Valor p
Flatulència	36,6 ± 12,0 (0-60)	28,8 ± 8,2 (0-60)	36,6 ± 14,7 (0-80)	0,839
Distensió	6,67 ± 4,2 (0-20)	28,8 ± 6,7 (0-60)	50,0 ± 16,9 (0-100)	0,035
Dolor abdominal	0,0 ± 0,0 (0-20)	31,1 ± 10,0 (0-80)	26,6 ± 9,8 (0-60)	0,06
Diarrea	8,33 ± 8,3 (0-50)	17,7 ± 9,1 (0-80)	30,0 ± 12,3 (0-80)	0,384
Astènia	10,0 ± 6,8 (0-40)	11,1 ± 7,5 (0-60)	50,0 ± 16,9 (0-100)	0,031

Les comparacions estadístiques es van realitzar amb ANOVA d'un factor. Els resultats s'expressen com a mitjana ± EEM (límits)

EEM: Error estàndard de la mitjana (posar-ho a abreviatures)

D'altra banda, el dolor abdominal greu (EAV > 50) va ser més freqüent en els pacients Marsh I (33,4%) que en els Marsh 0 (0%) i que en els Marsh III (16,7%)

($p = 0,006$), mentre que la distensió i l'astènia van ser més freqüents en els Marsh III (66,7%) que en els Marsh 0 (0%) i Marsh I (11,2%) ($p = 0,001$ per a ambdós símptomes).

La DMO va ser avaluada només en aquells pacients amb biòpsia patològica. No hi va haver diferències significatives en el percentatge d'osteopènia entre els pacients Marsh I (55,6%) i els Marsh III (33,4%) ($p = 0,608$). No es van detectar pacients amb osteoporosi.

5.1.3. Seguiment després de la DSG

Dels 26 pacients amb serologia positiva a l'inici, 18 van acceptar realitzar seguiment, fet que va suposar una adherència al programa de cribratge sistemàtic del 69,2% , amb un seguiment mitjà de 28 mesos (límits 20 a 33). Dels 15 pacients amb lesions histopatològiques compatibles amb ESG, 10 van iniciar una DSG (66,7%, 5 Marsh I i 5 Marsh III). La Taula 13 mostra una descripció detallada dels pacients que es van adherir a una DSG. En global, 9 dels 10 pacients (90%) (5 Marsh III i 4 Marsh I) van presentar una resposta completa histològica i/o serològica a la DSG. Es va observar una millora clínica notable tant en els pacients Marsh I com en els Marsh III; la resposta clínica va ser completa en 2 dels 10 pacients (1 Marsh III i 1 Marsh I) i parcial en 5 (3 Marsh III i 2 Marsh I). El principal motiu d'adhesió a la DSG en els pacients Marsh I va ser la presència d'osteopènia (4 dels 5 pacients Marsh I). De manera inversa, la osteopènia només es va detectar en un dels 4 pacients Marsh I que no es van adherir a la DSG. No es van detectar diferències ni en el nombre ni en la gravetat dels símptomes entre els

pacients que es van adherir a una DSG i els que no ho van fer. Al final del seguiment, els pacients que van seguir una DSG van mostrar una millora en la puntuació mitjana de l'EAV per a tots els símptomes, i això va ser estadísticament significatiu per a la distensió ($p=0,014$), la flatulència ($p=0,028$) i el dolor abdominal ($p=0,007$) (Taula 14). A la Figura 8, l'evolució dels valors mitjans de l'EAV es mostren per separat per Marsh I i Marsh III.

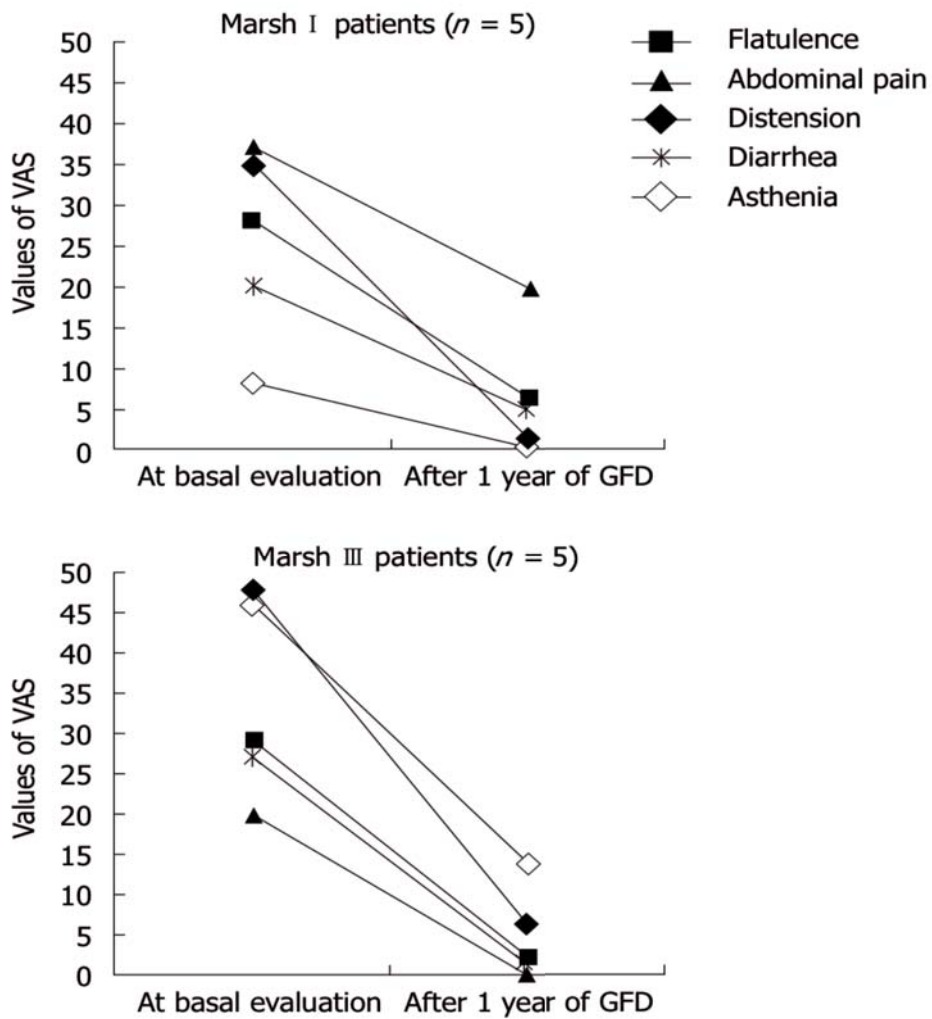
Taula 13. Seguiment dels pacients que es van adherir a una DSG

Avaluació inicial					Després de la DSG					
	Característiques clíniques	EmA	ITGA (U/mL)	Biòpsia	LIes	Característiques clíniques	EmA	ITGA (U/mL)	Biòpsia	LIes
Cas 1 ♀ 47 anys	Flatulència, distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia, anèmia, osteopènia	>1/160	74	Marsh IIb	---	Astènia	Neg.	3.3	Marsh I	35%
Cas 2 ♀ 24 anys	Flatulència	>1/160	159	Marsh IIb	---	Sense símptomes	Neg.	1.9	---	---
Cas 3 ♂ 41 anys	Flatulència, distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia, hipertransaminasèmia	>1/160	63.4	Marsh IIc	---	Astènia, hipertransaminasèmia	Neg.	2.0	Marsh I	28%
Cas 4 ♀ 32 anys	Osteopènia	1/80	8.5	Marsh IIa	---	Osteopènia	Neg.	0	---	---
Cas 5 ♀ 22 anys	Distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia, hipertransaminasèmia, osteopènia	1/10	4.34	Marsh IIb	---	Distensió, osteopènia	Neg.	1.0	Marsh I	42%
Cas 6 ♀ 42 anys	Flatulència, distensió, osteopènia	Neg.	2.0	Marsh	40%	Osteopènia	Neg.	2.4	Marsh 0	22%
Cas 7 ♂ 41 anys	Osteopènia	Neg.	3.34	Marsh	26%	Sense símptomes	Neg.	1.24	Marsh I	26%
Cas 8 ♀ 38 anys	Flatulència, distensió, dolor abdominal	Neg.	4.04	Marsh I	42%	Flatulència	Neg.	2.0	Marsh 0	17%
Cas 9 ♂ 37 anys	Distensió, dolor abdominal, diarrea, osteopènia	Neg.	3.20	Marsh I	26%	Dolor abdominal, diarrea, osteopènia.	Neg.	2.4	Marsh I	28%
Cas 10 ♂ 66 anys	Flatulència, distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia, osteopènia	Neg.	2.34	Marsh I	35%	Flatulència, distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia, osteopènia	Neg.	1	Marsh 0	14%

Taula 14. Evolució dels símptomes dels pacients que es van adherir a DSG després d'1 any de seguiment, n = 10, 5 Marsh I, 5 Marsh III

	Basal (valors mitjans de EAV)	Després d'un any de DSG (valors mitjans de EAV)	Valor p
Flatulència	28 ± 8,9	5 ± 3,4	0,028
Distensió	42 ± 10,9	7 ± 4,7	0,014
Dolor abdominal	28 ± 9,0	7 ± 5,1	0,007
Diarrea	24 ± 10,2	4 ± 2,6	0,063
Astènia	28 ± 12,3	12 ± 6,6	0,133

Figura 8. Evolució dels valors mitjans de l'EAV després de la DSG



Aquells pacients que presentaven anèmia i/o hipertransaminasèmia en

l'estudi inicial, van normalitzar aquestes alteracions al cap d'un any de DSG. La DMO es va normalitzar en 2 dels 6 pacients que presentaven osteopènia a l'inici de l'estudi. En la resta dels casos es va observar una tendència cap a la millora en els valors de T score tant en el coll femoral (inicial $-0.74 \pm 0,22$, final $-0,69 \pm 0,18$, $p = 0,144$) com en la columna lumbar (inicial -1.27 ± 0.30 , final $-1.09 \pm 0,30$, $p = 0,068$).

De manera addicional, 8 pacients amb serologia positiva a l'inici de l'estudi que van decidir seguir una dieta amb gluten (1 Marsh III, 3 Marsh I i 4 Marsh 0), van acceptar realitzar seguiment clínic, serològic i/o histològic (Taula 15). Es va detectar progressió de Marsh 0 a Marsh I en un cas, i de Marsh I a Marsh III en un altre cas. Aquesta evolució histològica es va acompanyar d'empitjorament clínic i d'un augment dels valors de tTGA en el cas que va progressar a Marsh III. En la resta de casos a excepció d'un, els nivells de tTGA van disminuir per sota de 2 U/ml en el seguiment, tot i que els símptomes clínics no es van modificar.

Taula 15. pacients que van acceptar seguiment, però no es van adherir a una DSG

Avaluació inicial						Seguiment				
	Característiques Clíniques	EmA	tTGA (U/mL)	Biòpsia	LIEs	Caractrístiques Clíniques	EmA	tTGA (U/mL)	Biòpsia	LIEs
Cas 1 ♂ 23 anys	Flatulència, distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia	1/40	6.76	Marsh IIIb	---	Flatulència, distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia	Neg.	1.70	No accepta	---
Cas 2 ♂ 63 anys	Osteopènia	Neg.	4.07	Marsh I	29%	Osteopènia	Neg.	2.2	Marsh I	25%
Cas 3 ♂ 23 anys	Flatulència distensió, dolor abdominal, diarrea, astènia	Neg.	3.74	Marsh I	25%	Flatulència, distensió, diarrea, astènia	Neg.	1.0	No accepta	---
Cas 4 ♀ 66 anys	Flatulència, distensió, dolor abdominal	Neg.	5.60	Marsh I	35%	Diarrea, dolor abdominal, distensió, flatulència	Neg.	15	Marsh IIIa	---
Cas 5 ♂ 45 anys	Astènia	Neg.	2.68	Marsh 0	5%	Astènia	Neg.	2.0	Marsh I	28%
Cas 6 ♂ 47 anys	Flatulència	Neg.	3.95	Marsh 0	22%	Flatulència	Neg.	1.0	Marsh 0	5%
Cas 7 ♂ 36 anys	Distensió	Neg.	2.78	Marsh 0	20%	Distensió, hipertransaminasèmia	Neg.	1.2	No accepta	---
Cas 8 ♂ 36 anys	Flatulència	Neg.	2.80	Marsh 0	18%	Flatulència	Neg.	1.0	No accepta	---

5.2 Resultats de l'estudi 2

LA PREVALENCIA DE LA MALALTIA CELÍACA ÉS SIGNIFICATIVAMENT SUPERIOR EN NENS EN COMPARACIÓ ALS ADULTS

(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 *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33:477-8)

5.2.1 Prevalença de MC en la mostra global (4230 individus)

De 4230 subjectes, 21 tenien serologia positiva (EmA > 1/5 i/o tTGA \geq 8 U/ml segons els límits recomanats pel proveïdor). D'aquests 21, 2 casos no van acceptar la realització de biòpsia (un nen d'1 any i un home de 28 anys, amb valors de tTGA de 8,7 UI/ml i 3,94 UI/ml i EmA de 1/80 i de 1/20, respectivament), i un tercer cas tenia histologia duodenal normal (un home de 82 anys, amb serologia positiva confirmada en dues mostres de sang separades, tTGA 4 UI/ml i EmA 1/80). Els 18 casos restants tenien una biòpsia duodenal compatible amb atròfia de les vellositats. Addicionalment, tres casos més inclosos en l'estudi de prevalença havien estat prèviament diagnosticats de MC. Així, el nombre total de pacients inclosos en l'estudi de prevalença de MC va ser de 21 (6 homes, 15 dones, relació home/dona d'1:2,5) el que suposa una prevalença de MC de 4,97 per 1000 (IC 95%: 3,08-7,58) i una relació entre casos i no-casos d'1:204. La Taula 16 mostra la prevalença de MC d'acord amb el grup d'edat i el seu IC de 95%. La prevalença de MC va ser clarament superior en nens (1 a 14 anys) (14,1 per 1000, IC 95%: 7,0-25,1 o relació d'1:71) que en adults (2,8 per 1.000, IC 95%:

1,4-5,3 o relació d'1: 357). Es van observar diferències significatives en la prevalença de MC entre els diferents grups d'edat ($p=0,00005$). Així mateix, es va detectar una davallada significativa en la prevalença de MC dels individus més grans respecte els més joves (% del canvi: -5; IC 95%: -7,58 a -2,42; Figura 9).

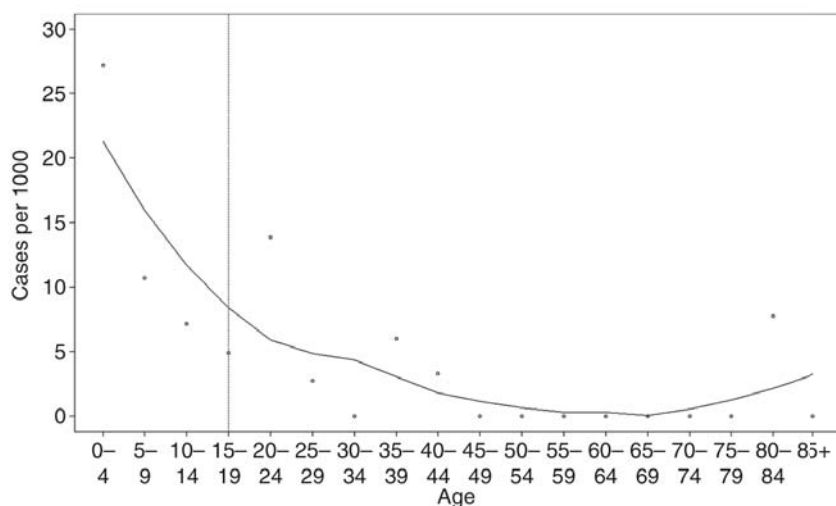
Taula 16. Prevalença de MC en la mostra global de l'estudi d'acord amb la distribució de la població de Catalunya

Edat (anys)	n	casos MC	prevalença x 1.000	IC 95%
1-4	221	6	27,15	10,03-58,15
5-9	280	3	10,71	2,22-30,99
10-14	279	2	7,17	0,87-25,65
15-19	204	1	4,90	0,12-27,01
20-24	289	4	13,84	3,78-35,06
25-29	364	1	2,75	0,07-15,21
30-34	347	0	0,00	0,00-10,57
35-39	332	2	6,02	0,73-21,59
40-44	301	1	3,32	0,08-18,37
45-49	269	0	0,00	0,00-13,62
50-54	252	0	0,00	0,00-14,53
55-59	237	0	0,00	0,00-15,44
60-64	172	0	0,00	0,00-21,22
65-69	195	0	0,00	0,00-18,74
70-74	180	0	0,00	0,00-20,29
75-79	144	0	0,00	0,00-25,29
80-84	129	1	7,75	0,20-42,43
≥ 85	35	0	0,00	0,00-100,03
Total	4230	21	4,97	3,08-7,58

Test de la Chi-quadrat: $p=0,00005$

Casos MC: Casos de malaltia celíaca detectats a l'estudi; n: número de subjectes per cada grup d'edat; IC 95%: interval de confiança de prevalença de malaltia celíaca del 95%

Figura 9. Davallada en la prevalença de malaltia celíaca en els adults en comparació als nens



Per tal d'avaluar si l'absència de casos entre els grups de més edat podia afectar l'estimació de la prevalença de MC per grups d'edat, la variable edat també es va agrupar en 0-14, 15-29, 30-44, 45-59, 60-74 i majors de 75 anys. Aquesta anàlisi va mostrar que la prevalença de la MC va disminuir de la mateixa manera -5% (IC 95%: -7,35% a -2,13%, es proporcionen els resultats a dades suplementaries Taula 1S i Figura 1S). Per tant, ambdós anàlisis van assolir la mateixa conclusió: la prevalença de la MC va disminuir un 5% per any d'edat, independentment de les definicions de grup d'edat.

A la Taula 17 es detallen els 21 casos de MC amb el grau de lesió histològica, la serologia i l'estudi genètic. Dels 3 casos de MC detectats abans del present estudi, 2 es van diagnosticar un any abans de la inclusió, ambdós per presentar una síndrome clàssica de malabsorció; el cas restant va ser diagnosticat 5 anys abans, pel fet de pertànyer a un grup de risc de MC (familiar de primer grau). En els dos casos amb estudi genètic negatiu, el

diagnòstic es va confirmar amb una bona resposta clínica, serològica i histològica a la DSG.

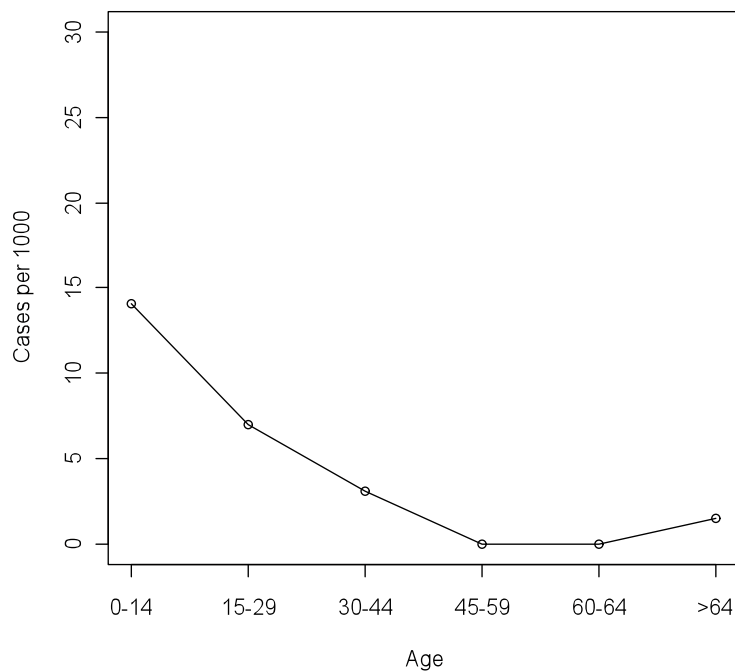
Taula 1S. Prevalença de MC en grups d'edat d'interval de 14 anys.

Edat (anys)	n	casos MC	prevalença x 1.000	IC 95%
1-14	780	11	14,11	7,06-25,09
15-29	857	6	7,01	2,57-15,17
30-44	980	3	3,06	0,63-8,91
45-59	758	0	0	0-4,85
60-74	172	0	0	0-21,22
≥ 75	683	1	1,46	0,04-8,13

Test de la Chi-quadrat: $p=0,001243$.

Casos MC: Casos de malaltia celíaca detectats a l'estudi; n: número de subjectes per cada grup d'edat; IC 95%: interval de confiança de prevalença de malaltia celíaca del 95%

Figura 1S. Evolució de la prevalença de MC per edat, en grups d'edat de 14 anys



Taula 17. Descripció dels pacients amb MC identificats en la mostra global de l'estudi

Cas	Sexe	Edat al diagnòstic de MC	EmA (títols)	tTGA (UI/mL)*	Biòpsia duodenal*	Estudi genètic	MC daignosticada abans de l'estudi
1	Femení	1	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
2	Masculí	1	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
3	Femení	2	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	No
4	Femení	2	1/80	20,7	Marsh IIIA	DQ2+	No
5	Masculí	3	1/160	51	Marsh IIIB	DQ2+	No
6	Femení	4	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	No
7	Masculí	6	1/160	39,8	Marsh IIIA	DQ2+	No
8	Femení	7	1/320	88,7	Marsh IIIC	DQ2+	No
9	Femení	8	1/80	31,5	Marsh IIIB	DQ2+	No
10	Femení	10	1/160	112	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
11	Femení	13	1/80	46,6	Marsh IIIA	DQ2+	No
12	Femení	15	1/160	77	Marsh IIIC	DQ2+	No
13	Masculí	20	1/40	6,76	Marsh IIIB	DQ2+	No
14	Femení	21	1/320	159	Marsh IIIC	DQ2+	No
15	Femení	21	1/160	114	Marsh IIIC	DQ2+	No
16	Femení	23	1/10	4,51	Marsh IIIB	DQ2+	No
17	Femení	29	1/20	5,0	Marsh IIIA	DQ2 i DQ8 -#	No
18	Femení	36	1/20	5,76	Marsh IIIA	DQ2 i DQ8 -##	No
19	Masculí	38	1/320	63,46	Marsh IIIC	DQ2+	No
20	Femení	44	1/320	62,88	Marsh IIIB	DQ2+	No
21	Masculí	82	1/80	12,25	Marsh IIIA	DQ2+	No

* Característiques serològiques i histològiques en el moment del diagnòstic

Ambdós al·lels del DQ2 (DQA1*0501, DQB1*0201) i del DQ8 (DQA1*0301, DQB1*0302) negatius

DQB1*0201 positiu i ambdós al·lels del DQ8 (DQA1*0301, DQB1*0302) negatius

5.2.2 Prevalença de la MC en la mostra pediàtrica ampliada (2010 nens)

Dels 2010 nens, 20 tenien serologia positiva. Els pares d'un d'aquests nens, un nen d'1 any, no van acceptar la realització de la biòpsia. La histologia duodenal dels 19 casos restants va ser compatible amb atròfia de les vellositats. Set casos més diagnosticats de MC abans de l'estudi (edat mitjana en el moment del diagnòstic 5 anys, límits d'1 a 13) també van ser

inclosos. Així, el nombre total de pacients inclosos per l'estudi de prevalença de MC en la mostra pediàtrica va ser de 26 (7 homes, 19 dones, relació home/dona 1:2,7), el que suposa una prevalença de MC en el grup pediàtric de 12,93 per 1.000 (IC 95 %: 8,47-18,89). A la Taula 18 es mostra la prevalença pediàtrica de MC. Per tant, es va observar una davallada significativa de la prevalença de MC en relació a l'edat (% del canvi: -16,09; IC 95%: -25,02 a -6,10), que va ser particularment evident a partir dels 3 anys (Figura 10). Es van detectar diferències significatives quan es va comparar la prevalença de MC entre els diferents grups d'edat ($p = 0,001465$).

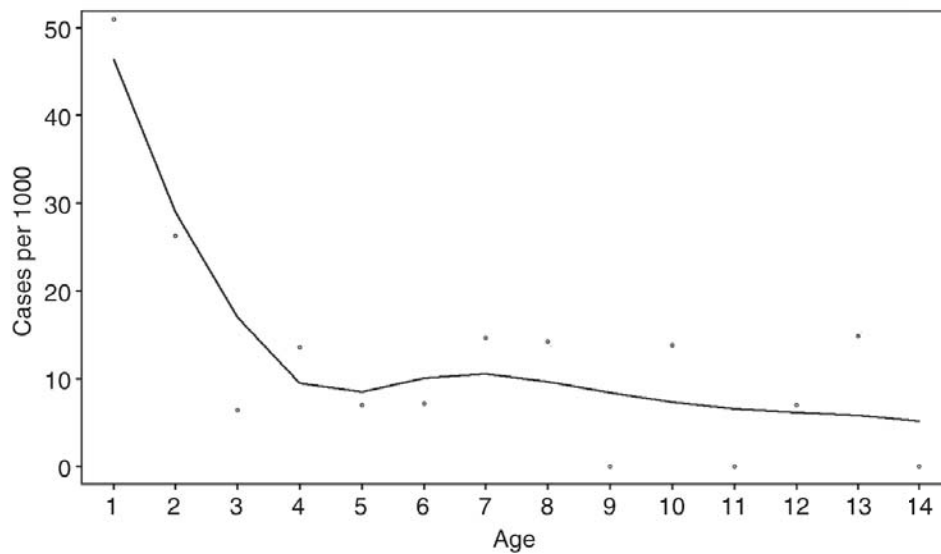
Taula 18. Prevalença de MC pediàtrica ajustada a la població pediàtrica de Catalunya

Edat (anys)	n	casos MC	prevalença x 1.000	IC 95%
1	157	8	50,96	22,25-97,93
2	152	4	26,32	7,22-66,01
3	155	1	6,45	0,16-35,42
4	147	2	13,61	1,65-48,28
5	142	1	7,04	0,18-38,61
6	139	1	7,19	0,18-39,43
7	136	2	14,71	1,79-52,11
8	140	2	14,29	1,73-50,65
9	137	0	0,00	0,00-26,57
10	144	2	13,89	1,69-49,27
11	140	0	0,00	0,00-26,01
12	142	1	7,04	0,18-36,61
13	135	2	14,81	1,80-52,49
14	144	0	0,00	0,00-25,29
Total	2010	26	12,93	8,47-18,89

Test de la Chi-quadrat: $p=0,001465$

Casos MC: Casos de malaltia celíaca detectats a l'estudi; n: número de subjectes per cada grup d'edat; IC 95%: interval de confiança de prevalença de malaltia celíaca del 95%.

Figura 10. Davallada de la prevalença de la malaltia celíaca en els nens de major edat



El grau de lesió histològica dels 26 casos de MC pediàtrica va ser el següent: 3 Marsh 3A, 9 Marsh 3B i 14 Marsh 3C (casos 1-11 de la Taula 17, sumats a 15 casos més diagnosticats a la segona fase de la inclusió. Les característiques de la totalitat de casos pediàtrics es detallen a la taula complementària Taula 2S); tots ells van resultar DQ2 positius. Dels 7 casos diagnosticats abans del cribratge de MC, 2 tenien MC clàssica, 3 tenien simptomatologia atípica, i 2 tenien MC silent (diagnosticats com a conseqüència de malalties associades a MC).

Taula 2S. Descripció dels pacients amb MC identificats en la mostra pediàtrica ampliada

Cas	Sexe	Edat al diagnòstic de MC	EmA (títols)	tTGA (UI/mL)*	Biòpsia duodenal*	Estudi genètic	MC daignosticada abans de l'estudi
1	Masculí	1	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
2	Femení	1	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
3	Masculí	1	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	No
4	Femení	1	1/320	100	Marsh IIIB	DQ2+	No
5	Masculí	1	1/80	2,9	Marsh IIIC	DQ2+	No
6	Femení	1	1/80	9,2	Marsh IIIB	DQ2+	No
7	Femení	1	1/20	4,6	Marsh IIIB	DQ2+	No
8	Masculí	1	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
9	Femení	2	1/80	20,7	Marsh IIIA	DQ2+	No
10	Femení	2	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	No
11	Femení	2	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
12	Femení	2	1/320	100	Marsh IIIB	DQ2+	No
13	Masculí	3	1/160	51	Marsh IIIB	DQ2+	No
14	Masculí	4	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
15	Femení	4	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	No
16	Femení	5	1/80	7,4	Marsh IIIC	DQ2+	No
17	Masculí	6	1/160	39,8	Marsh IIIA	DQ2+	No
18	Femení	7	1/320	88,7	Marsh IIIC	DQ2+	No
19	Femení	7	1/320	100	Marsh IIIC	DQ2+	No
20	Femení	8	1/80	31,5	Marsh IIIB	DQ2+	No
21	Femení	8	1/160	24	Marsh IIIB	DQ2+	Sí
22	Femení	10	1/160	25,8	Marsh IIIB	DQ2+	No
23	Femení	10	1/160	100	Marsh IIIC	DQ2+	Sí
24	Femení	12	1/160	34,8	Marsh IIIB	DQ2+	No
25	Femení	13	1/80	46,6	Marsh IIIA	DQ2+	No
26	Femení	13	1/320	91,3	Marsh IIIC	DQ2+	No

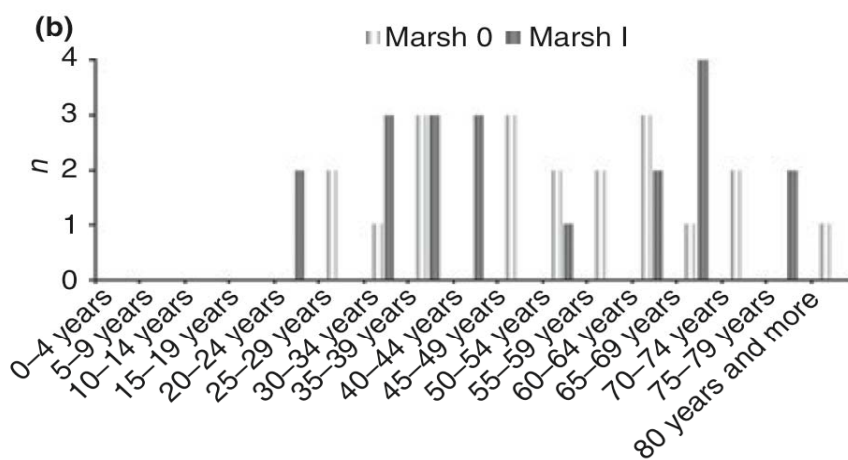
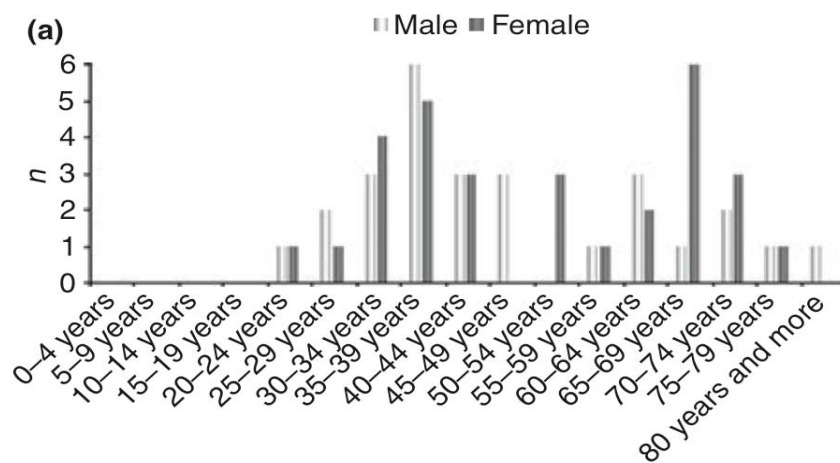
* Característiques serològiques i histològiques en el moment del diagnòstic

5.2.3 Histologia i genètica dels individus amb serologia frontera

Dels 4.230 individus, 57 tenien EmA negatius i valors de tTGA frontera, entre 2 i 8U/ml (13,4 per 1000, 1:74). D'aquests, 40 van acceptar una avaluació inicial amb estudi genètic i biòpsia duodenal, el que va suposar un percentatge de

participació en el programa de diagnòstic de MC dels individus amb serologia frontera del 70,1%. Els resultats de la histologia i la genètica d'aquests individus van ser els següents: 20 tenien limfocitosis duodenal (Marsh 1) [7 DQ2 + (35%); 6 DQB1*0201 + (30%); 2 DQA1 * 0501 + (10%); 2 DQ8 + (10%); 3 DQ2 i DQ8 negatius (15%)], i els 20 restants tenien una biòpsia normal (Marsh 0) [10 DQ2 + (50%); 6 DQB1*0201 + (30%); 3 DQ8 + (15%); 1 DQ2 i DQ8 negatius (5%)]. A la Figura 11 (b) es mostren els casos amb serologia frontera distribuïts per grups d'edat de 5 anys, tant pels que tenen limfocitosis duodenal com pels que tenen biòpsia normal. La distribució per sexe i edat dels individus amb serologia frontera (18 homes, 22 dones, relació: 1:1,2; edat mitjana: 49, límits 20-86) va ser totalment diferent a la detectada en els pacients amb atròfia (edat mitjana: 18,4 anys, límits: 1-82). No es van registrar casos amb serologia frontera en subjectes menors de 20 anys.

Figura 11. (a) Distribució per sexe i edat dels casos amb serologia frontera (n=57). **(b)** Troballes histològiques dels casos amb serologia frontera distribuïts per edat (n=40).



6. DISCUSSIÓ

La determinació dels autoanticossos de la MC (EmA i tTGA) en individus de la població general ha permès desenvolupar els 2 estudis d'investigació que constitueixen la present tesi doctoral, permetent per una banda descriure la seva utilitat en la detecció de tot l'espectre de l'ESG en un programa de cribatge, i per l'altra determinant la prevalença de MC amb atròfia en relació a l'edat i el sexe de la població general de Catalunya.

6.1 Discussió estudi 1

La freqüència detectada de MC amb atròfia confirmada per biòpsia en aquest estudi (1:312) és similar a la descrita prèviament a la nostra àrea geogràfica (57). Tots els casos Marsh III van ser positius tant per tTGA com per EmA, fet que confirma que ambdós tests serològics tenen una elevada i similar sensibilitat pel diagnòstic de MC amb atròfia de les vellositats.(149) No obstant, i com ja ha estat àmpliament explicat en la present tesi, és ben sabut que la sensibilitat de la serologia disminueix dràsticament en les formes lleus d'ESG. Malgrat que no està universalment acceptat, el reconeixement dels pacients Marsh I és important, ja que una proporció significativa d'aquests pacients presenten símptomes greus (13) i per tant es podrien beneficiar d'una DSG. Donat que més del 98% dels individus en la població general tenien valors de tTGA inferiors a 2 U/ml, es va decidir establir aquest valor com a nou punt de tall de la normalitat, enlloc dels 8U/mL recomanats pel proveïdor. Aquesta disminució del punt de tall va permetre identificar, mitjançant la determinació exclusiva de tTGA, 2 pacients Marsh III i 8 Marsh I addicionals; aquest fet va fer augmentar la sensibilitat d'aquest marcador

serològic respecte a EmA a expenses de diagnosticar un major nombre de pacients amb enteropatia lleu (sensibilitat pel diagnòstic de Marsh I de 88,8% vs. 11,1% de tTGA i EmA, respectivament). Amb la utilització combinada d'EmA i tTGA la prevalença d'ESG (de Marsh I a Marsh III) confirmada per biòpsia va augmentar fins a 1:125.

Al present estudi es detecta un nombre de pacients amb ESG similar al d'un treball realitzat a l'Iran (67) en el qual també s'avaluen pacients Marsh I i Marsh III; la majoria de pacients Marsh I detectats en l'esmentat treball són diagnosticats per presentar únicament tTGA positiu amb EmA negatiu. Aquests resultats recolzen l'elevada sensibilitat del tTGA per a la detecció d'enteropatia lleu. Desafortunadament, en l'estudi d'Akbari *et al.* (67) no es van avaluar les característiques clíniques i la resposta a una DSG dels pacients, fet que podria fer plantejar alguns dubtes sobre la fiabilitat del diagnòstic d'ESG en els individus amb EL. (150) En aquest sentit és important remarcar que abans de considerar el diagnòstic d'ESG com a responsable de la EL s'han d'haver descartat altres causes que la puguin produir.(151) Curiosament, i malgrat les limitacions de la mida de la mostra, les característiques clíniques dels pacients Marsh I identificats en la població laboral del present estudi són superposables a dades publicades en un grup de familiars de primer grau de pacients amb MC; aquest fet confirma que els pacients Marsh I poden estar tan simptomàtics com els pacients amb atròfia (13). Una vegada més, la distensió, el dolor abdominal i l'astènia van ser els símptomes més consistentment associats a ESG, independentment de la gravetat de la lesió histològica, mentre que no es van detectar diferències

significatives per a la diarrea i la flatulència. A més, tal i com ha estat descrit anteriorment, es va detectar un percentatge semblant d'osteopènia tant en pacients Marsh I com en els Marsh III, fet que suggereix l'existència d'un grau similar d'alteració de l'absorció del calci i/o vitamina D. Aquest estudi també va demostrar que els pacients Marsh I amb nivells frontera de tTGA detectats en aquest programa de cribratge massiu, eren pacients amb una veritable lesió dependent del gluten, i presentaven per tant una resposta a la DSG similar als individus amb lesió Marsh III.

Cal remarcar que 6 subjectes Marsh 0 tenien valors de tTGA entre 2,6 i 3,9 U/ml; aquesta troballa podria conduir a considerar-los com a falsos positius. No obstant, en aquests individus es va detectar una freqüència de positivitat de DQ2/DQ8 major de l'esperada, i en un cas la lesió inicial Marsh 0 va progressar a Marsh I. Aquests 2 fets suggereixen la presència de possible MC latent en aquests subjectes, i per tant caldria considerar realitzar-ne un seguiment.

Les característiques genètiques dels 21 individus dels que disposem d'histologia duodenal inicial mereixen un comentari addicional. El 62% i el 4,7% van ser DQ2 i DQ8 positius respectivament, i el 28,6% (5 Marsh I i 1 Marsh 0) tenien un sol al·lel del DQ2 positiu (DQB*0201 en 5 casos i DQA1*0501 en un cas). Així, el percentatge de positivitat de DQ2 en el present estudi va ser inferior al descrit per pacients amb MC, que expressen ambdós al·lells del DQ2 en més del 90% dels casos (31). No obstant, s'ha reportat que la majoria dels pacients celíacs amb DQ2 negatiu (aproximadament el 5%), presenten un dels 2 al·lells del DQ2, majoritàriament el DQB*0201 i en menys freqüència

el DQA1*0501(34). D'acord amb aquestes dades, els pacients DQ2 negatius del present estudi, la majoria d'ells Marsh I, van expressar un sol al·lel del DQ2, predominantment DQB*0201. És plausible que la sola presència de la cadena β o la cadena α de l'heterodímer del DQ2, codificades per DQB*0201 i DQA1*0501 respectivament, podria impedir, en aquests individus, la progressió d'enteropatia lleu a atròfia. Tenint en compte tota aquesta informació, és altament probable que els individus amb valors de tTGA ≥ 2 U/ml detectats en aquest estudi presentin alguna forma de tot l'espectre de la ESG (de Marsh 0 a Marsh III).

Aquest estudi també demostra que els pacients amb ESG de la població general no poden ser identificats només en base a la clínica, ja que la presència de símptomes relacionats amb la MC és similar en els subjectes amb marcadors positius i negatius. Aquest fet explica per què la MC continua sent infradiagnosticada en una elevada proporció d'individus afectats; aquest és un argument més a favor de la realització de cribratge sistemàtic mitjançant altres aproximacions diagnòstiques com és la realització de serologia, independentment dels símptomes clínics. Desafortunadament, i com ja hem vist, la serologia té limitacions, sobretot per la seva baixa sensibilitat en la detecció d'individus amb ESG lleu. A més, les fluctuacions dels valors de tTGA al llarg del temps és una limitació que pot impedir la identificació de pacients amb MC silent en un moment determinat. En aquest sentit, la majoria dels valors de tTGA dels pacients que no s'han adherit a una DSG, han estat negatius en el seguiment.

Gairebé el 70% dels pacients amb serologia positiva es van adherir al programa de seguiment, ja sigui amb l'inici d'una DSG o simplement mitjançant avaluació clínica, serològica, i en algunes ocasions histològica. El grau d'adherència a la DSG reportat a la literatura és molt variable, i oscil·la entre menys del 10% (123) al 90% (78); aquesta variabilitat probablement estigui condicionada, en part, al grau de confiança establert en els diferents tipus de relació metge-pacient. Cal considerar que el grau d'adhesió a la DSG dels individus detectats per cribratge, tant d'aquest com d'altres estudis, és similar o superior a l'adherència als tractaments d'altres malalties amb elevada comorbilitat com són la hipercolesterolèmia o la malaltia coronària (124), en les que l'inici d'una dieta específica o els canvis en l'estil de vida pretenen prevenir complicacions potencialment mortals.

S'ha argumentat que la manca d'adherència a una DSG en els pacients identificats en programes de cribratge es deu a l'absència de símptomes d'aquests casos. Aquest estudi demostra que quan es realitza una avaluació sistemàtica de signes o símptomes relacionats amb l'ESG, quasi tots els individus detectats tenen manifestacions clíniques. S'ha de tenir en compte que l'osteopènia és la única característica clínica detectada en el 20% dels pacients. Per tant, la manca del potencial benefici d'una DSG percebut pel pacient mai ha de ser utilitzat com un argument en contra de la realització de cribratge sistemàtic de MC a la població general.

En conclusió, la ESG a la població general és freqüent i clínicament rellevant, independentment del grau de lesió histològica. Els programes de cribratge

són útils per identificar aquests pacients i poder decidir en cada cas la necessitat d'instaurar una DSG o realitzar un seguiment estret.

6.2 Discussió estudi 2

Aquest és el primer estudi de prevalença de MC en el que la prevalença s'ha determinat en una mostra que reproduïx exactament la mateixa estructura que la població de referència respecte a l'edat i el sexe. La prevalença de MC detectada en la població general d'aquest estudi va ser similar a la reportada a la literatura (1:204), confirmant-se que la MC presenta un clar predomini femení. No obstant, es detecta una prevalença 5 vegades superior en el grup pediàtric en comparació amb el d'adults (1:71 vs 1:357). Aquesta va ser una troballa inesperada si tenim en compte que la MC està considerada una malaltia crònica. A continuació es proposen algunes possibles teories per explicar aquest fenomen; cap d'aquestes hipòtesis pot ser demostrada definitivament amb el disseny transversal del present estudi, i algunes d'elles caldria confirmar-les en futurs estudis longitudinals.

En un estudi realitzat a Brasil que va incloure individus d'entre 1 i 60 anys (82), sense una reproducció de la població de referència de Brasil, es va detectar una disminució similar en la prevalença de la MC en relació a l'edat. Els autors van suggerir que aquesta disminució de prevalença relacionada amb l'edat podia estar ocasionada tant per un augment de la mortalitat associada a la MC, com per la manca, en part, de Serveis de Salut en algunes regions del país. Contràriament, la disminució de la prevalença de MC relacionada amb l'edat detectada al present estudi no pot ser atribuïda

a una elevada mortalitat dels pacients amb MC. Aquesta afirmació està basada en diverses observacions: en primer lloc, a diferència del cas del Brasil [83], l'esperança de vida de la població de Catalunya és una dels més elevades del món, que disposa a més d'una cobertura sanitària universal; en segon lloc, arreu del món s'ha descrit únicament un lleu augment del risc de mortalitat relacionada amb la MC (152, 153), i aquest fet per sí mateix no explica l'absència de MC en subjectes nascuts entre el 1.925 i el 1.962; i en tercer lloc, en el grup pediàtric ampliat del present estudi es va detectar una disminució dràstica en la prevalença de MC a partir dels 3 anys. Aquest descens en la prevalença de MC en aquest grup d'edat no pot ser atribuït a la mortalitat infantil a Catalunya, ja que aquesta és tan baixa com 0,16 morts per cada 1.000 habitants d'1 a 4 anys d'edat, 0,08 per cada 1.000 habitants de 5 a 9 anys d'edat, i 0,14 per 1.000 habitants de 10 a 14 anys d'edat.(154) A més, en les dades proporcionades en l'anàlisi de la mortalitat a Catalunya (154) no es van registrar morts ocasionades per condicions o comorbilitats relacionades amb la MC.

Estudis epidemiològics recents realitzats a Finlàndia han suggerit que una part dels pacients amb MC són diagnosticats més enllà dels 65 anys (21,3 x 1000 habitants). En el nostre estudi es detecta un lleuger augment de la prevalença de MC en persones majors de 80 anys, el que probablement reflecteix el mateix fenomen.(155)

Altres raons per explicar l'elevada prevalença de MC durant la primera infància podrien ser l'existència de certs factors ambientals com les infeccions virals i els canvis en les polítiques d'alimentació (per exemple les

recomanacions de lactància materna, o el moment de la introducció del gluten). No obstant, no hem estat capaços d'identificar, entre els nens menors de 3 anys, cap potencial factor capaç de produir una epidèmia de MC. Per contra, la lactància materna, un factor considerat protector per el desenvolupament de MC (96), ha augmentat a Catalunya, tant en freqüència com en durada. Les dades facilitades per la Generalitat de Catalunya en el lloc web de <http://www.gencat.cat/generalitat/cas/govern/infocatalunya/> mostren un augment de la lactància materna del 39,2% el 1989 al 61,9% el 2005 als 3 mesos d'edat, i del 6,3% el 1989 al 31,3% el 2005 als 6 mesos d'edat.

Un altre factor considerat desencadenant per l'aparició de MC és la introducció precoç del gluten a la dieta. Però a diferència del que caldria esperar, les cohorts d'individus nascudes abans de les recomanacions de la ESPGAN, que van entrar en vigor durant la dècada de 1980 (6), i en les quals es realitzava una introducció del gluten a la dieta de forma precoç i abrupta, són les que mostren precisament la prevalença de MC més baixa.

Les diferents fonts de reclutament utilitzades en el present estudi (Unitats de Cirurgia Menor i Departament de Salut Laboral), podrien haver condicionat, teòricament, diferències en la prevalença de MC. No obstant, es va dedicar especial atenció en evitar biaixos en la inclusió dels centres participants, minimitzant aquesta limitació. Això es va aconseguir principalment mitjançant la inclusió de casos consecutius intervinguts en les Unitats de Cirurgia Menor per afeccions lleus molt comuns i que apareixen quasi invariablement en relació amb l'edat (faquectomia, artroscòpia, etc.)

Aquestes malalties afecten a una gran majoria dels subjectes de la població general en algun moment de la vida. A més, la disminució de la prevalença de MC en els individus de major edat no estava relacionada amb el lloc de reclutament (Departament de Salut Laboral o Unitat de Cirurgia Menor). En canvi, l'ús de diferents llocs de reclutament ens va permetre incloure subjectes de totes les franges d'edat. Aquest tipus d'inclusió és calarament diferent a la d'altres estudis publicats de prevalença de MC, en els que generalment només s'inclouen individus d'edats concretes o provinents d'un context específic i que per tant comporten l'existència d'un biaix important (adults, escolars, donants de sang, etc).(56, 66)

Malgrat que no es pot descartar que l'augment de prevalença en els nens de menor edat hagi estat produït per un efecte cohort en relació a l'existència d'infeccions virals o modificacions en els hàbits alimentaris, existeixen hipòtesis alternatives que poden explicar aquestes diferències de prevalença de la MC relacionades amb l'edat detectades en el present estudi: que una elevada proporció de lesions compatibles amb ESG, sobretot aquelles que apareixen en la primera infància i que han estat detectades per cribratge, poden evolucionar a la latència o la tolerància. Aquesta hipòtesi es sustenta en algunes evidències trobades a la literatura [8,132]. S'ha reportat que fins a un 20% dels nens diagnosticats de MC amb atròfia durant la infància, mantenen una arquitectura duodenal conservada passats 10 anys després de la reintroducció del gluten, sent aquest fenomen més freqüent en aquells nens diagnosticats abans dels 3 anys.(130) També s'ha descrit que els pacients diagnosticats de MC durant l'edat adulta presenten

una forma clínica, serològica i histològica atenuada de la malaltia en comparació amb els diagnosticats en la infància.(8) De fet, en el present estudi es va observar una tendència similar en els pacients adults diagnosticats de MC, els quals van ser els que tenien valors de tTGA més baixos i lesió duodenal més lleu en comparació amb els nens celíacs. D'altra banda, en un estudi epidemiològic realitzat a Turku, Finlàndia, en una cohort de nens amb predisposició genètica per desenvolupar la MC, es va observar desaparició espontània de la tTGA en el 49% dels casos, sense retirar el gluten de la dieta.(18) Aquest fet suggereix que, en els nens diagnosticats de MC per cribratge poblacional, l'evolució cap a la latència pot ser encara major que en aquells que han estat diagnosticats per símptomes. En aquest sentit, els resultats del present estudi, que evidencia una marcada disminució de la prevalença de MC més enllà dels 3 anys, similar a la detectada en altres països com Itàlia (80) i Brasil (82) amb costums alimentàries i condicions sanitàries diferents a les nostres, podria representar un altre punt de vista d'aquest mateix fenomen.

El present estudi planteja qüestions importants sobre la història natural de la MC que caldrà confirmar amb estudis longitudinals de llarga durada. De fet, un estudi recent publicat durant l'any 2011 en posterioritat a la finalització de la present tesi doctoral demostra una vegada més que individus amb MC potencial poden evolucionar tant cap a una progressió a formes més greus de la malaltia com a una autolimitació d'aquesta. Així, en l'esmentat estudi, amb una metodologia rigorosa, es demostra en una cohort de 106 nens seguits durant 3 anys amb tTGA positius i biòpsia normal, que es produeix

progressió cap a l'atròfia en un 33% dels casos mentre que en un 14.6% dels casos la biòpsia segueix essent normal i els Ac es negativitzen de manera permanent.(156)

Els resultats del present estudi han demostrat que existeix una clara diferència entre els individus amb serologia frontera i aquells amb MC amb atròfia. El factor que més recolza aquesta afirmació és la diferència detectada en el perfil genètic de cadascun d'aquests 2 subgrups. Així, els individus amb serologia frontera van mostrar un percentatge de positivitat de DQ2 (42%) superior al detectat a la població general de Catalunya (18%) (33), però clarament inferior al trobat en els pacients amb serologia inequívocament positiva i atròfia de vellositats (95%). A més, a diferència dels pacients amb MC amb atròfia, els quals mostren un predomini en el sexe femení, la distribució per sexe dels individus amb serologia frontera és similar al de la població general. Aquestes diferències en les característiques genètiques entre els pacients amb MC amb atròfia i aquells amb serologia frontera suggereixen que la gran majoria dels individus amb serologia frontera probablement mai han tingut una MC amb atròfia que hagi evolucionat a la latència.

No obstant, el 50% dels pacients amb serologia frontera tenien limfocitosi duodenal i, en l'estudi 1 de la present tesi, es demostra que alguns d'aquests individus han tingut una bona resposta clínica i histològica a la DSG. Aquest fet suggereix que alguns individus amb una certa predisposició genètica (DQ2 positiu o DQB1*0201 positiu) podrien tenir una forma atenuada de sensibilitat al gluten que podria mantenir-se estable al llarg de tota la vida.

En conclusió, la disminució de la prevalença de MC observada en les generacions de major edat, i que és particularment notable després dels 3 anys de vida, suggereix que l'evolució de la MC cap a la latència pot ser un fenomen més freqüent del que es pensava prèviament, sobretot en els casos que han estat detectats per cribratge. Aquesta hipòtesi s'ha de confirmar en futurs estudis longitudinals per definir millor la història natural de la MC, i actualment no pot ser utilitzat com un argument per no instaurar una DSG en els pacients amb un diagnòstic consistent de MC.

7. CONCLUSIONS

1. L'ESG incloent tot l'espectre de gravetat (de Marsh I a Marsh III) és freqüent a la població general i clínicament rellevant, independentment del grau de lesió histològica.
2. La disminució del punt de tall dels tTGA permet identificar una major proporció d'individus amb ESG, sobretot aquelles formes més lleus amb arquitectura vellositària conservada.
3. Els pacients amb tTGA en valors frontera o sense lesió duodenal presenten una freqüència de positivitat de DQ2 superior a la població general però inferior a la dels pacients amb atròfia. La bona resposta clínica, serològica i histològica a la DSG de la major part d'aquest pacients amb lesió duodenal de tipus Marsh I suggereix que aquesta lesió és dependent del gluten.
4. Els programes de cribratge serològic, però no la simptomatologia clínica, són útils per identificar la MC silent o paucisintomàtica de la població general i poder decidir de manera individualitzada la necessitat d'instaurar una DSG
5. La prevalença de la MC amb atròfia a la població general és significativament menor en adults que en nens. Aquesta disminució es fa particularment evident a partir dels 3 anys d'edat, i planteja diverses hipòtesis com són el possible efecte de factors ambientals responsables d'una epidèmia a la primera infància o la possibilitat d'evolució a la latència per aparició de fenòmens de tolerància.
6. Els factors ambientals relacionats amb l'activació de la MC, com són la introducció abrupta i precoç del gluten a les cohorts de major edat

o l'efecte protector de la lactància materna, que s'ha incrementat a les cohorts més joves, han mostrat un efecte paradoxal sobre la prevalença. Això fa que en una elevada proporció de casos de MC detectats per cribratge serològic, la hipòtesi d'evolució a la latència a l'edat adulta sigui la més plausible, tot i que caldrà confirmar-la en estudis longitudinals.

7. Les baixes taxes de mortalitat infantil i les causes de mortalitat infantil no relacionades amb la MC a Catalunya fan que les hipòtesis prèviament plantejades de descens de la prevalença a l'edat adulta relacionada amb mortalitat no siguin una explicació possible en el present estudi.

8. BIBLIOGRAFIA

(1) Alaa Rostom, Joseph A, Murray Martin F, Kagnoffc. American Gastroenterological Association (AGA) Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology* 2006;131:1981-2000.

(2) Accomando S, Cataldo F. The global village of celiac disease. *Dig Liver Dis* 2004;36: 492-98.

(3) Ciclitira PJ, King AL, Fraser JS. AGA technical review on celiac sprue. *Gastroenterology* 2001;120:1526-40.

(4) Dewar DH, Ciclitira PJ. Clinical features and diagnosis of coeliac disease. *Gastroenterology* 2005; 128:S19-S24.

(5) Meuwisse GW. Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Pediatr Scand* 1970; 59:461.

(6) McNeiss AS, Harás K, Rey J, Smerling DH, Walter-Smith JA. Re-evaluation of diagnostic criteria for celiac disease. *Arch Dis Child* 1979; 54:783-6.

(7) Murray JA, Van Dyke C, Plevak MF, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton LJ. 3rd. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950-2001. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003;1:19-27.

(8) Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, Gutierrez S. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2008;103: 2360-5.

(9) Guandalini S, Ventura A, Ansaldi N, Giunta AM, Greco L, Lazzari R, Mastella G, Rubino A. Diagnosis of coeliac disease: time for a change? *Arch Dis Child* 1989; 64:1320-5.

(10) Ansaldi N, Tavassoli K, Fausson D, Forni M, Oderda G. Clinico-histological behavior of celiac patients after gluten load following the definitive diagnosis. *Pediatr Med Chir* 1988; 10:3-6.

(11) Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Schmerling DM, Visakorpi JK. Revised criteria or the diagnosis of coeliac disease. Report of working group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990; 65:909-11.

(12) Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg EJ, Horvath K, Murray JA, Pivor M, Seidman EG; North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40:1-19.

(13) Esteve M, Rosinach M, Fernández-Bañares F, Farré C, Salas A, Alsina M, Vilar P, Abad-Lacruz A, Forné M, Mariné M, Santaolalla R, Espinós JC, Viver JM. Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis. *Gut* 2006; 55:1739-45.

(14) Fernández-Bañares F, Esteve M, Salas A, Alsina M, Farré C, González C, Buxeda M, Forné M, Rosinach M, Espinós JC, Maria Viver J. Systematic evaluation of the causes of chronic watery diarrhea with functional characteristics. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2520-8.

(15) Kurppa K, Collin P, Viljamaa M, Haimila K, Saavalainen P, Partanen J, Laurila K, Huhtala H, Paasikivi K, Mäki M, Kaukinen K. Diagnosing mild enteropathy celiac disease: a randomized, controlled clinical study. *Gastroenterology* 2009;136:816-23.

(16) Monzón H, Forné M, González C, Esteve M, Martí JM, Rosinach M, Mariné M, Loras C, Espinós JC, Salas A, Viver JM, Fernández-Bañares F. Mild enteropathy as a cause of iron-deficiency anaemia of previously unknown origin. *Dig Liver Dis* 2011;43(6):448-53.

(17) Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *Am J Med* 2010;123:691-3.

(18) Simell S, Hoppu S, Hekkala A, Simell T, Ståhlberg MR, Viander M, Yrjänäinen H, Grönlund J, Markula P, Simell V, Knip M, Ilonen J, Hyöty H, Simell O. Fate of five celiac disease-associated antibodies during normal diet in genetically at-risk children observed from birth in a natural history study. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2026-35.

(19) Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 1984; 111:395-402.

(20) Volta U, Molinaro N, de Franceschi L, Fratangelo D, Bianchi FB. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening. Save both money and monkeys. *Dig Dis Sci* 1995; 40:1902-5.

(21) Rostom A, Dubé C, Cranney A, Salooje N, Sy R, Garrity C, et al. The diagnostic value of serologic tests for celiac disease: A systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128:S38-S46.

(22) Zintzaras E, Germenis AE. Performance of antibodies against tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease: meta-analysis. *Clin Vacc Immunol* 2006; 13:187-92.

(23) Abrams JA, Brar P, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Utility in clinical practice of immunoglobulin A anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4:726-30.

(24) Dickey W. Diagnostic immunology in celiac disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2009; 5:471-9.

(25) Dieterich W, Esslinger B, Trapp D, et al. Cross linking to tissue transglutaminase and collagen favours gliadin toxicity in coeliac disease. *Gut* 2006; 55:474-84.

(26) Lewis NR, Scott BB. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31:73-81.

(27) Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin IgA deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. *Gut* 1998; 42:362-5.

(28) Villalta D, Alessio MG, Tampoia M et al. Testing for IgG class antibodies in celiac disease patients with selective IgA deficiency. A comparison of the diagnostic accuracy of 9 IgG anti-tissue transglutaminase, 1 IgG anti-gliadin and 1 IgG anti-deamidated gliadin peptide antibody assays. *Clin Chim Acta* 2007; 382:95-9.

(29) Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005; 128: S25-S32.

(30) Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology* 2009;137:1912-33.

(31) Kagnoff MF. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest* 2007;117(1):41-9.

(32) Snyder CL, Young DO, Green PHR, Taylor AK. Celiac Disease. 2008. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editors. GeneReviews [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. Disponible a <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=celiac>

(33) Farré C, Humbert P, Vilar P, Varea V, Aldeguer X, Carnicer J, Carballo M, Gassull MA. Serological markers and HLA-DQ2 haplotype among first-degree relatives of celiac patients. Catalanian Coeliac Disease Study Group. *Dig Dis Sci* 1999; 44:2344-9.

(34) Karelk K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, Ciclitira PJ, Sollid LM, Partanen J. European Genetics Cluster on Celiac Disease. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol* 2003;64(4):469-77.

(35) Hadithi M, von Blomberg BM, Crusius JB, Bloemena E, Kostense PJ, Meijer JW, Mulder CJ, Stehouwer CD, Peña AS. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Ann Intern Med* 2007;147(5):294-302.

(36) Murray JA, Moore SB, Van Dyke CT, Lahr BD, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton LJ 3rd, Kroning CM, El-Youssef M, Czaja AJ. HLA DQ gene dosage

and risk and severity of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5(12):1406-12.

(37) Al-Toma A, Goerres MS, Meijer JW, Peña AS, Crusius JB, Mulder CJ. Human leukocyte antigen-DQ2 homozygosity and the development of refractory celiac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4(3):315-9.

(38) Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992;102(1):330-54.

(39) 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.

(40) Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *J Clin Pathol* 2005;58(6):573-4.

(41) Ensari A. Gluten-sensitive enteropathy (celiac disease): controversies in diagnosis and classification. *Arch Pathol Lab Med* 2010 Jun;134(6):826-3.

(42) Hayat M, Cairns A, Dixon MF, O'Mahony S. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: what is normal? *J Clin Pathol* 2002; 55(5):393-4.

(43) Weir DC, Glickman JN, Roiff T, Valim C, Leichtner AM. Variability of histopathological changes in childhood celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2010;105(1):207-12.

(44) Ravelli A, Villanacci V, Monfredini C, Martinazzi S, Grassi V, Manenti S. How patchy is patchy villous atrophy?: distribution pattern of histological lesions in the duodenum of children with celiac disease. *Am J Gastroenterol*

2010; 105(9):2103-10.

(45) Rashid M, MacDonald A. Importance of duodenal bulb biopsies in children for diagnosis of celiac disease in clinical practice. *BMC Gastroenterol* 2009;16;9:78.

(46) Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, Lobo AJ, McAlindon ME, Egner W, Wild G, Sanders DS What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6(3):314-20.

(47) Chang F, Mahadeva U, Deere H. Pathological and clinical significance of increased intraepithelial lymphocytes (IELs) in small bowel mucosa. *APMIS* 2005;113(6):385-99.

(48) Carmack SW, Lash RH, Gulizia JM, Genta RM. Lymphocytic disorders of the gastrointestinal tract: a review for the practicing pathologist. *Adv Anat Pathol* 2009;16(5):290-306.

(49) Koot BG, ten Kate FJ, Juffrie M, Rosalina I, Taminiou JJ, Benninga MA. Does *Giardia lamblia* cause villous atrophy in children?: A retrospective cohort study of the histological abnormalities in giardiasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49(3):304-8.

(50) Rosinach M, Temiño R, González C, Esteve M, Loras C, Mariné M, Forné M, Espinós JC, Salas A, Viver JM, Fernández-Bañares F. Enteritis linfocítica (EL): Estudio etiológico y formas de presentación clínica. *Gastroenterol Hepatol* 2010; 33:216.

(51) Davidson LSP, Fountain JR: Incidence of sprue syndrome with some observation on natural history. *BJM* 1950; 1:1157-1161.

(52) Branski D, Troncone R: Celiac disease: a reappraisal. *J Pediatr* 1998; 133:181-187.

(53) Ivarsson A, Persson LA, Juoto P, Peltonen M, Suhr O, Hernell O. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in adults: a Swedish population-based study. *J Inter Med* 1999;245:63-65.

(54) Catassi C, Ratsch IM, Fabini E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, Coppa GU, Giorgi PL. Celiac disease in the year 2000: Exploring the iceberg. *Lancet* 1994; 343:200-203.

(55) Carlsson AK, Axelsson IE, Borulf SK, Bredberg AC, Ivarsson SA Serological screening for celiac disease in healthy 2.5-year-old children in Sweden. *Pediatrics* 2001;107(1):42-5.

(56) Menardo G, Brizzolara R, Bonassi S, Marchetti A, Dante GL, Pistone C, Marengo D, Rabellino V, Buscaglia S, Scarso R, Murialdo M, Venturino E, Marino CE, Descalzi D, Minetti F, Bagnasco M, Pesce G. Population screening for coeliac disease in a low prevalence area in Italy. *Scand J Gastroenterol* 2006;41(12):1414-20.

(57) 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.

(58) Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, Ilonen J, Laurila K, Dahlbom I, Hansson T, Höpfl P, Knip M. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003;348(25):2517-24.

(59) Bdioui F, Sakly N, Hassine M, Saffar H. Prevalence of celiac disease in Tunisian blood donors. *Gastroenterol Clin Biol* 2006;30(1):33-6.

(60) Catassi C, Räscht IM, Gandolfi L, Pratesi R, Fabiani E, El Asmar R, Frijia M, Bearzi I, Vizzoni L. Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet* 1999;354(9179):647-8.

(61) Sood A, Midha V, Sood N, Avasthi G, Sehgal A. Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North India. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21(10):1622-5.

(62) Sood A, Midha V, Sood N, Malhotra V. Adult celiac disease in northern India. *Indian J Gastroenterol* 2003;22(4):124-6.

(63) Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, Pizarro B, la Motta G, de Barrio S, Castelletto R, Echeverría R, Sugai E, Vazquez H, Mauriño E, Bai JC. Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *Am J Gastroenterol* 2001;96(9):2700-4.

(64) Remes-Troche JM, Ramírez-Iglesias MT, Rubio-Tapia A, Alonso-Ramos A, Velazquez A, Uscanga LF. Celiac disease could be a frequent disease in Mexico: prevalence of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors. *J Clin Gastroenterol* 2006;40(8):697-00.

(65) Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, Elitsur Y, Green PH, Guandalini S, Hill ID, Pietzak M, Ventura A, Thorpe M, Kryszak D, Fornaroli F, Wasserman SS, Murray JA, Horvath K. 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.

(66) Oliveira RP, Sdepanian VL, Barreto JA, Cortez AJ, Carvalho FO, Bordin JO, de Camargo Soares MA, da Silva Patrício FR, Kawakami E, de Moraes MB, Fagundes-Neto U High prevalence of celiac disease in Brazilian blood donor volunteers based on screening by IgA antitissue transglutaminase antibody.

Eur J Gastroenterol Hepatol 2007;19(1):43-9.

(67) Akbari MR, Mohammadkhani A, Fakheri H, Javad Zahedi M, Shahbazkhani B, Nouraie M, Sotoudeh M, Shakeri R, Malekzadeh R. Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18(11):1181-6.

(68) Mankai A, Landolsi H, Chahed A, Gueddah L, Limem M, Ben Abdesslem M, Yacoub-Jemni S, Ghannem H, Jeddi M, Ghedira I. Celiac disease in Tunisia: serological screening in healthy blood donors. *Pathol Biol (Paris)* 2006; 54(1):10-3.

(69) Laass MW, Koch T, Lösel A, Conrad K, Henker J. Longitudinal follow-up examination of antigliadin antibody positive children and adults. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18(5):503-6.

(70) Roka V, Potamianos SP, Kapsoritakis AN et al. Prevalence of coeliac disease in the adult population of central Greece. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007;19:982-7.

(71) Cook HB, Burt MJ, Collett JA, Whitehead MR, Frampton CM, Chapman BA. Adult coeliac disease: prevalence and clinical significance. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15(9):1032-6.

(72) Szaflarska-Poplawska A, Parzecka M, Müller L, Placek W. Screening for celiac disease in Poland. *Med Sci Monit* 2009;15(3):PH7-11.

(73) Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti G, et al. Low prevalence of antigliadin and anti-endomysium antibodies in subclinical/silent celiac disease. *Am J*

Gastroenterol 2001; 96:1507-10.

(74) Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, et al. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:888-94.

(75) Abu-Zekry M, Kryszak D, Diab M, Catassi C, Fasano A. Prevalence of celiac disease in Egyptian children disputes the east-west agriculture-dependent spread of the disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;47(2):136-40.

(76) Melo SB, Fernandes MI, Peres LC, Troncon LE, Galvão LC. Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. *Dig Dis Sc.* 2006;51(5):1020-5.

(77) Shamir R, Lerner A, Shinar E, Lahat N, Sobel E, Bar-or R, Kerner H, Eliakim R. The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors. *Am J Gastroenterol* 2002;97(10):2589-94.

(78) Tommasini A, Not T, Kiren V, Baldas V, Santon D, Trevisiol C, Berti I, Neri E, Gerarduzzi T, Bruno I, Lenhardt A, Zamuner E, Spanò A, Crovella S, Martellosi S, Torre G, Sblattero D, Marzari R, Bradbury A, Tamburlini G, Ventura A. Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. *Arch Dis Child* 2004;89(6):512-5.

(79) Demirçeken FG, Kansu A, Kuloğlu Z, Girgin N, Güriz H, Ensari A. Human tissue transglutaminase antibody screening by immunochromatographic line immunoassay for early diagnosis of celiac disease in Turkish children. *Turk J Gastroenterol* 2008;19(1):14-21.

(80) Volta U, Bellentani S, Bianchi FB, Brandi G, De Franceschi L, Miglioli L, Granito A, Balli F, Tiribelli C. High prevalence of celiac disease in Italian general population. *Dig Dis Sci* 2001;46(7):1500-5.

(81) Lanzini A, Villanacci V, Apillan N, Lanzarotto F, Piralì F, Amato M, Indelicato A, Scarcella C, Donato F. 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.

(82) Pratesi R, Gandolfi L, Garcia SG, Modelli IC, Lopes de Almeida P, Bocca AL, Catassi C. Prevalence of coeliac disease: unexplained age-related variation in the same population. *Scand J Gastroenterol* 2003;38(7):747-50.

(83) Cavell B, Stenhammar L, Ascher H, Danielsson L, Dannaeus A, Lindberg T, Lindquist B. Increasing incidence of childhood coeliac disease in Sweden. Results of a national study. *Acta Paediatr* 1992;81 (8):589-92.

(84) Ascher H, Krantz I, Kristiansson B. Increasing incidence of coeliac disease in Sweden. *Arch Dis Child* 1991;66(5):608-11.

(85) Ivarsson A, Persson LA, Nyström L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, Dannaeus A, Lindberg T, Lindquist B, Stenhammar L, Hernell O. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr* 2000;89(2):165-71.

(86) Ivarsson A. The Swedish epidemic of coeliac disease explored using an epidemiological approach--some lessons to be learnt. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19(3):425-40.

(87) Clayton D, Schifflers E. Models for temporal variation in cancer rates II: age-period-cohort models. *Stat Med* 1987;6:468-81.

(88) Anderson C, French J, Sammons H, Frazer A, Gerrard J, Smellie J. Coeliac disease: gastrointestinal studies and the effect of dietary wheat flour. *Lancet* 1952; 1:836-42.

(89) Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, Haas JE, Sokol RJ, Emery L, Taki I, Norris JM, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol* 2006;101(10):2333-40.

(90) Lewy H, Meirson H, Laron Z. Seasonality of birth month of children with celiac disease differs from that in the general population and between sexes and is linked to family history and environmental factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;48(2):181-5.

(91) A Ivarsson, O Hernell, L Nystrom, and L Persson. Children born in the summer have increased risk for coeliac disease. *J Epidemiol Community Health* 2003; 57(1): 36–39.

(92) Peters U, Schneeweiss S, Trautwein EA, Erbersdobler HF. A case-control study of the effect of infant feeding on celiac disease. *Ann Nutr Metab* 2001;45(4):135-42.

(93) Fälth-Magnusson K, Franzén L, Jansson G, Laurin P, Stenhammar L. Infant feeding history shows distinct differences between Swedish celiac and reference children. *Pediatr Allergy Immunol* 1996;7(1):1-5.

(94) Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2002;75(5):914-21.

(95) Ascher H, Krantz I, Rydberg L, Nordin P, Kristiansson B. Influence of infant feeding and gluten intake on coeliac disease. *Arch Dis Child* 1997;76(2):113-7.

(96) Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child* 2006;91(1):39-43.

(97) Greco L, Auricchio S, Mayer M, Grimaldi M. Case control study on nutritional risk factors in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988;7(3):395-9.

(98) Auricchio S, Follo D, de Ritis G, Giunta A, Marzorati D, Prampolini L, Ansaldi N, Levi P, Dall'Olio D, Bossi A, et al. Does breast feeding protect against the development of clinical symptoms of celiac disease in children? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2(3):428-33.

(99) Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, Emery LM, Sokol RJ, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA* 2005;293(19):2343-51.

(100) Vader W, Stepniak D, Kooy Y, Mearin L, Thompson A, van Rood JJ, Spaenij L, Koning F. The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(21):12390-5.

(101) Oriol Casassas. *Diccionari Enciclopèdic de Medicina*. 2a edició. Barcelona. Enciclopèdia Catalana 2000.

(102) Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. *WHO Chronicle* Geneva 1968. World Health Organization; 22(11):473.

(103) Mearin ML, Ivarsson A, Dickey W. Coeliac disease: is it time for mass screening? *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19(3):441-52.

- (104) Bernstein CN, Leslie WD, Leboff M. AGA technical review on osteoporosis in gastrointestinal diseases. *Gastroenterology* 2003; 124: 795-841.
- (105) Corazza GR, Di Sario A, Cecchetti L, Tarozzi C, Corrao G, Bernardi M, Gasbarrini G. Bone mass and metabolism in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1995;109(1):122-8.
- (106) Collin P, Kaukinen K, Välimäki M, Salmi J. Endocrinological disorders and celiac disease. *Endocr Rev* 2002;23(4):464-83.
- (107) Mustalahti K, Collin P, Sievänen H, Salmi J, Mäki M. Osteopenia in patients with clinically silent coeliac disease warrants screening. *Lancet* 1999;354(9180):744-5.
- (108) Valdimarsson T, Löfman O, Toss G, Ström M. Reversal of osteopenia with diet in adult coeliac disease. *Gut* 1996;38(3):322-7.
- (109) Thomason K, West J, Logan RF, Coupland C, Holmes GK. Fracture experience of patients with coeliac disease: a population based survey. *Gut* 2003;52(4):518-22.
- (110) West J, Logan RF, Card TR, Smith C, Hubbard R. Fracture risk in people with celiac disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2003;125(2):429-36.
- (111) Ventura A, Magazzù G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. *Gastroenterology* 1999;117(2):297-303.

(112) Sategna Guidetti C, Solerio E, Scaglione N, Aimò G, Mengozzi G. Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. *Gut* 2001;49(4):502-5.

(113) Ventura A, Magazù G, Gerarduzzi T, Greco L. Coeliac disease and the risk of autoimmune disorders. *Gut* 2002;51(6):897; author reply 897-8.

(114) Gough KR, Read AE, Naish JM. Intestinal reticulosis as a complication of idiopathic steatorrhoea. *Gut* 1962;3:232-9.

(115) West J, Logan RF, Smith CJ, Hubbard RB, Card TR. Malignancy and mortality in people with coeliac disease: population based cohort study. *BMJ* 2004; 329(7468):716-9.

(116) Askling J, Linet M, Gridley G, Halstensen TS, Ekström K, Ekbom A. Cancer incidence in a population-based cohort of individuals hospitalized with celiac disease or dermatitis herpetiformis. *Gastroenterology* 2002;123(5):1428-35.

(117) Smedby KE, Akerman M, Hildebrand H, Glimelius B, Ekbom A, Askling J. Malignant lymphomas in coeliac disease: evidence of increased risks for lymphoma types other than enteropathy-type T cell lymphoma. *Gut* 2005;54(1):54-9.

(118) Farré C, Domingo-Domenech E, Font R, Marques T, Fernandez de Sevilla A, Alvaro T, Villanueva MG, Romagosa V, de Sanjose S. Celiac disease and lymphoma risk: a multicentric case-control study in Spain. *Dig Dis Sci* 2004;49(3):408-12.

(119) Mearin ML, Catassi C, Brousse N, Brand R, Collin P, Fabiani E, Schweizer JJ, Abuzakouk M, Szajewska H, Hallert C, Farré Masip C, Holmes GK; Biomed Study Group on Coeliac Disease and Non-Hodgkin Lymphoma. European

multi-centre study on coeliac disease and non-Hodgkin lymphoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18(2):187-94.

(120) Catassi C, Bearzi I, Holmes GK. Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology* 2005;128(4 Suppl 1):S79-86.

(121) 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.

(122) Fabiani E, Taccari LM, Rättsch IM, Di Giuseppe S, Coppa GV, Catassi C. Compliance with gluten-free diet in adolescents with screening-detected celiac disease: a 5-year follow-up study. *J Pediatr* 2000;136(6):841-3.

(123) Shamir R, Yehezkely-Schildkraut V, Hartman C, Eliakim R. Population screening for celiac disease: follow up of patients identified by positive serology. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22(4):532-5.

(124) Chiuve SE, McCullough ML, Sacks FM, Rimm EB. Healthy lifestyle factors in the primary prevention of coronary heart disease among men: benefits among users and nonusers of lipid-lowering and antihypertensive medications. *Circulation* 2006;114(2):160-7.

(125) Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LLE, Saavalainen P, Koskinen O, Mäki M, Kaukinen K. Celiac disease without villous atrophy in children: A prospective study. *J Pediatr* 2010; 157:373-80.

(126) Shamir R, Hernell O, Leshno M. Cost-effectiveness analysis of screening for celiac disease in the adult population. *Med Decis Making*. 2006;26(3):282-93.

(127) Cottone M, Termini A, Oliva L, Magliocco A, Marrone C, Orlando A, Pinzone F, Di Mitri R, Rosselli M, Rizzo A, Pagliaro L. Mortality and causes of death in celiac disease in a Mediterranean area. *Dig Dis Sci* 1999;44(12):2538-41.

(128) Pittschieler K, Gentili L, Niederhofer H. Onset of coeliac disease: a prospective longitudinal study. *Acta Paediatr* 2003; 92:1149-52.

(129) Shmerling DH, Franckx J. Childhood celiac disease: a long-term analysis of relapses in 91 patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986;5:565-9.

(130) Matysiak-Budnik T, Malamut G, de Serre NP, et al. Long-term follow-up of 61 coeliac patients diagnosed in childhood: evolution toward latency is possible on a normal diet. *Gut* 2007;56:1379-86.

(131) Silano M, Agostoni C, Guandalini S. Effect of the timing of gluten introduction on the development of celiac disease. *World J Gastroenterol* 2010;16(16):1939-42.

(132) Jaeschke R, Singer J, Guyatt GH. A comparison of seven-point and visual analogue scales. Data from a randomized trial. *Control Clin Trials* 1990;11(1):43-51.

(133) Castaño L, Blarduni E, Ortiz L, Núñez J, Bilbao JR, Rica I, Martul P, Vitoria JC. Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;39(1):80-4.

(134) Cilleruelo Pascual ML, Román Riechmann E, Jiménez Jiménez J, Rivero Martín MJ, Barrio Torres J, Castaño Pascual A, Campelo Moreno O, Fernández Rincón A. Silent celiac disease: exploring the iceberg in the school-aged population. *An Esp Pediatr* 2002;57(4):321-6.

(135) Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 1984;111(4):395-402.

(136) Wong RC, Wilson RJ, Steele RH, Radford-Smith G, Adelstein S. A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits. *J Clin Pathol*. 2002;55(7):488-94.

(137) Olerup O, Aldener A, Fogdell A. HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens* 1993;41(3):119-34.

(138) Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994;843:1-129.

(139) Rostami K, Kerckhaert JP, Tiemessen R, Meijer JW, Mulder CJ. The relationship between anti-endomysium antibodies and villous atrophy in coeliac disease using both monkey and human substrate. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11(4):439-42.

(140) Schatzkin A, Connor RJ, Taylor PR, Bunnag B. Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screenees. Example of automated cytometry for early detection of cervical cancer. *Am J Epidemiol* 1987;125(4):672-8.

(141) Freeman GH, Halton JH. Note on an exact treatment of contingency, goodness of fit and other problems of significance. *Biometrika* 1951;38(1-2):141-9.

- (142) Rothman K. *Epidemiology: An introduction*, 1st edn. New York: Oxford University Press, 2002.
- (143) McCullagh P, Nelder JA 1989. *Generalized Linear Models*, 2nd edn. London: Chapman and Hall.
- (144) Skov T, Deddens J, Petersen MR, Endahl L Prevalence proportion ratios: estimation and hypothesis testing. *Int J Epidemiol* 1998;27(1):91-5.
- (145) Blizzard L, Hosmer DW. Parameter estimation and goodness-of-fit in log binomial regression. *Biom J* 2006;48(1):5-22.
- (146) Estève J, Benhamou E, Raymond L. *Statistical methods in cancer research. Volume IV. Descriptive epidemiology*. Lyon: *IARC Sci Publ* 1994;(128):1-302.
- (147) Lehmann EL, Romano JP. *Testing statistical hypotheses*, 3rd edn. New York: Springer, 2005; 110-49.
- (148) R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Available at: <http://www.R-project.org>. Accessed July 1, 2011.
- (149) Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24(1):47-54.
- (150) Feighery C, Conlon N, Jackson J. Adult population screening for coeliac disease: comparison of tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18(11):1173-5.

(151) Brown I, Mino-Kenudson M, Deshpande V, Lauwers GY. Intraepithelial lymphocytosis in architecturally preserved proximal small intestinal mucosa: an increasing diagnostic problem with a wide differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130(7):1020-5.

(152) Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, Brusco G, Ciacci C, Cottone M, Sategna Guidetti C, Usai P, Cesari P, Pelli MA, Loperfido S, Volta U, Calabró A, Certo M; Club del Tenue Study Group. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet* 2001;358(9279):356-61.

(153) Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, Brantner TL, Kim WR, Phelps TK, Lahr BD, Zinsmeister AR, Melton LJ 3rd, Murray JA. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2009;137(1):88-9.

(154) Generalitat de Catalunya 2006. Servei d'Informació i estudis, Anàlisi de la mortalitat a Catalunya. Departament de Salut, Govern de Catalunya, 2008.

(155) 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;9:49.

(156) Tosco A, Salvati VM, Auricchio R, Maglio M, Borrelli M, Coruzzo A, Paparo F, Boffardi M, Esposito A, D'Adamo G, Malamisura B, Greco L, Troncone R. Natural history of potential celiac disease in children. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9(4):320-5.

**ARTICLES RELACIONATS AMB LA TESI
DOCTORAL**