

# **UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

---

## **FACULTAD DE MEDICINA**

**Programa de Doctorado en Biología Molecular, Biomedicina e  
Investigación Clínica**



**CONTROL DE LA ADHERENCIA A LA DIETA SIN GLUTEN MEDIANTE LA  
DETECCIÓN DE PÉPTIDOS INMUNOGÉNICOS DE GLUTEN (GIP) EN  
ORINA: CONCORDANCIA CON EL DAÑO HISTOLÓGICO EN MUCOSA  
DUODENAL DE PACIENTES CON ENFERMEDAD CELIACA**

### **TESIS DOCTORAL**

**Autora:**

**Marta Garzón Benavides**

**Dirección:**

**Carolina Sousa Martín**

**Ángeles Eloisa Pizarro Moreno**

**Tutoría:**

**Juan Polo Padillo**

**Sevilla, 2021**

<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>4</b>
<b>INDICE DE TABLAS .....</b>	<b>9</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>10</b>
<b>1. INTRODUCCION.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. Patología de la enfermedad celíaca .....</b>	<b>15</b>
1.1.1. El gluten .....	15
1.1.2. Mecanismos patogénicos de la enfermedad celíaca.....	16
1.1.3. Factores genéticos .....	22
1.1.4. Factores ambientales .....	25
<b>1.2. Manifestaciones clínicas de la enfermedad celíaca.....</b>	<b>27</b>
<b>1.3. Diagnóstico de la enfermedad celíaca.....</b>	<b>29</b>
<b>1.4. Tratamiento actual de la enfermedad celíaca.....</b>	<b>36</b>
<b>1.5. Seguimiento de la adherencia a la dieta sin gluten en los paciente celíacos .....</b>	<b>38</b>
<b>2. ANTECEDENTES DEL TEMA Y OBJETIVOS .....</b>	<b>48</b>
2.1. Antecedentes del tema .....	48
2.2. Objetivos .....	50
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>53</b>
3.1. Tipo de diseño .....	53
3.2. Pacientes.....	53
3.3. Metodología de recogida de datos.....	55
3.4. Metodología de Laboratorio.....	57
Análisis de orina.....	57
Extracción sanguínea.....	59
Evaluación de la mucosa duodenal.....	59
Cuestionario de adherencia a la DSG (CDAT) .....	59
3.5. ANALISIS DE DATOS .....	60
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>62</b>
<b>4.1 Análisis Descriptivo .....</b>	<b>62</b>
Figura 6. Diagrama de flujo de pacientes del estudio clínico prospectivo.....	62
4.1.1. Análisis descriptivo al diagnóstico.....	63
4.1.2. Seguimiento en la cohorte de pacientes con diagnóstico previo de celiaquía a dieta sin gluten al menos 24 meses.....	66
4.1.3. Seguimiento de la cohorte de pacientes con diagnóstico de <i>novo</i> de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión.....	74
<b>4.2. Concordancia entre el grado de lesión histológica y la presencia de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celíaca en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo .....</b>	<b>82</b>
4.2.1. Concordancia entre el grado de lesión histológica y detección de GIP en la orina en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo.....	82
4.2.2. Concordancia entre el grado de lesión histológica y la presencia de anticuerpos de enfermedad celíaca en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo .....	86
<b>4.5 Análisis de la utilidad de la determinación de GIP en orina frente a la determinación de anticuerpos de enfermedad celíaca y cuestionario de adherencia en el seguimiento de los pacientes celíacos.....</b>	<b>99</b>
4.5.1 Análisis de utilidad de la determinación de GIP en orina frente a determinación de anticuerpos de enfermedad celíaca en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo.....	99

4.5.2 Análisis de utilidad clínica de la determinación de GIP en orina frente a los cuestionarios de adherencia a la dieta sin gluten en el total de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo.....	103
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>108</b>
5.1. Evolución clínica en el seguimiento de la cohorte de pacientes con diagnóstico previo de celiaquía y al menos 24 meses a dieta sin gluten. ...	111
5.2. Evolución clínica en el seguimiento de la cohorte de celíacos de <i>novo</i> .....	114
5.3. Evolución clínica en el seguimiento en las dos cohortes de pacientes incluidas en el estudio clínico prospectivo .....	116
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>120</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>123</b>

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Transporte de la gliadina a través de la capa epitelial. 1) Ruta paracelular. 2) Ruta transcelular. 3) Retrotranscitosi. 4) Paso directo por células dendríticas. Ref. <sup>25</sup> .....	18
Figura 2. Respuesta inmunológica de los péptidos del gluten. CEI: células epiteliales intestinales; TJ. Tight-Junctions; TG2: Transglutaminasa tisular 2, CD: célula dendrítica; LIEs: linfocitos intraepiteliales; LP: lámina propia; TCR: receptor de células T, INF-gamma: interferón gamma; TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa; IL: interleuquina; MICA: secuencia A relacionada con polipéptidos MHC clase I; NKG2D: factor activador de 2D de células natural killer. Ref. <sup>25</sup> .....	21
Figura 3. Asociación de la EC con el locus HLA. Ref. <sup>25</sup> .....	23
Figura 4. Superposición de los factores de riesgo genéticos identificados en la enfermedad celiaca, enfermedades autoinmunes y otros trastornos inflamatorios. Ref. <sup>31</sup> .....	24
Figura 5. Representación del kit iVYCHECK GIP Urine (Imagen obtenida de Biomedal S.L.) .....	58
Figura 6. Diagrama de flujo de pacientes del estudio clínico prospectivo.....	62
Figura 7. Evolución clínica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos asintomáticos o sintomáticos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. ....	66
Figura 8. Evolución serológica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca.....	67
Figura 9. Evolución de la adherencia a la dieta sin gluten según cuestionario CDAT en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con una adherencia buena, intermedia o mala en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses.....	68
Figura 10. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones (GIP- ) o detección de GIP en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses (GIP +). GIP: Péptido inmunogénico del gluten.....	69
Figura 11. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos acorde a la ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones o la	

cuantificación de GIP según la detección se encontrara por debajo del limite de cuantificación de la técnica (LQT< 6,25 ng/ml) (GIP visual ) o por encima de este valor (GIP cuantificable) en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. ....	70
Figura 12. Evolución del grado de lesión histológica según la clasificación de MARSH en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de lesión histológica significativa (MARSH 0-I) y presencia de lesión histológica avanzada (MARSH II-III). ....	71
Figura 13. Evolución de los distintos parámetros de control de la adherencia a la dieta sin gluten y la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con persistencia de síntomas, presencia de anticuerpos de EC (serología +), detección de GIP en orina , mala adherencia por cuestionario CDAT y lesión histológica avanzada (MARSH II-III) en el momento de la inclusión y a la revisión a 3, 6 y 12 meses. ....	73
Figura 14. Evolución clínica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de <i>novo</i> de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos asintomáticos o sintomáticos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. ....	74
Figura 15. Evolución serológica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de <i>novo</i> de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celíaca. ....	75
Figura 16. Evolución de la adherencia a la dieta sin gluten según cuestionario CDAT en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de <i>novo</i> de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con una adherencia buena, intermedia o mala en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. ....	76
Figura 17. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de <i>novo</i> de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones (GIP- ) o detección de GIP en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses (GIP +). GIP: Péptido inmunogénico del gluten. ....	77
Figura 18. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de <i>novo</i> de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos acorde a la ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones (GIP negativo) o la cuantificación de GIP según la detección se encontrara por debajo del limite de cuantificación de la técnica (LQT< 6,25 ng/ml) (GIP visual ) o por encima de este valor (GIP cuantificable) en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. ....	78

- Figura 19. Evolución del grado de lesión histológica según la clasificación de MARSH en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de lesión histológica significativa (MARSH 0-I) y presencia de lesión histológica avanzada (MARSH II-III). ..... 79
- Figura 20. Evolución de los distintos parámetros de control de la adherencia a la dieta sin gluten y la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con persistencia de síntomas, presencia de anticuerpos de EC (serología +), detección de GIP en orina , mala adherencia por cuestionario CDAT y lesión histológica avanzada (MARSH II-III) en el momento de la inclusión y a la revisión a 3, 6 y 12 meses. 81
- Figura 21. Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses. .... 83
- Figura 22. Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses. .... 83
- Figura 23 Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses. .... 84
- Figura 24. Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión y presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses. .... 85
- Figura 25. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celíaca en pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celíaca.. 86

- Figura 26. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celiaca en pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca.. 87
- Figura 27. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celiaca en pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía, inicio de dieta sin gluten a la inclusión y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca..... 88
- Figura 28. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celiaca en pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía, inicio de dieta sin gluten a la inclusión con presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca.. 88
- Figura 29. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en el global de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo. .... 94
- Figura 30. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en las visitas de inclusión, 6 y 12 meses y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en el global de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo. .... 95
- Figura 31. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en la cohorte de pacientes con diagnóstico previo de celiaquía y a DSG al menos 24 meses..... 96
- Figura 32. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en la cohorte de pacientes celíacos de *novo* e inicio de DSG a la inclusión. .... 97
- Figura 33. Correlación entre el porcentaje de determinaciones negativas de GIP en orina de las orinas recogidas en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento en el global de pacientes en el estudio clínico prospectivo..... 98
- Figura 34. Porcentaje de determinaciones de GIP positivos en orina frente a anticuerpos negativos de EC en las distintas revisiones en el total de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo. Representación del porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celiaca negativos en el total de pacientes y según el grado de lesión histológica a la inclusión, 3, 6 y 12 meses. ....100
- Figura 35. Porcentaje de determinaciones de GIP positivos en orina frente a anticuerpos negativos de EC en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del

porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celiaca negativos en el total de pacientes y según el grado de lesión histológica a la inclusión , 3, 6 y 12 meses. ....	101
Figura 36. Porcentaje de determinaciones de GIP positivos en orina frente a anticuerpos negativos de EC en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos de <i>novo</i> e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celiaca negativos en el total de pacientes y según el grado de lesión histológica a la inclusión , 3, 6 y 12 meses. ....	102
Figura 37. Porcentaje de determinaciones de GIP positivas frente a buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en las distintas revisiones en el total de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo. Representación del porcentaje de pacientes con detecciones de GIP en orina y buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en el global de pacientes incluidos y según grado de lesión histológica a la inclusión, 3 , 6 y 12 meses. ....	104
Figura 38. Porcentaje de determinaciones de GIP positivas frente a buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes con detecciones de GIP en orina y buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en el global de pacientes y según grado de lesión histológica a la inclusión, 3 , 6 y 12 meses. ....	105
Figura 39. Porcentaje de determinaciones de GIP positivas frente a buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos de <i>novo</i> e inicio de dieta sin gluten a la inclusión.. Representación del porcentaje de pacientes con detecciones de GIP en orina y buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en el global de pacientes y según grado de lesión histológica a la inclusión, 3 , 6 y 12 meses. ....	106



# INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación histológica de la Enfermedad celíaca. Adaptado de Felipe Moscoso J et al . Ref. <sup>40</sup> .....	30
Tabla 2. Diagnóstico diferencial de la enfermedad celiaca con y sin atrofia vellositaria . Adaptado de Al-Toma A et al. Ref. <sup>1</sup> .....	31
Tabla 3. Características demográficas, clínicas, analíticas e histológicas al diagnostico de la enfermedad celíaca en la población de estudio y según cohorte: celíacos a dieta sin gluten al menos 24 meses y celíacos de <i>novo</i> que inician DSG a la inclusión_.....	65
Tabla 4. Resultados de situación clínica, serología de enfermedad celiaca, determinación de GIP en orina, cuestionario de adherencia a la dieta sin gluten (CDAT) y lesión histológica en las distintas revisiones del estudio (basal a la inclusión, revisión a 3, 6 y 12 meses) en la cohorte de pacientes con diagnostico previo de enfermedad celiaca a DSG al menos durante 24 meses. ....	72
Tabla 5. Resultados de situación clínica, serología de enfermedad celiaca, determinación de GIP en orina, cuestionario de adherencia a la dieta sin gluten (CDAT) y lesión histológica en las distintas revisiones del estudio (basal a la inclusión, revisión a los 3, 6 y 12 meses) en la cohorte de pacientes con diagnostico de novo e inicio de DSG a la inclusión. ....	80
Tabla 6. Resultados del análisis de las determinaciones de GIP positivos y serología de enfermedad celiaca positiva según grado de lesión histológica en cada cohorte. ....	89
Tabla 7. Correlación de la persistencia de síntomas con el grado de lesión histológica a los 12 meses de la inclusión en el global de la población a estudio. ....	90
Tabla 8. Correlación de la adherencia a la dieta por cuestionario y el grado de lesión histológica en el global de la población a estudio. ....	91
Tabla 9. Correlación de la presencia de anticuerpos elevados de enfermedad celiaca y el grado de lesión histológica en el global de la población a estudio.....	92

## ABREVIATURAS

EC.	Enfermedad celíaca.
IL	Interleuquina
INF- $\gamma$	Interferón gamma
TNF	Factor de necrosis tumoral
Ig	Inmunoglobulina
TG2.	Transglutaminasa tisular
LT.	Linfocitos T
LIEs.	Linfocitos intraepiteliales
GWAS	Genoma wide association
IHQ.	Inmunohistoquímica
AGA.	Anticuerpos antigliadina
ATG.	Anticuerpos antitransglutaminasa
EMA	Anticuerpos antiendomiso
DGP.	Anticuerpos frente a péptidos de la gliadina deaminada
HLA .	Antígeno leucocitario humano
ESPGHAN	European Society for the Study of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition
DSG.	Dieta sin gluten
ECR.	Enfermedad celíaca refractaria
33-mer	Péptido de 33 aminoácidos
moAb A1 y G12.	Anticuerpos monoclonales A1 y G12
GIP.	Péptido inmunogénico del gluten.

CDAT.	Celiac Dietary adherence Test
ppm	partes por millón
ng	nanogramos
ml	mililitros
mg	miligramos
LFIA .	Lateral flow immunoassay,
ELISA .	Enzimoinmunoanálisis de absorción.
VPP	Valor predictivo positivo
VPN	Valor predictivo negativo
GSRS	Gastrointestinal Sympton Rating Scale
LQT	Límite de cuantificación de la técnica
LDT	Límite de detección de la técnica
PoCT	Point of care test
M	Media
DE	Desviación estándar
IC	Intervalo de confianza
RP	Razón de probabilidad

# **INTRODUCCIÓN**

## 1. INTRODUCCION

La enfermedad celíaca (EC) es un proceso autoinmune, sistémico y crónico que produce una enteropatía del intestino delgado <sup>1</sup>. Se desarrolla por una respuesta inmunológica inadecuada frente al gluten en pacientes predispuestos genéticamente <sup>1 2</sup>. Es por tanto el resultado de la interacción del gluten con factores inmunológicos, genéticos y ambientales <sup>3</sup>.

La enfermedad celíaca es una entidad frecuente a nivel mundial, con una seroprevalencia global del 1,4% en revisiones sistemáticas, <sup>4</sup> si bien este valor puede estar sobreestimado dada la baja especificidad de la serología de la enfermedad celiaca. Por otro lado se recoge una prevalencia basada en el diagnóstico histológico del 0,7%, valor que puede estar infraestimado dado que no todos los individuos se someten a endoscopia tras un diagnóstico serológico <sup>4</sup>. Estos estudios epidemiológicos están limitados por un porcentaje no desdeñable de pacientes no diagnosticados, al permanecer asintomáticos o con síntomas atribuidos a trastornos funcionales y no sometidos a despistaje de enfermedad celiaca <sup>5</sup>. Algunos trabajos recogen que por cada paciente diagnosticado puede haber entre 7-11 casos no diagnosticados <sup>6</sup>. Si bien, actualmente hay un aumento considerable de pacientes diagnosticados debido a una mayor sospecha <sup>7</sup>, disminuyendo el porcentaje de pacientes no diagnosticados de un 95% en 2001 a un 83% en el periodo de 2009 a 2019 según los datos del NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) <sup>5</sup>, lo que produce un aumento en la incidencia de la enfermedad celiaca y por tanto en la prevalencia real, con datos que reflejan una prevalencia de al menos un 1% de individuos con enfermedad celiaca <sup>5</sup>.

Inicialmente se consideró una enfermedad exclusiva de la población blanca, si bien actualmente es conocido que se trata de una enfermedad global, debido a la inclusión del trigo en la dieta de los distintos grupos étnicos. La prevalencia es mayor en mujeres que en hombres (1,5-2:1). Por otro lado, existen individuos con mayor riesgo de desarrollarla, destacando aquellos con enfermedades autoinmunes o historia familiar de enfermedad celiaca, donde se ha observado que los individuos con un familiar de primer grado tienen 5-11% más probabilidad de presentar la enfermedad <sup>8</sup>.

## 1.1. Patología de la enfermedad celíaca

### 1.1.1. El gluten

El gluten es un conjunto de proteínas de almacenamiento que se encuentra en el endosperma de la semilla del cereal, siendo la mayor reserva de proteínas insolubles en agua de los cereales como el trigo, la cebada, el centeno y la avena <sup>2</sup>. Se obtiene al lavar los cereales para eliminar el almidón, la albúmina y otras proteínas solubles en agua <sup>1</sup>. Se utiliza ampliamente en el procesamiento de alimentos para dar masa y mejorar la textura de los mismos <sup>1</sup>. Este compuesto por dos tipos de proteínas, una soluble en etanol, denominada prolamina, más concretamente, gliadina, hordeína, secalina o avenina en función del cereal al que nos refiramos (trigo, cebada, centeno y avena, respectivamente) y otra insoluble que se denomina glutenina <sup>9</sup>. Las prolaminas están formadas por proteínas monoméricas que se clasifican en  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas en el caso del trigo, mientras que las gluteninas forman polímeros unidos por puentes disulfuros intercatenarios <sup>10</sup>. Como consecuencia de su estructura, es difícil extraer las gluteninas de los productos amasados, cuando se usa etanol acuoso (solvente más comúnmente usado) y menos aun si el procedimiento es térmico <sup>11</sup>.

En relación a las prolaminas, tienen alto contenido en residuos de prolina (15%) y glutamina (35%) <sup>12</sup>. Este alto contenido en prolinas, impide una proteólisis completa por las enzimas gástricas, pancreáticas e intestinales, formándose largos oligopéptidos inmunoreactivos en el intestino delgado <sup>5</sup>. Se han descrito dos tipos de péptidos del gluten: los inmunogénicos con capacidad para estimular a los linfocitos T CD4+ del intestino o de la sangre periférica en el contexto de moléculas presentadoras

de antígeno HLA DQ2/DQ8, como los residuos 57-89 de la  $\alpha$ -gliadina<sup>13 14</sup> y los péptidos tóxicos (residuos 31-43 y 31-49) que actúan directamente sobre el epitelio, independientemente de los linfocitos T CD4+<sup>15 16 17</sup>.

En general la reactividad es mayor hacia los péptidos generados de la alfa gliadina y gamma gliadina tras desaminación por la transglutaminasa tisular (TG2) y hacia péptidos derivados de la glutenina, independientemente de la desaminación por TG2<sup>18 19</sup>.

### **1.1.2. Mecanismos patogénicos de la enfermedad celiaca**

En el mecanismo patogénico de la enfermedad celiaca, el primer evento es la generación de péptidos inmunogénicos del gluten en la luz intestinal, habiendo perdido el intestino del paciente celiaco la tolerancia inmunológica hacia estos péptidos, para lo cual debe tener susceptibilidad genética, que viene determinada por genes HLA y no HLA<sup>20</sup>.

Se involucran dos clases de péptidos tóxicos: a) los que inducen un cambio muy rápido en la mucosa, por fenómenos de inflamación, infiltración epitelial por linfocitos y cambios en la arquitectura epitelial; cambios que ocurren en el compartimento epitelial por mecanismos de inmunidad innata, destacando el estrés epitelial por efecto directo del gluten sobre las células epiteliales, las acciones derivadas de la interleuquina 15 (IL-15) y la activación de la citotoxicidad de los linfocitos intraepiteliales<sup>21 4</sup> y b) los que generan la respuesta adaptativa (inmunidad adaptativa) que ocurre en la lámina propia. Estos mecanismos son dependientes de la TG2 tisular, de la generación de linfocitos T CD4+ activados específicos del gluten y linfocitos B con producción de anticuerpos anti-TG2 y antigliadina<sup>22 4</sup>.



De esta forma, el modelo más aceptado para explicar la inmunopatogenia de la enfermedad celiaca establece que el gluten tiene efecto dual mediado por la inmunidad innata (efecto tóxico directo del gluten sobre el epitelio intestinal) y la inmunidad específica adaptativa, a través de la activación de linfocitos T CD4+ de la lámina propia <sup>23</sup>.

#### **1.1.2.1. Inmunidad Adaptativa**

Los péptidos del gluten ingerido, se acumulan en la luz intestinal, resisten a la digestión por las enzimas gástricas y pancreáticas y pasan la barrera intestinal por alguno de las cuatro rutas: a) vía paracelular; el gluten es reconocido en la membrana apical del enterocito a través del receptor de quimioquinas CXCR3, lo que favorece la secreción paracrina de zonulina y la activación de la cascada intracelular con reorganización del citoesqueleto y desacoplamiento de las uniones intercelulares (Tight-junctions), esto favorece el transporte paracelular del gluten por aumento de la permeabilidad intestinal. El INF- gamma también interviene, debilitando las uniones intercelulares y aumentando la llegada de péptidos inmunogénicos del gluten a la submucosa. b) vía transcelular; esta vía implica un mecanismo de endocitosis por los enterocitos, formación de endosomas y degradación por lisosomas, si bien este mecanismo también parece estar alterado en los pacientes celíacos, ya que, no hay participación de los lisosomas permitiendo la llegada de los péptidos intactos a la lamina propia. c) Retrotranscitosis, mecanismo que depende del receptor de la transferrina CD71, sobreexpresado en la superficie apical del enterocito en la EC activa. Este receptor se une a la Inmunoglobulina A (IgA) secretada y media el transporte de complejos IgA-gliadina hacia la lamina propia. d) Acceso directo mediante

extensiones de las células dendríticas a través de las uniones intercelulares.

<sup>24</sup> <sup>25</sup>. (Figura 1).

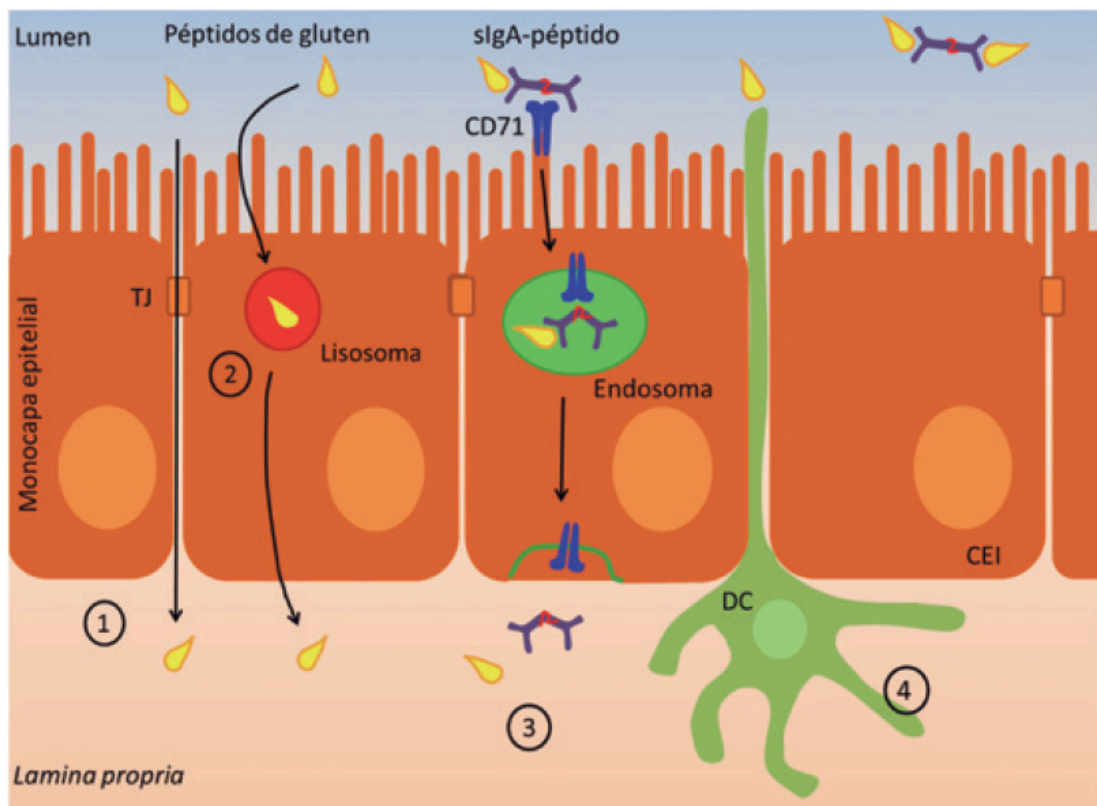


Figura 1. Transporte de la gliadina a través de la capa epitelial. 1) Ruta paracelular. 2) Ruta transcelular. 3) Retrotranscitosis. 4) Paso directo por células dendríticas. Ref <sup>25</sup>

Una vez en la lámina propia, los péptidos son deaminados por la enzima transglutaminasa tisular (TG2) <sup>26</sup>. La TG2 tiene como principal sustrato la gliadina que tiene aminoácidos con carga positiva. La TG2 cambia los residuos de glutamina por ácido glutámico con carga negativa que interaccionan de forma eficiente con los aminoácidos de anclaje en la molécula HLA DQ2/DQ8 y aumenta su capacidad de estimular a los linfocitos T CD4+ . La deaminación favorece la unión entre los péptidos y las moléculas HLA DQ2/DQ8, expresadas en las células dendríticas. Estas células presentan los antígenos específicos del gluten a las células T CD4+ <sup>15</sup> <sup>16</sup> y en consecuencia se inicia una respuesta proinflamatoria, caracterizada por la

secreción de citoquinas Th1 con predominio de IFN-  $\gamma$ , así como TNF- $\alpha$ , IL-18 e IL-21 , junto a disminución de citoquinas reguladoras IL-10, y TGF- $\beta$  <sup>27</sup>. Así el epitelio y lámina propia de un intestino sano expresan TGF-beta, pero en la EC sus niveles están disminuidos en el epitelio y en las criptas, y aumentan en la lamina propia alrededor de los macrófagos donde no hay destrucción tisular <sup>28</sup>.

### ***1.1.2.2. Inmunidad Innata***

La respuesta inmune innata se pone en marcha por el efecto tóxico directo de los péptidos tóxicos de la gliadina (como el péptido 31-34) sobre el enterocito a nivel del compartimento epitelial <sup>20 29</sup>. El mecanismo fundamental es la activación de sistema inmune local, estimulando la producción de IL-15 por las células de la lámina propia y por las células endoteliales. Esta IL-15 a su vez desencadena una cascada de eventos: a) aumenta la supervivencia, activación y proliferación de los linfocitos intraepiteliales, (LIEs) produciéndose una expansión clonal de los LIEs TCR gamma-delta y de células T con receptores NKG2D cuyos ligandos son moléculas MICA expresadas por el enterocito. Aumenta la expresión de los receptores NKG2D y la unión de estos a las moléculas MICA expresadas en el enterocito ante señales de estrés, activa la cascada de señalización que desencadena la citotoxicidad sobre los enterocitos. b) La IL 15 contribuye al debilitamiento de las uniones intercelulares y por tanto al aumento de la permeabilidad intestinal <sup>30</sup>.

Otras consecuencias de la inmunidad innata son: a) alteración de la proliferación de los enterocitos por inhibición de la vía endocítica que regula el factor de crecimiento endotelial (EGF), b) Inducción de la expresión de

moléculas de estrés inducibles (MHC clase I, MIC) al desencadenar estrés oxidativo por la formación de óxido nítrico sintasa, c) Acumulación en los lisosomas e inducción de la activación de TG2 a nivel subepitelial y degradación del receptor PPAR-gamma del enterocito, molécula que modula la inflamación intestinal d) Activación del receptor 3 de las quimiocinas (CXCR3) con el consiguiente aumento de zonulina que desencadena una cascada de señalización intracelular que desacopla las uniones intercelulares produciendo aumento de la permeabilidad intestinal <sup>24 27</sup>.

### ***1.1.2.3 Interacción entre la respuesta inmune innata y la adaptativa***

Existe una relación entre los dos tipos de autoinmunidad, de forma que ambas se retroalimentan, manteniendo la situación de estrés en el intestino delgado (Figura 2). Así la célula presentadora de antígeno (CPA) produce interleucinas (IL-15 e IL-18) que promueven la diferenciación Th1 y la proliferación de linfocitos T (LT) CD4+. La IL-15, producida por la célula dendrítica dependiente de LT específico de gluten estimula la respuesta inmune innata mediante la activación de LIEs e inhibe la acción antiinflamatoria de los LT-reguladores, promoviendo aún más la proliferación de LT CD4 específicos del gluten. Por su parte los LT CD4 específicos del gluten tras el reconocimiento antigénico producen INF gamma, TNFalfa, IL-2 e IL-21 que pueden atravesar la membrana basal y unirse a receptores de células epiteliales y LIEs estimulando la citotoxicidad de los mismos y la producción de IL-15. Por otro lado el INF gamma induce la expresión en el enterocito de moléculas HLA, las cuales interactúan con el NKG2D e inician la citotoxicidad de los LIEs. A nivel epitelial la IL -15 y la IL-17 promueven la activación de los LIEs que finalmente destruyen el epitelio. Las

células dendríticas conectan la respuesta inmune innata con la respuesta inmune adaptativa ya que tienen la capacidad de producir IL que actúan en el compartimento epitelial, y al mismo tiempo responde a IL producidas en este compartimento.

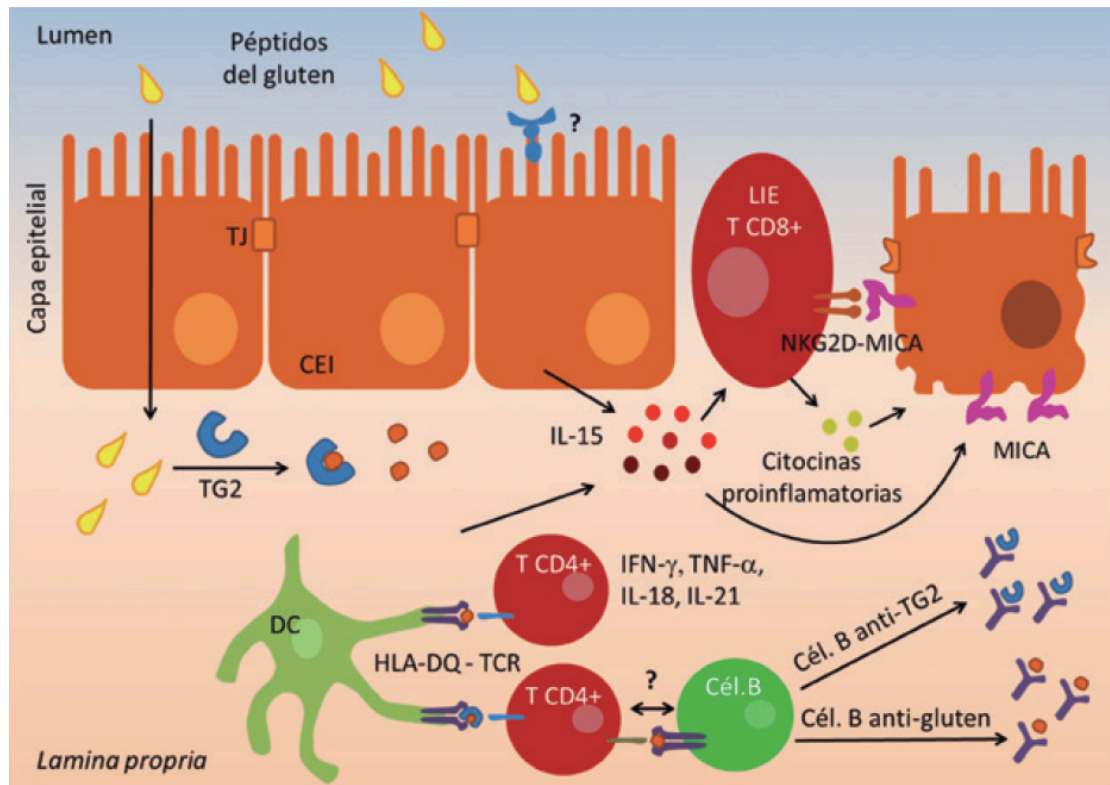


Figura 2. Respuesta inmunológica de los péptidos del gluten. CEI: células epiteliales intestinales; TJ: Tight-Junctions; TG2: Transglutaminasa tisular 2, CD: célula dendrítica; LIEs: linfocitos intraepiteliales; LP: lámina propia; TCR: receptor de células T, INF-gamma: interferón gamma; TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa; IL: interleuquina; MICA: secuencia A relacionada con polipéptidos MHC clase I; NKG2D: factor activador de 2D de células natural killer. Ref <sup>25</sup>

Si bien hay que tener en cuenta los factores medioambientales (elementos exógenos, agentes infecciosos) y los mecanismos homeostáticos del propio organismo (flora bacteriana intestinal) que pueden modular este modelo de patogenia y hay que tenerlos en cuenta <sup>31</sup>.

### 1.1.3. Factores genéticos

La susceptibilidad genética de la enfermedad celíaca se relaciona fuertemente con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II <sup>20</sup>. Los genes HLA codifican proteínas presentadoras de antígenos que se expresan en la mayoría de las células humanas, esenciales para la capacidad del organismo de diferenciar entre moléculas propias y ajenas <sup>25</sup>. La región HLA explica alrededor del 40% del componente genético <sup>29</sup>. Estas moléculas están formados por la combinación de los productos de alelos, los cuales codifican las cadenas alfa y beta del heterodímero respectivamente <sup>29</sup>. En este heterodímero queda una hendidura donde se acoplan los antígenos para su presentación a los linfocitos <sup>20</sup>. La asociación más fuerte con la EC se ha hallado con el HLA DQ2.5 <sup>29</sup>, el cual está codificado por los alelos DQ A1 \*05 (cadena alfa) y DQB1\*02 (cadena beta), cuya presencia se da en cis en el haplotipo DR3-DQ2, o en trans en los heterocigotas DR5-DQ7 y DR7-DQ2.2. El 90% de los pacientes celíacos presentan al menos una copia de este heterodímero. El dímero HLA DQ2.2 es una variante codificado por los alelos HLA DQA1\* 02:01 y HLA DQB1\*02:02 y confiere un menor riesgo de desarrollar la EC. La mayor parte de los pacientes que son negativos para HLA DQ2, expresan HLA DQ8, codificado por el haplotipo DR2-DQ8. Una pequeña proporción de pacientes son negativos, para DQ2 y DQ8, pero se ha observado, que estos pocos casos, los individuos presentan al menos uno de los dos alelos que codifican la molécula DQ2 /DQA1\*05 o DQB1\*02) <sup>32</sup>. (Figura 3) <sup>29</sup>. Por otro lado, un 20-30% de la población general no celíaca, también presenta esta variante del

HLA DQ2, lo que demuestra que aunque condición necesaria para el desarrollo de EC no es suficiente<sup>29</sup>.

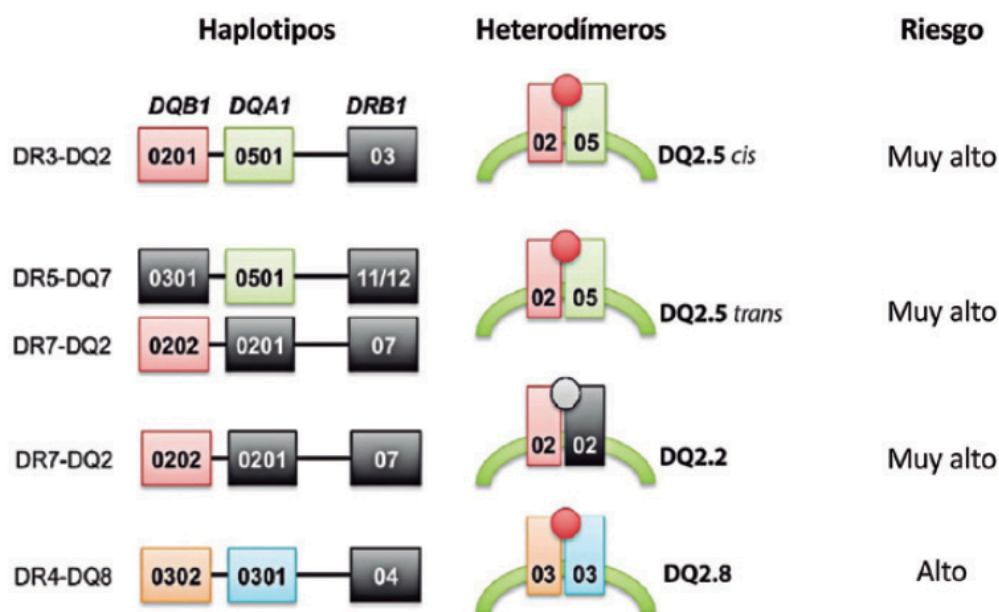


Figura 3. Asociación de la EC con el locus HLA. Ref. <sup>25</sup>

En este sentido se han realizado estudios para identificar genes de susceptibilidad no-HLA. Los estudios GWAS (genoma wide association) han identificado 40 regiones genómicas que albergan 64 genes, algunos de los cuales se relaciona también con enfermedades autoinmunes y trastornos inflamatorios. Al reunir todas las regiones identificadas en los estudios de GWAS asociadas a los 3 procesos, su análisis posterior permitió observar que las regiones genómicas comunes a la enfermedad celiaca y a los trastornos autoinmunes fueron los implicados en las vías de señalización de citoquinas, quimiocinas, y fundamentalmente en la activación de células T<sup>31</sup>. Un gran número de genes asociados a EC codifican fundamentalmente interleuquinas, receptores de interleuquinas y TNF o receptores que intervienen en la inmunidad innata y señales de estrés epitelial<sup>31</sup>. Si bien, las

regiones especialmente asociadas a la enfermedad celiaca eran aquellas relacionadas con la diferenciación de las células T, enfatizando el papel de las células T en la patogenia de la enfermedad celiaca <sup>31</sup>.

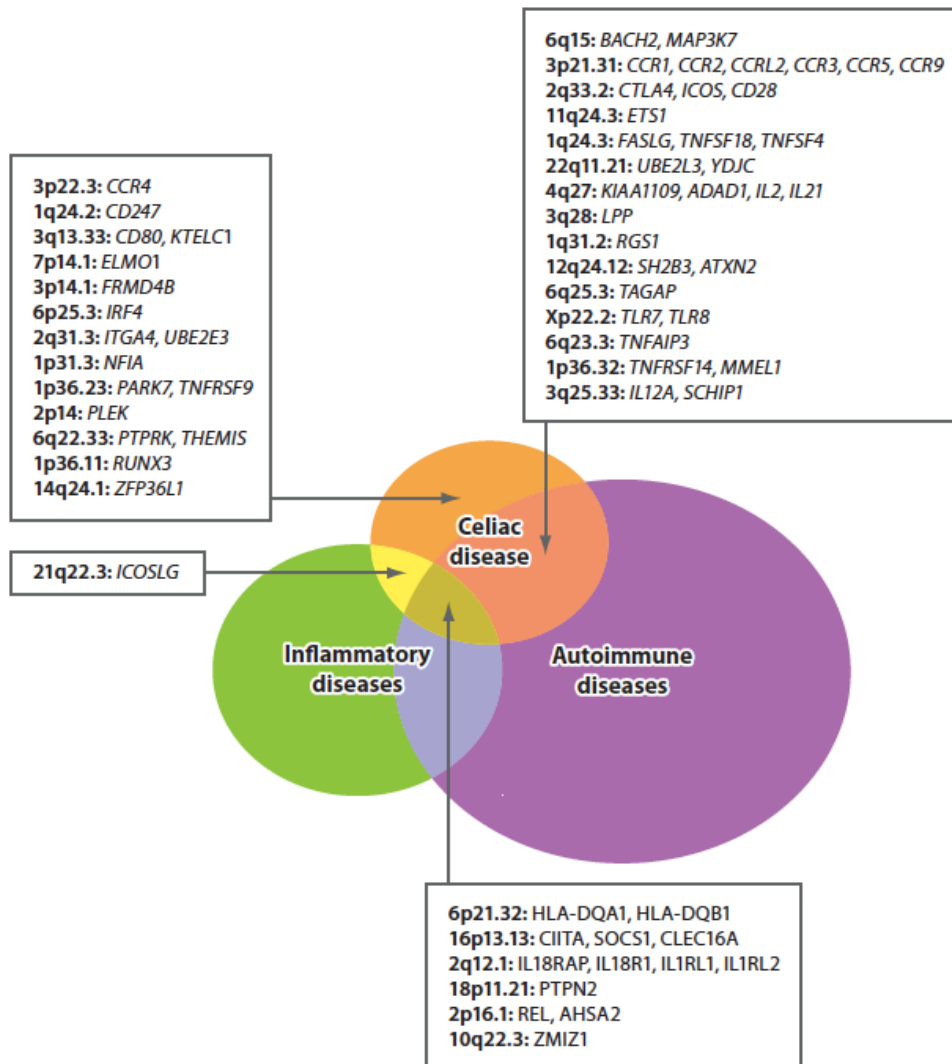


Figura 4. Superposición de los factores de riesgo genéticos identificados en la enfermedad celiaca, enfermedades autoinmunes y otros trastornos inflamatorios. Ref. <sup>31</sup>

En general, aproximadamente el 55% de la heredabilidad de la EC es todavía desconocida, el locus HLA explica en torno al 40% de la heredabilidad y el resto de las alteraciones genéticas no explican más del 5% de esta heredabilidad <sup>20</sup>.



#### 1.1.4. Factores ambientales

La ingesta de gluten es el principal factor ambiental involucrado en el desarrollo de la EC, si bien se han propuesto otros factores ambientales que pueden contribuir al desarrollo de la EC, existiendo datos contradictorios para algunos de ellos, siendo los factores medioambientales relacionados con el mayor riesgo a desarrollar EC los siguientes <sup>33</sup>:

a) Exposición a antibióticos a edad temprana: especialmente en niños con infecciones durante el primer año de vida, los cuales pueden inducir un cambio en la microbiota y esto, alterar la barrera defensiva natural de la mucosa intestinal, activando mecanismos de inflamación y alterando la permeabilidad.

b) Infecciones: las infecciones virales agudas en niños, debidas a rotavirus, astrovirus y adenovirus entre otros, puede ser un factor de riesgo para la EC. Un trabajo reciente sugiere que la infección por un virus no patogénico (reovirus) podría desencadenar la EC <sup>34</sup>.

c) Situación socioeconómica: es un factor que influye en el desarrollo de la EC, pudiendo afectar a los niños que viven en situaciones socioeconómicas más favorables. En general, las enfermedades autoinmunes son menos frecuentes en niños que viven en ambientes socioeconómicos menos favorecidos, lo que podría apoyar la hipótesis denominada “exceso de higiene” <sup>35</sup>.

d) Microbiota: Varios estudios han asociado la EC con cambios en la composición de la microbiota intestinal (disbiosis), si bien se desconoce si es causa o consecuencia de la EC <sup>36</sup>. El análisis de la composición del microbioma mediante estudios metabolómicos ha permitido identificar un

perfil de disbiosis tanto en muestras fecales como de saliva de pacientes con EC. Así se han observado algunas alteraciones en niños, en relación a la composición y diversidad de la microbiota duodenal y fecal , consistentes en un desequilibrio entre las especies de Bacteroides (aumentadas) y bifidobacterium (disminuidas), demostrando que mejoran parcialmente con la DSG <sup>37</sup>.

## 1.2. Manifestaciones clínicas de la enfermedad celíaca

La enfermedad puede presentarse con un amplio espectro de manifestaciones tanto gastrointestinales (maldigestión, diarrea, dolor abdominal, distensión, meteorismo o estreñimiento) como extradigestivas (cansancio, dermatitis herpetiforme, anemia, osteoporosis, infertilidad, retraso en el crecimiento, neuropatía, ataxia, retraso en desarrollo puberal). El grado de manifestación clínica también es variable, la sintomatología puede ser profusa o simplemente presentar alteraciones analíticas <sup>38</sup>.

La EC sintomática puede ser dividida en EC clásica y no clásica. Cualquier caso que se presenta con malabsorción es clasificado como EC clásica. Si bien la presentación clínica ha cambiado hacia una afectación de individuos más mayores y con síntomas más leves. La frecuencia de la presentación subclínica o no clásica ha cambiado de un 30-40% a un 60%. Este cambio puede ser debido a una mayor sospecha, mejores herramientas diagnósticas y una detección precoz a través de los test serológicos <sup>39</sup>.

La diarrea continua siendo la manifestación gastrointestinal más frecuente al diagnóstico, aunque ha disminuido llamativamente en frecuencia. Otros síntomas digestivos, en orden decreciente de frecuencia son: meteorismo, estomatitis aftosa, alternancia del ritmo deposicional, estreñimiento y reflujo gastroesofágico. Otros menos frecuentes son el dolor abdominal crónico y los vómitos <sup>33</sup>.

La enfermedad celíaca puede afectar a otros órganos dando lugar a manifestaciones extraintestinales, presentes en la mitad a 2/3 de los pacientes. Los síntomas extraintestinales más comunes en orden de

frecuencia son la osteoporosis, anemia (generalmente ferropénica), afectación hepática (hepatitis celiaca), y abortos recurrentes<sup>33</sup>.

Por otro lado la enfermedad celiaca se asocia a trastornos autoinmunes, pudiendo observarse en el 35% de los pacientes con EC, con más probabilidad de tener más de un trastorno autoinmune. De ellos la Tiroiditis de Hashimoto es el que se asocia con más frecuencia, observándose en el 20-30% de los pacientes. La psoriasis es el segundo trastorno autoinmune más frecuente (4,3%) seguido de diabetes mellitus tipo 1 (4%). Se observa también relación con enfermedades del tejido conectivo incluido el síndrome de Sjogren y esclerosis sistémica<sup>33</sup>.

Al igual que en los adultos, la presentación clínica en los niños ha ido cambiando. La presentación clásica con malabsorción y retraso en el crecimiento, continua siendo la más frecuente en los niños más jóvenes en edad infantil y preescolar. En los niños mas mayores, el dolor abdominal es ahora la forma de presentación más común<sup>33</sup>.

### 1.3. Diagnóstico de la enfermedad celíaca

En la población adulta, el diagnóstico se basa en la presencia de síntomas, alteraciones serológicas e histológicas<sup>33</sup>, siendo la endoscopia con biopsia intestinal, la prueba considerada gold standard. En la mayoría de los casos, los cambios en la mucosa son parcheados, con mayor afectación de tramos proximales, observándose en el 10% de los casos, afectación exclusiva de la mucosa de bulbo duodenal<sup>33</sup>. Por este motivo, se recomienda la recogida de entre 4-6 biopsias de duodeno y una biopsia de bulbo duodenal<sup>7</sup>. Los cambios histológicos característicos incluyen aumento de los linfocitos intraepiteliales (LIEs), elongación de las criptas (hiperplasia o hipertrofia), pérdida de vellosidades de forma parcial o completa. La lamina propia presenta infiltrado de células linfocíticas y plasmáticas. El aumento de linfocitos intraepiteliales tiende a localizarse en la punta de las vellosidades y suelen ser CD8+<sup>33</sup>. La presencia de un infiltrado difuso y uniforme de linfocitos intraepiteliales es el hallazgo más sensible pero no específico de EC. Un recuento de al menos 25 LIE /100 enterocitos representa un incremento definitivo de LIEs<sup>1</sup>. Los estudios de inmunohistoquímica (IHQ) han demostrado que el aumento de LIEs representa una expansión de ambas células T citotóxicas alfa-beta y gamma-delta. Las células T gamma-delta se observan en 1-10% de la mucosa de intestino delgado normal, pero aumenta en pacientes con EC en los que pueden llegar a representar el 15-30% de todos los LIEs<sup>1</sup>.

Existen tres sistemas de graduación para establecer la severidad del daño histológico (Tabla 1): el sistema de Marsh fue reemplazado en 1999 por Oberhuber proponiendo una mejor estandarización con 6 tipos. En 2007 se

publicó una nueva clasificación por Corazza-Villanacci, más simple <sup>40 33</sup>. Ambas clasificaciones son cualitativas y subjetivas <sup>33</sup>. Si bien no existen sugerencias formales sobre cual de las clasificaciones usar, la clasificación de Marsh-Oberhuber es la usada por la mayoría de los patólogos tanto para el diagnóstico como para asegurar la regresión de la lesión tras una dieta sin gluten <sup>1</sup>. En ella se distinguen 6 estadios: el tipo 0 sin lesión, tipo 1 (lesión infiltrativa), tipo 2 (hiperplasia de criptas), tipo 3 (atrofia de vellosidades: 3a: parcial; 3b: subtotal; 3c: total) <sup>41</sup>.

Tabla 1 Clasificación histológica de la Enfermedad celíaca. Adaptado de Felipe Moscoso J et al . Ref. <sup>40</sup> .

CRITERIO HISTOLOGICO			MARSH	MARSH MODIFICADA (OBERHUBER)	CORAZZA
Aumento de linfocitos intraepiteliales	Hiperplasia de criptas	Atrofia Vellositaria			
No	No	No	Tipo 0	Tipo 0	-
Si	No	No	Tipo 1	Tipo 1	Grado A
Si	Si	No	Tipo 2	Tipo 2	
Si	Si	Si, parcial	Tipo 3	Tipo 3a	Grado B1 (relación vellosidades/cripta < 3:1)
Si	Si	Si, subtotal		Tipo 3b	Grado B2 (sin vellosidades detectables)
Si	Si	Si, total		Tipo 3c	Grado B2 (sin vellosidades detectables)

Sin embargo, estas lesiones no son patognomónicas de enfermedad celiaca, existiendo un amplio espectro de enfermedades que pueden producir lesiones microscópicas indistinguibles <sup>42</sup>. La duodenitis linfocitaria (MARSH I) esta presente en el 3,8% de la población con serología de EC negativa. Sólo alrededor de 16% se relacionan realmente con una EC. De igual manera existen otras causas de atrofia vellositaria en la biopsia duodenal distintas a la EC. Tabla 2 <sup>1</sup>.

Tabla 2. Diagnóstico diferencial de la enfermedad celiaca con y sin atrofia vellositaria . Adaptado de Al-Toma A et al. Ref. <sup>1</sup>.

Diagnostico diferencial de la EC con o sin atrofia vellositaria	
Arquitectura vellositaria normal Y aumento de LIEs	Atrofia vellositaria y aumento de LIEs
Hipersensibilidad a alimentos (leche de vaca, soja, pescado, huevos, etc)	Infección (Sprue tropical, Giardia, Enfermedad Whipple, MAC, Enteropatía asociada a VIH)
Enfermedad péptica ulcerosa	Spure colágena
Gastroduodenitis asociada a Helicobacter Pylori	Enteropatía autoinmune
Fármacos (AINES, Inhibidores bomba protones)	Inmunodeficiencia comun variable
Infecciones (enteritis viral, Giardia, Cryptosporidium)	Enfermedad inflamatoria intestinal
Enfermedad autoinmune, (artritis reumatoide, Tiroiditis de Hashimoto, Esclerosis multiple, Enteropatía autoinmune)	Fármacos (Mofetil micofenolato, colchicina, Olmesartan, Losartan)
Inmunodeficiencia comun variable	Quimioterapia
Enfermedad inhecto contra huesped	Gastroenteritis eosinofílica
Enfermedad inflamatoria intestinal	Sobrecrecimiento bacteriano
Sobrecrecimiento bacteriano	Enteropatía asociada a linfoma celulas T
Colitis microscópica	Deficiencia nutricional
Síndrome de intestino irritable	Amiloidosis
Sensibilidad al gluten no celiaca	Terapia inmunomoduladora

Los test serológicos son importantes por dos motivos: 1) seleccionan a los pacientes en los que la biopsia duodenal debe ser indicada para confirmar la sospecha clínica y 2) confirman el diagnóstico en aquellos casos en los que se ha objetivado una enteropatía <sup>7</sup>. Se han desarrollado varios test serológicos para detectar la enfermedad celíaca. Los anticuerpos antigliadina (AGA) han sido usados durante décadas y son razonablemente seguros cuando la probabilidad de enfermedad celiaca es muy alta con una sensibilidad del 85% y especificidad del 90%, pero tienen peores resultados en la población general, debido en parte a su pobre especificidad, por lo que han sido sustituidos por test más precisos <sup>1</sup>. Los anticuerpos antiendomiso (EMA) y finalmente los antitransglutaminasa (ATG) son más específicos <sup>43</sup>. Sin embargo los EMA precisan de técnicas de laboratorio más complejas y dependen de la experiencia del personal de laboratorio, quedando como test de segunda línea, adecuados para confirmar la sospecha clínica <sup>44</sup>. Por otro parte los anticuerpos frente a péptidos de la gliadina deaminada (DGP) han mostrado mayor precisión, aunque inferior a los ATG IgA <sup>39 44</sup>, de forma que un resultado positivo aislado de IgA y/o IgG-DGP en pacientes de bajo riesgo para enfermedad celiaca, predice la enfermedad sólo en un 15%, siendo en el resto de los casos falsos positivos <sup>39 44</sup>. De este modo la National Institute for Health and Care Excellence no recomienda su uso <sup>8</sup>. Los ATG son preferidos actualmente como primera línea debido a su alta sensibilidad y valor predictivo negativo <sup>8</sup>, con una sensibilidad y especificidad del 95% y superior al 95% respectivamente <sup>45</sup>. A diferencia de los EMA se realizan de forma más sencilla y son menos costosos <sup>39 44</sup>. Sin embargo en casos de inmunodeficiencia IgA, observada en el 2-3% de los enfermos celíacos, se



debe realizar determinación de ATG-IgG cuya sensibilidad y especificidad es menor. Es importante saber que los anticuerpos ATG y EMA son menos sensibles en niños menores de 2 años <sup>43</sup>. Se debe tener en cuenta además, que los anticuerpos ATG pueden ser negativos en el 5-16% de pacientes con enfermedad celiaca confirmada histológicamente <sup>45</sup>. No hay, por tanto ningún test serológico con una sensibilidad y especificidad perfecta <sup>43</sup>.

El mayor factor de riesgo genético para la enfermedad es la presencia de heterodímeros HLA DQ2 y DQ8. HLA DQ 2 está presente en el 95% de los enfermos celíacos y HLA DQ8 en el 5% aproximadamente, pero HLA DQ2 está presente en el 25-30% de la población normal. Ambos heterodímeros tienen un alto valor predictivo negativo (>99%) pero escaso valor predictivo positivo (sólo en torno al 12%), por lo que su determinación no tiene valor diagnóstico en situaciones con elevación de anticuerpos ATG IgA y debe ser reservada como segunda línea en pacientes con duda diagnóstica. <sup>46</sup>, Así su estudio se recomienda en las siguientes situaciones: a) Exclusión de la enfermedad, sobre todo en aquellos que han iniciado la dieta sin gluten. b) En situaciones de diagnóstico incierto por serología negativa pero histología sugestiva de enfermedad celíaca, c) Para diferenciar hermanos en los que se pretende asegurar que es poco probable que desarrollen la enfermedad de aquellos que necesitarán monitorización, d) Sujetos con enfermedades autoinmunes y otras enfermedades en los que la enfermedad celiaca deba ser investigada <sup>33</sup>. En resumen, la confirmación de diagnóstico de enfermedad celíaca debe basarse en la presencia de datos clínicos, serología positiva y lesión histológica concordante.

En 2012, la guía de la European Society for the Study of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) estableció la posibilidad de realizar el diagnóstico de enfermedad celiaca en un subgrupo de niños sin confirmar la presencia de atrofia vellositaria por endoscopia oral, evitando el coste y riesgo de la endoscopia en este grupo de pacientes <sup>47</sup>. Por el contrario todas las Sociedades de Gastroenterología (American Collage of Gastroenterology, British Society of Gastroenterology y UK National Institute for Health and Care Excellence) determinan la necesidad de la biopsia para el diagnóstico en los adultos <sup>48</sup>, permitiendo con ello <sup>44</sup>:

1.- Evitar errores diagnósticos, en pacientes con serología positiva, pudiendo ser falsos positivos, en los que la DSG produce cierta mejoría clínica, como puede ser el colon irritable.

2.- Evitar el infradiagnóstico teniendo en cuenta que la enfermedad celiaca seronegativa representa el 5-15% de los casos. Requiere además una confirmación cuidadosa del diagnóstico con estudio de HLA DQ2/DQ8, exclusión de otras causas de atrofia vellositaria y valorar la respuesta histológica a la retirada del gluten de la dieta <sup>39</sup>.

3.- Adecuar el manejo de la enfermedad celiaca potencial conocida como aquella en que la serología es positiva y la biopsia duodenal normal. En estos casos, no todos los pacientes desarrollaran atrofia vellositaria y a veces pueden perder los anticuerpos, siendo desconocido quien se beneficia de una dieta sin gluten. Un mayor uso de la detección de anticuerpos anti-TG en las muestras de tejido, probablemente ayudaría a esclarecer estas dudas.

4.- Asegurar el diagnóstico antes de iniciar una dieta sin gluten de por vida que cambiará el estilo de vida y a veces la calidad de vida de los pacientes.

5.- Descartar otras patologías simultaneas como neoplasias o patología ulcerosa, en pacientes con dolor abdominal o anemia.

6.- Establecer el grado de severidad de la lesión duodenal y su mejoría en caso de que el paciente sea sometido a seguimiento endoscópico posterior, sobre todo si el paciente se mantiene sintomático.

7.- Descartar la presencia de complicaciones destacando en este sentido la presencia de linfoma.

De este modo, la biopsia duodenal es fundamental en la confirmación del diagnóstico, siendo muy útil también, para disponer de una histología basal con la que poder comparar los hallazgos histológicos tras la retirada del gluten de la dieta <sup>33</sup>. Es fundamental por tanto que al diagnóstico, los pacientes mantengan el consumo de gluten, aconsejando la ingesta de 10gr de gluten al día (equivalente a 4 rebanadas de pan) durante 6 semanas antes de la endoscopia en aquellos casos que se encuentre realizando una dieta libre de gluten previamente, para asegurar que los resultados histológicos no se encuentran afectados por la ausencia de gluten en la dieta <sup>44</sup>.

#### 1.4. Tratamiento actual de la enfermedad celíaca

El único tratamiento disponible en la actualidad en la enfermedad celíaca es el seguimiento de una dieta estricta sin gluten, eliminando los alimentos que contienen trigo, cebada, centeno y avena <sup>42</sup>. En la normativa europea, la cantidad de gluten aceptada en los alimentos para ser etiquetados como “exentos de gluten” es de 20 partes por millón (ppm). Aunque también existe la categoría “alimento con contenido muy reducido en gluten”, son aquellos alimentos en los que los cereales han sido tratados para eliminar el gluten y no pueden superar las 100ppm <sup>42</sup>.

La susceptibilidad a la contaminación de los alimentos por gluten varía entre los pacientes <sup>33</sup>, así en algunos trabajos sobre los niveles seguros de gluten se afirma que una ingesta diaria menor de 10 mg no afecta a la mucosa duodenal, mientras que hay alteraciones significativas con ingestas diarias mayores de 500 mg/día y alteraciones observables con ingestas de 100 mg/día. Por tanto actualmente se podría establecer un límite seguro de ingesta entre 10 y 100 mg. <sup>49</sup>. De igual modo, ingestas diarias menores de 10 mg de gluten es improbable que produzcan alteraciones histológicas significativas <sup>50</sup>.

En la mayoría de los pacientes el cumplimiento estricto de la dieta sin gluten conduce en pocos meses a la remisión de los síntomas y normalización de las pruebas serológicas <sup>42</sup>. La mejoría clínica puede observarse tan pronto como a los 7 días y la seroconversión del título de anticuerpos antitransglutaminasa tan temprano como a los 3 meses, siendo más pronunciada en el primer año. La recuperación de las vellosidades

intestinales precisa varios años de una dieta estricta sin gluten (en torno a los 2 años en el 34% y 5 años en el 66%) <sup>42</sup>.

Sin embargo, el cumplimiento estricto de una DSG es muy difícil de conseguir por la ubiquidad del gluten como aditivo en los alimentos, los hábitos dietéticos, las restricciones sociales que conlleva y el alto coste de los alimentos, de modo que las transgresiones en la dieta son relativamente frecuentes (36-55%) <sup>51</sup>. El incumplimiento de la dieta sin gluten lleva a complicaciones como la osteoporosis, anemia, depresión, infertilidad, e incluso un mayor riesgo de enfermedades neoplásicas tales como adenocarcinoma de intestino delgado, cáncer de esófago, linfoma no Hodgkin de células B y T y particularmente linfoma intestinal de células T <sup>43</sup>.

Por este motivo se necesitan intervenciones conductuales y dietéticas para mejorar los resultados de los pacientes que intentan seguir una dieta sin gluten <sup>52</sup>, siendo el objetivo final la ausencia de síntomas y la normalización de la mucosa duodenal <sup>33</sup>.

## 1.5. Seguimiento de la adherencia a la dieta sin gluten en los paciente celiacos

Existen varios métodos para asegurar la adherencia a la DSG: a) evaluación clínica, b) consultas con nutricionista, d) serología y c) biopsia intestinal.

a) Evaluación clínica: Una adherencia estricta a la dieta sin gluten es requisito para el control de los síntomas, mejorar la calidad de vida y disminuir el riesgo de complicaciones <sup>33</sup>. Sin embargo no está bien establecido el valor de los síntomas como predictor de persistencia de atrofia vellositaria, pudiendo persistir atrofia vellositaria en ausencia de síntomas <sup>53</sup>. En un estudio con 69 pacientes se observó que la atrofia vellositaria en el seguimiento, era significativamente más frecuente en los pacientes con persistencia de síntomas gastrointestinales que en pacientes asintomáticos (85% vs 33% ( $p < 0,0001$ ; OR=12; 95% CI 3,7-38,9). <sup>54</sup>. En otro estudio prospectivo con 263 pacientes a los que se sometió a una endoscopia de seguimiento al año de iniciar la DSG, presentaron mayor probabilidad de persistencia de lesión duodenal aquellos que referían síntomas de malabsorción al diagnóstico (60%vs 34%,  $p < 0,001$ ). Sin embargo los síntomas en el seguimiento no servían para predecir la lesión histológica de acuerdo a la escala de valoración de síntomas gastrointestinales (GSRS) al año de inicio de la DSG: 1,5 (1,3-1,8) en los que persistía la lesión histológica vs 1,5 (1,3-2) en los que presentaban recuperación histológica ( $p=0,321$ ) <sup>55</sup>. Por otro lado hasta un 22% de los pacientes pueden estar asintomáticos con presencia de atrofia vellositaria significativa. De modo que en estos pacientes asintomáticos o mínimamente

sintomáticos al diagnóstico, no pueden ser seguidos en base a la presencia o ausencia de síntomas <sup>56</sup>.

b) Consulta con nutricionista: Las revisiones por nutricionistas respaldadas por cuestionarios que evalúan la adherencia reportada por el propio paciente, así como la frecuencia de consumo de determinados alimentos es una herramienta útil para detectar consumos inadvertidos y promover la educación hacia una dieta adecuada <sup>33</sup> pero a menudo no son estandarizables, son subjetivas, y no pueden identificar las infracciones involuntarias que el paciente no puede detectar, ya que el 60% de los pacientes consumen gluten de forma no intencionada y de ellos el 30% no identifican la transgresión <sup>57</sup>. Así en el trabajo de Sharkey et al <sup>56</sup>, donde se evalúa la eficacia de una valoración por nutricionistas especializados para la consecución de la recuperación mucosa, se observó que en el 31% de los pacientes re-biopsiados al año de iniciar la DSG y con persistencia de atrofia vellositaria, la intervención dietética no fue capaz de detectar la fuente de consumo de gluten, por lo que se les sometió a una dieta supersensible sin gluten, observando que de estos pacientes, el 62% conseguían la normalización mucosa tras esta dieta estricta, es decir, la persistencia de la lesión histológica, en estos pacientes, se debía a consumo de gluten que la intervención dietética no fue capaz de detectar. De este trabajo se traduce que una revisión de la dieta antes de una revisión histológica puede no descubrir fuentes de consumo, a diferencia de una revisión a posteriori, donde la observación de la persistencia de cambios histológicos en las biopsias de seguimiento obliga a descartar de forma mas exhaustiva la persistencia de consumo de gluten <sup>48</sup>. Por tanto, la intervención dietética no

puede sustituir a la valoración de la curación mucosa en el control de la adherencia a la dieta, siendo más bien la situación inversa, en la que la reevaluación del estado de la mucosa duodenal, permitirá diferenciar a los individuos con buena adherencia que pueden ser seguidos de forma más laxa, de aquellos que precisan una supervisión dietética regular para asegurar la adherencia <sup>55</sup>.

c) Serología: Los estudios serológicos de la enfermedad celíaca, especialmente los anticuerpos antitransglutaminasa (ATG) y los anticuerpos antiendomio (EMA) facilitan la identificación de pacientes con sospecha de enfermedad celíaca que deben someterse a biopsia endoscópica, con una sensibilidad y especificidad superior al 91% para los ATG, y un VPP, VPN del 99% y 28% respectivamente. Por su parte los EMA presentan una sensibilidad y especificidad del 95% con VPP y VPN del 71 y 99% <sup>44</sup>. Todos los anticuerpos asociados a la enfermedad celíaca son dependientes del gluten, de modo que se observa una disminución de los niveles basales en los primeros meses de una dieta sin gluten <sup>58</sup>. La persistencia de una serología positiva se ha visto en el 1% de los pacientes que fueron seguidos durante 5 años <sup>57</sup>, siendo razonable asumir que la positividad de estos anticuerpos indican cierto consumo de gluten <sup>33</sup>. Sin embargo la relación entre la adherencia a la dieta sin gluten, la recuperación mucosa y la serología no es lineal. De modo que la serología no es una técnica segura para detectar pequeñas contaminaciones de gluten en la dieta y además la negativización de los ATG no implica necesariamente la normalización de la mucosa intestinal <sup>43</sup>, teniendo poca sensibilidad para la atrofia vellositaria persistente <sup>48</sup>. Sólo el 44% de los pacientes con persistencia de atrofia



vellositaria tenían los anticuerpos elevados y por el contrario el 25% de los que conseguían normalización mucosa, permanecían con niveles de anticuerpos positivos <sup>48</sup>. En un reciente metaanálisis el valor predictivo positivo y la sensibilidad de la determinación persistentemente positiva de los ATG IgA es muy baja con una sensibilidad de 38% para los adultos. El valor predictivo negativo de la serología en los pacientes adultos a DSG durante un año o más fue mayor, con una especificidad de 80%. Lo que determina que la utilidad de la serología en el seguimiento de los celíacos adultos es muy limitada <sup>59</sup>.

d) Seguimiento con biopsia intestinal. La lesión histológica sigue siendo la prueba “gold standard” para el diagnóstico de la enfermedad celíaca y por tanto la recuperación mucosa es el principal marcador de respuesta a la dieta. Los porcentajes de respuesta histológica recogidos en la literatura son variables, desde un 34% a los 2 años en la serie de Mayo comparada con el 65% en la de Holanda <sup>48</sup>. El único método para verificar esta normalización del duodeno es la realización de endoscopia oral con toma de biopsia intestinal, siendo un método de seguimiento agresivo <sup>43</sup>. Si bien parece recomendable hacer una endoscopia de seguimiento en adultos a 1-2 años de iniciar la DSG para asegurar la recuperación mucosa <sup>33</sup>, que nos permita diferenciar pacientes que son de poco riesgo y en los que se pueden ampliar los plazos de seguimiento, de aquellos de alto riesgo que pueden necesitar una supervisión especial para mantener la adherencia y la respuesta a la dieta, en vista a la sensibilidad individual al gluten y los factores individuales de adherencia a la dieta <sup>48</sup>.

Sin embargo la re-biopsia de rutina para evaluar la respuesta a la DSG no es actualmente una recomendación de la mayoría de las asociaciones (British Society of Gastroenterology, American Gastroenterological Association, World Gastroenterology Organisation o American College of Gastroenterology) como objetivo del tratamiento. Por lo que actualmente hay pocos datos que apoyen la estrategia basada en la rebiopsia <sup>48</sup>.

Se necesitan por tanto técnicas más objetivas, seguras y no invasivas que permitan asegurar el cumplimiento de la dieta sin gluten, descartando aquellas posibles transgresiones voluntarias o inadvertidas que no permiten la normalización absoluta de la mucosa duodenal.

Esto permitiría a su vez realizar un diagnóstico diferencial con la enfermedad celíaca refractaria (ECR) definida como aquella en la que persiste o hay recurrencia de los síntomas y signos de malabsorción con una atrofia vellositaria a pesar de una DSG durante más de 12 meses en ausencia de otras enfermedades incluyendo el linfoma <sup>43</sup>. Afecta al 0,04-1,5% de los enfermos celíacos, existiendo dos tipos de ECR, dependiendo de la presencia o ausencia de linfocitos intraepiteliales aberrantes (carecen de CD3 de superficie y generalmente CD8, pero expresan CD3 intracelular). Cuando el porcentaje de linfocitos T aberrantes es menor del 20% la ECR es tipo I, mientras que si excede este porcentaje la ECR es tipo II, pudiendo ser considerada ésta última como un pre-linfoma o linfoma de bajo grado y es importante identificarlas y diferenciarlas, pues el manejo y pronóstico son distintos. En la ECR tipo I, las manifestaciones clínicas son más leves y las lesiones histológicas son similares a la EC activa no complicada, por lo que

su diagnóstico es difícil y la distinción con los que no responden a la DSG por consumo inadvertido puede ser difícil <sup>33</sup>.

La identificación del péptido 33-mer de la  $\alpha$ -gliadina como el principal responsable de la inmunotoxicidad del gluten e iniciador primario de la respuesta inflamatoria al gluten en los pacientes celíacos, debido a su resistencia a la proteólisis por las proteasas gástricas, pancreáticas e intestinales <sup>60</sup>, permitió la obtención de anticuerpos monoclonales capaces de detectar fracciones tóxicas del gluten <sup>61</sup>. Se caracterizaron 2 anticuerpos monoclonales (A1 y G12). El anticuerpo monoclonal A1 es particularmente sensible a las prolaminas inmunotóxicas, con mayor afinidad por la cebada y el centeno seguida por el trigo. El moAb G12 fue más específico para el 33-mer que el A1 que también reconoció a todas las prolaminas inmunotóxicas pero con mayor afinidad por la cebada y el trigo seguido del centeno <sup>12</sup>.

La alta sensibilidad de estos anticuerpos monoclonales en la detección por ELISA del principal péptido inmunogénico del gluten permitió la detección de concentraciones de gluten en los alimentos tan bajas como 1 ppm, que es muy inferior al nivel de 20 ppm propuesta por la normativa europea <sup>61</sup>, demostrando su valor en el control de los niveles de gluten en los alimentos así como también podrían utilizarse en el control de la desintoxicación enzimática del gluten <sup>12</sup>.

Sobre la base de estos anticuerpos monoclonales anti-33 mer G12 y basado en la resistencia de los péptidos del gluten a la digestión gastrointestinal, en particular del péptido inmunotóxico 33-mer, se evaluó un nuevo método para detectar y monitorizar la presencia de péptidos inmunogénicos del gluten (GIP) en heces humanas <sup>62</sup>. En el estudio

desarrollado por Comino I et al <sup>62</sup> los inmunoensayos con MoAb G12 mostraron que el 30% de los péptidos inmunogénicos de la gliadina permanecían intactos tras la hidrólisis durante una digestión gastrointestinal simulada in vitro. La absorción de péptidos de la gliadina a lo largo del tracto gastrointestinal puede variar entre individuos debido a la diversidad de la flora bacteriana, a la dieta asociada, pudiendo tener esto un impacto en las concentración de péptidos en las heces. Sin embargo, independientemente de esta diversidad, se observó una fuerte correlación entre la cantidad de gluten ingerido y la cantidad excretada. Los resultados de este estudio demostraron que ingestas de cantidades de gluten tan bajas como 50 mg en pan procesado, podían ser detectadas en heces, demostrando que una parte significativa de los péptidos ingeridos son excretados a través de las heces. Por tanto, la recuperación de cantidades medibles de la fracción inmunotóxica en las heces indica que el gluten ha pasado a través del tracto digestivo y, en consecuencia, que el gluten ha sido consumido <sup>62</sup>. Se estimó además que el tiempo de excreción de péptido inmunotóxicos podía estar entre 2 y 4 días, pudiendo ser una herramienta para el diagnóstico de intoxicaciones o presencia de síntomas en individuos a DSG. Pero puede ser además un método de monitorización de la adherencia a la dieta debido a su sensibilidad, no invasividad y correlación significativa con el consumo del gluten <sup>62</sup>. Posteriormente se desarrolló un estudio para demostrar la viabilidad de la medición de péptidos inmunogénicos de gluten en la orina, al ser una muestra no invasiva, con menor coste, más fácil de recoger, transportar, almacenar y más homogénea que las heces <sup>51</sup>. En este estudio se reclutaron 76 pacientes sanos y 58 pacientes con enfermedad celiaca. No

se detectó GIP en orina en ninguno de los individuos sanos con una DSG y sí en aquellos con una dieta con gluten. En los enfermos celíacos con DSG se detectó GIP en orina en el 46%, detectando la existencia de un alto porcentaje de transgresores de la dieta. Por otro lado se observó correlación entre la lesión histológica y la detección de GIP en orina en 6 enfermos celíacos <sup>51</sup>. La recogida de cantidades medibles de péptidos en la orina, indica que estos péptidos son absorbidos por la mucosa intestinal, han alcanzado la circulación y han sido filtrados por los riñones. Se pudo detectar un amplio rango de cantidades de péptido en orina (desde 6,54 a 604 ng) tras la ingesta de gluten. El tiempo para la excreción de péptidos tras la ingesta fue de 1 a 2 días a diferencia de las heces (entre 3-4 días). El estudio demostró que la ingesta de más de 25 mg de pan procesado podía ser detectado en la orina. Si bien la concentración de GIP en orina y el tiempo de excreción puede presentar diversidad interindividual en función del tipo de comida ingerida, la edad, sexo, flora intestinal, cantidad de líquido ingerido y la dieta que acompañe al gluten <sup>51</sup>.

Varios estudios han evaluado el rendimiento de la detección de GIP en heces y orina en el control de la adherencia a la dieta sin gluten, comparando esta nueva herramienta con la presencia de síntomas, la serología y las transgresiones recogidas en cuestionarios dietéticos. Así el trabajo de Costa AF et al <sup>63</sup>, realizó análisis de cuantificación de GIP en heces mediante ELISA, así como determinación de la presencia de GIP en heces y orina mediante point of care test (PoCT) a través de inmunoensayos de flujo lateral en pacientes celíacos con más de 2 años a dieta sin gluten. Observó una concordancia del 90,5% en la determinación de GIP en heces

por las dos técnicas. Se detectó GIP en al menos una de las técnicas en el 25% de los pacientes, de los cuales el 32% estaban asintomáticos. No se obtuvo concordancia entre la detección de GIP y la adherencia a la dieta por cuestionario dietético en el 34%, que sólo detectaba transgresión en el 50% de los pacientes con determinación de GIP positiva. De los que excretaban péptidos inmunogénicos de gluten, sólo el 25% presentaban elevación de anticuerpos antitransglutaminasa y el 50% anticuerpos antigliadina deaminada a títulos altos <sup>63</sup>.

Estos trabajos ponen de manifiesto el valor de la determinación de péptidos inmunogénicos del gluten como herramientas útiles para controlar la adherencia a la dieta en pacientes celíacos, siendo de especial interés en pacientes asintomáticos en los que se asume una adecuada adherencia y en consecuencia no son sometidos a un seguimiento estricto <sup>56</sup>, y en los que la frecuencia de transgresiones en la dieta parece ser similar al de pacientes sintomáticos <sup>64</sup>.

Sin embargo estos estudios presentan como limitación un tamaño muestral bajo y la ausencia de comparación con la biopsia duodenal como técnica gold estándar de control de adherencia a la dieta. Se necesitan por tanto estudios con mayor número de pacientes para validar la relevancia clínica de esta nueva técnica, su aplicación en la detección de transgresiones dietéticas en paciente celíacos con DSG y su correlación con la persistencia de lesión histológica.

## **ANTECEDENTES Y OBJETIVOS**

## 2. ANTECEDENTES DEL TEMA Y OBJETIVOS

### 2.1. Antecedentes del tema

Las reacciones adversas a los alimentos han acompañado al ser humano desde épocas remotas e incluyen, entre otras, las intolerancias y alergias alimentarias, que son un problema creciente en la población infantil y adulta, destacando entre ellas las patologías relacionadas con la ingesta de gluten. Estas proteínas tienen una gran importancia en la industria alimentaria y agrícola, y un gran interés médico debido a las reacciones adversas que pueden provocar en la salud. El gluten está presente en más del 80% de los productos alimenticios manufacturados, de hecho, después del azúcar, es el ingrediente alimentario más usado en la civilización occidental. Las enfermedades relacionadas con la ingesta de gluten se clasifican según los síntomas clínicos que producen y la respuesta inmune generada distinguiéndose entre ellas la enfermedad celiaca, la alergia al trigo, la sensibilidad al gluten no celiaca, etc. Entre estas patologías la más conocida es la EC que es el trastorno gastrointestinal crónico más frecuente en los países occidentales.

El único tratamiento eficaz para esta patología consiste en realizar una dieta sin gluten de por vida. Este tipo de dieta no es tarea sencilla debido a la ubicuidad del gluten en los alimentos, a la desinformación educativa, a las variaciones en el etiquetado de los alimentos y a la posible contaminación cruzada de éstos. A pesar de las recomendaciones se ha demostrado que entre un 16% y un 70% de los pacientes incumplen el tratamiento, siendo la falta de rigurosidad en la dieta la principal razón por lo que resulta difícil



controlar la enfermedad. Se ha demostrado, que la falta de adherencia a la dieta tiene consecuencias para el paciente celiaco que pueden ir desde recaídas sintomáticas leves hasta graves complicaciones de diferente índole. La evaluación de la adherencia no es sencilla y para su monitorización se han usado tradicionalmente métodos como las entrevistas o encuestas dietéticas, el control de la sintomatología, la realización de la serología celiaca y la biopsia intestinal. Sin embargo, ninguna de estas herramientas ofrece una medida precisa de las posibles transgresiones dietéticas ni adherencia a la dieta de estos pacientes. Respecto a la biopsia intestinal es el estándar de oro, pero al ser una técnica invasiva y costosa no se recomienda para el seguimiento rutinario de la DSG. Recientemente, se han desarrollado nuevas metodologías no invasivas, precisas y fiables para la determinación directa de la ingesta de gluten basadas en la detección y cuantificación de GIP en muestras de orina y heces de pacientes celíacos. Estos métodos permiten monitorizar el cumplimiento de la DSG y detectar casos de transgresiones.

## 2.2. Objetivos

Con estos antecedentes, el **objetivo general** de esta Tesis Doctoral es analizar la eficacia de la determinación de GIP en orina para evaluar el grado de cumplimiento de la dieta sin gluten de los pacientes celíacos, y comparar dicho biomarcador con parámetros clínicos, serológicos e histológicos que actualmente son usados en la práctica clínica para el control de la enfermedad.

El objetivo general indicado en esta Memoria de Tesis Doctoral fue desarrollado en los siguientes objetivos concretos:

- 1.- Diseño y realización de un estudio clínico prospectivo en pacientes celíacos en seguimiento en el que se incluyeron 3 visitas hospitalarias a los 3, 6 y 12 meses desde su inclusión en el estudio.
- 2.- Detección y cuantificación de los GIP en las orinas de los pacientes en cada visita, a los 3, 6 y 12 meses, para establecer el grado de cumplimiento de la DSG desde su inclusión en el estudio.
- 3.- Relación entre la lesión histológica, a los 12 meses del seguimiento, y la presencia de sintomatología, niveles de anticuerpos relacionados con la EC y cuestionarios dietéticos (CDAT), en las tres visitas realizadas por los pacientes (3, 6 y 12 meses), desde su inclusión.

4.- Relación entre el grado de lesión histológica de los pacientes, tras realizarle una biopsia a los 12 meses del seguimiento y el cumplimiento de la DSG medida mediante la determinación de los GIP en orina.

5.- Evaluación de la utilidad de la detección de GIP en orina para la determinación de la no adherencia a la DSG, definida como el porcentaje de pacientes con GIP positivos, en relación con la ausencia de transgresión dietética con las herramientas utilizadas actualmente en la práctica clínica.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

## 3. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1. Tipo de diseño

Estudio analítico, prospectivo, cuasi-experimental, de evaluación de la eficacia de una prueba diagnóstica.

### 3.2. Pacientes

La muestra procede de los pacientes atendidos en la consulta de adultos Gastroenterología del Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla), remitidos desde Atención Primaria o consultas jerarquizadas de nuestro Hospital o del Hospital Universitario Virgen Macarena, en el periodo comprendido entre Noviembre 2016 y Enero 2020. Se estableció una cohorte de pacientes con diagnóstico de enfermedad celíaca y a dieta sin gluten desde al menos 24 meses y una cohorte de pacientes celíacos de *novo* con gluten en la dieta a la inclusión.

El diagnóstico de celiaquía se basó en la presencia de síntomas concordantes en base a manifestaciones gastrointestinales (mala digestión, diarrea, dolor abdominal, distensión, meteorismo o estreñimiento) y/o extra-digestivas (cansancio, dermatitis herpetiforme, anemia, osteoporosis, infertilidad, retraso en el crecimiento, neuropatía, ataxia, retraso en desarrollo puberal) junto a alteraciones histológicas duodenales compatibles, de acuerdo a la clasificación modificada de MARSH y serología de enfermedad celíaca positiva o presencia de alelos de riesgo para enfermedad celíaca en el estudio HLA.

Los criterios de inclusión y exclusión en el estudio fueron los siguientes:

1.- Criterios de Inclusión:

- Pacientes mayores de 14 años y menores de 80 años.
- Dieta exenta de gluten durante al menos 24 meses desde la inclusión en el estudio, para la cohorte de enfermos celíacos a dieta sin gluten.
- Firma de consentimiento informado.

2.- Criterios de Exclusión:

- Antecedentes de enfermedad psiquiátrica grave, en particular depresión.
- Antecedente de trastorno convulsivo grave o uso de anticonvulsivantes.
- Ausencia de consumo de drogas.
- Haber consumido gluten de forma voluntaria en el último año.
- Enfermedad inflamatoria intestinal, parasitosis (*Giardia lamblia*), inmunodeficiencia variable común, gastroenteritis eosinofílica, déficit de Ig A.

### 3.3. Metodología de recogida de datos.

Desde el 23 de Noviembre 2016 hasta el 28 de Enero 2020 se incluyeron de forma consecutiva los pacientes atendidos en consulta de Gastroenterología del Hospital Universitario Virgen del Rocío. El estudio fue aceptado por el Comité Ético del Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla) (Ver Anexo) Se obtuvo consentimiento informado de cada paciente. El estudio constaba de 5 visitas: cribado, inclusión, 3 , 6 y 12 meses. En la visita de cribado, se revisaban los criterios de diagnóstico de EC aplicados y la exclusión de otras posibles causas de la sintomatología del paciente. Tras información y firma de consentimiento informado, se solicitaba una endoscopia oral, analítica y se le instruía al paciente a recoger la primera orina de la mañana de sábado, domingo, así como la del día de la visita, para la determinación de GIP en orina.

La endoscopia con toma de biopsia duodenal, extracción sanguínea, recogida de orina y revisión clínica del paciente, se realizó en la visita de inclusión, y a los 12 meses con intención de ver la evolución de las lesiones si las hubiera inicialmente y correlacionarla con la presencia de GIP y los parámetros clínicos y analíticos obtenidos durante el estudio.

En la visita de los 3 y 6 meses, se realizó revisión clínica, extracción sanguínea y recogida de orina.

En cada una de las visitas se valoró la adherencia a la dieta sin gluten a través de el cuestionario de adherencia validado (CDAT) <sup>65</sup>.

Las variables recogidas en el estudio se dividieron en

\* Datos demográficos (edad, sexo)

\* Datos relacionados con el diagnóstico de la enfermedad celiaca: - factores de riesgo de enfermedad celiaca: familiar primer grado con EC, DM tipo I, Síndrome de Down; - motivo de derivación a consulta: presencia de síntomas, alteración analítica, familiar en riesgo; - clasificación según la forma de presentación: clásica, no clásica, silente, latente; - tipo de síntoma predominante: diarrea, dispepsia, dolor abdominal, meteorismo, estreñimiento, dermatitis herpetiforme, diagnóstico previo de síndrome de intestino irritable; - alteración analítica y valor de GOT, GPT, Hemoglobina, Ferritina, IgA , Vitamina B12, Vitamina D, calcio (variables cuantitativas), anticuerpos ATG al diagnóstico (variable cualitativa: positivos/negativos y valor cuantitativo), determinación de HLA DQ2/DQ8: ninguna combinación de alelos de riesgo, una o dos combinaciones de alelos de riesgo para EC; - alteración histológica en la endoscopia oral diagnóstica: MARSH 0, 1, 2, 3, 4.

\* Datos a la inclusión y seguimiento de los pacientes: - presencia de síntomas (asintomático diarrea, dispepsia, dolor abdominal, meteorismo, estreñimiento, dermatitis herpetiforme, diagnóstico previo de síndrome de intestino irritable, retraso en desarrollo ponderal, abortos de repetición; - serología de enfermedad celiaca (variable cualitativa; positivo/negativo y cuantitativa); - alteración histológica en la endoscopia oral de la inclusión y a los 12 meses; - cuestionario de adherencia CDAT (Análisis cualitativo: buena adherencia/adherencia intermedia o mala adherencia)

Nuestra variable de resultado fue la detección de GIP en orina a la inclusión, 3, 6 y 12 meses (variable cualitativa: presencia/ausencia) y el valor de la determinación de GIP en orina a la inclusión, 3, 6 y 12 meses (cuantitativa).



### 3.4. Metodología de Laboratorio

#### Análisis de orina.

Las muestras de orina se congelaron a -20°C hasta su análisis.

#### • *Análisis cualitativo*

Para el análisis cualitativo se empleó iVYCHECK GIP Urine (Biomedal S.L., Sevilla, España), un inmunoensayo de flujo lateral (*Lateral flow immunoassay*, LFIA) que permite detectar los péptidos inmunogénicos del gluten (*Gluten Immunogenic Peptides*, GIP) en orina, basado en tiras inmunocromatográficas (IC) con la combinación de los anticuerpos monoclonales (moAb) G12 y A1. Para procesar las muestras de orina, éstas se acondicionaron con una solución acondicionadora, en una proporción 70:30. A continuación, la mezcla, se agitó durante unos 10 segundos y se añadieron 4 gotas (100 µL) en la casilla S del cassette de la tira IC (Figura 5). La muestra avanza por capilaridad a lo largo de la tira, comenzando la reacción y mostrándose el resultado en 15-30 min. Si existe GIP en la muestra por ingesta de gluten aparecerá una línea roja en la zona test que indica un resultado positivo. La ausencia de esta línea indicaría ausencia de GIP en la muestra y por tanto ausencia de ingesta de gluten (resultado negativo). Aparecerá una línea de color verde (línea de control) si la prueba se ha realizado correctamente.

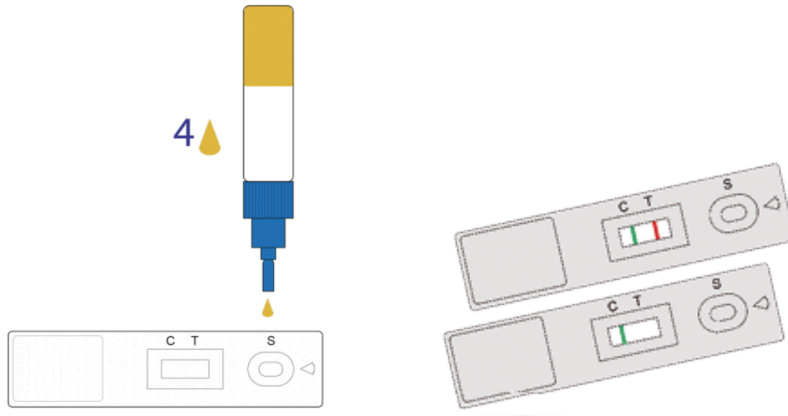


Figura 5. Representación del kit iVYCHECK GIP Urine (Imagen obtenida de Biomedal S.L.).

#### • *Análisis cuantitativo*

Para establecer la correlación entre el contenido de GIP y la señal de la tira IC analizada, se empleó el lector de tiras iVYCHECK Reader® (Biomedal S.L., Sevilla, España). Para ello, el lector se calibró previamente con el péptido sintético 33-mer de la  $\alpha$ -gliadina y orina negativa en GIP procedente de un sujeto a dieta sin gluten (DSG) controlada. Se prepararon una serie de estándares del péptido 33-mer cuyas concentraciones van de 100 a 1,56 ng/mL. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente para determinar el valor promedio, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV). Para el cálculo de la función de calibrado se utilizaron los valores promedio de la serie de estándares determinados. La función de calibración obtenida se introdujo en el software del lector para cuantificar la concentración de GIP en las muestras de orina. Finalmente se determinó el límite de cuantificación y de detección de la técnica, siendo estos 6,25 ng/mL y 2,25 ng/mL respectivamente.

### **Extracción sanguínea**

Los niveles de anticuerpos anti-transglutaminasa tisular (anti-tTG) y anti-gliadina (AGA) IgA (anti-tTG o AGA IgG en pacientes con deficiencia de IgA) se determinaron mediante enzimoimmunoanálisis de absorción (ELISA) usando el Kit EliATM Celikey® IgA/IgG y EliATM GliadinDP IgA/IgG respectivamente, de acuerdo con el protocolo del fabricante (Phadia, Freiburg, Alemania). Se usó el límite recomendado por el fabricante de > 10 U/mL.

### **Evaluación de la mucosa duodenal**

Se procesaron al menos cuatro biopsias endoscópicas de duodeno distal y dos biopsias del bulbo duodenal. El estudio y la cuantificación de los linfocitos intraepiteliales se realizó mediante inmunohistoquímica, utilizando la plataforma automatizada Ventana BenchMark ULTRA y el anticuerpo monoclonal CD3 (Roche Diagnostics). Las muestras de la mucosa se clasificaron de forma independiente de acuerdo con la clasificación de Marsh-Oberhuber.

### **Cuestionario de adherencia a la DSG (CDAT)**

La adherencia a la DSG se evaluó aplicando la traducción española del cuestionario de adherencia a la dieta sin gluten (CDAT) con una puntuación de 7 a 35. Las puntuaciones menores de 13 indican una buena o excelente adherencia a la dieta sin gluten, mientras que puntuaciones superiores a 17 reflejan un cumplimiento justo o deficiente<sup>65</sup>.

### 3.5. ANALISIS DE DATOS

Las variables cuantitativas se expresan como (media  $\pm$  desviación estándar) y las variables cualitativas se expresan como porcentajes. Para analizar la relación entre variables cualitativas utilizamos la prueba chi cuadrado o la prueba exacta de Fisher cuando fue preciso. Asimismo, calculamos la razón de probabilidades (RP) junto a su intervalo de confianza del 95% (IC 95%). La utilidad de la detección de GIP en orina se realizó mediante el cálculo de proporciones y su intervalo de confianza del 95% utilizando el método exacto de Clopper-Pearson. En los análisis comparativos, consideramos como estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$ , añadiendo el IC 95% correspondiente. Los análisis estadísticos se realizaron con el software IBM SPSS Statistics v19.

## **RESULTADOS**

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Análisis Descriptivo

Se realizó un estudio clínico prospectivo desde el 23 de noviembre de 2016 al 28 de enero 2020. Se analizó un total de 154 pacientes, de los cuales se excluyeron 31 (20,1%), 11 de ellos porque no cumplían criterios de inclusión, 12 declinaron su participación en el estudio y 8 por otros motivos. De los 123 pacientes que se incluyeron finalmente en el estudio, 94 (76,4%) eran pacientes celíacos a DSG durante más de 24 meses, y 29 (23,6%) eran celíacos de *novo* que consumían gluten en la inclusión. En la figura 6 se muestra el diagrama de flujo de pacientes del estudio.

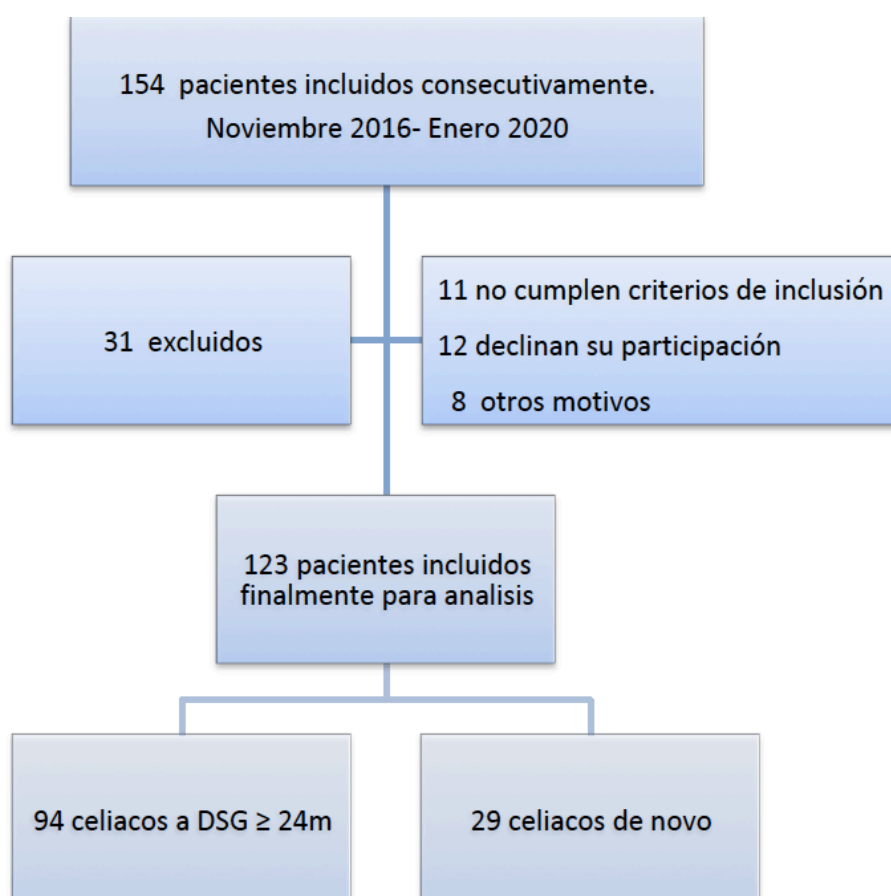


Figura 6. Diagrama de flujo de pacientes del estudio clínico prospectivo.

#### 4.1.1. Análisis descriptivo al diagnóstico

En el ensayo clínico hubo un predominio de mujeres (66,7%), la edad media al diagnóstico fue de  $29,2 \pm 19,2$  años (media  $\pm$  desviación estándar). El 80,7% de los pacientes iniciaron el estudio por presencia de sintomatología, siendo la EC no clásica (56,4%) y la diarrea (45,2%) la forma de presentación y el síntoma predominante más habitual, respectivamente. El factor de riesgo más frecuente fue la presencia de un familiar de primer grado con enfermedad celíaca (68,5%), frente a otros factores de riesgo analizados (diabetes tipo 1 y otras enfermedades autoinmunes). El 12% de los pacientes fueron seronegativos al diagnóstico, y la lesión histológica más común fue MARSH III (78,8%). El 11% de los pacientes presentaron una duodenitis linfocitaria como lesión histológica al diagnóstico. En estos pacientes, se confirmó que la lesión se debía a la presencia de anticuerpos positivos para la EC y/o presencia de alelos de HLA, ausencia de otras causas posibles (parásitos en heces, *Helicobacter pylori*, consumo de antiinflamatorios no esteroideos o sobrecrecimiento bacteriano) y normalización histológica tras la dieta sin gluten. Solo en un caso el diagnóstico de esta enfermedad se basó en la presencia de dermatitis herpetiforme junto a un alelo de riesgo para EC en la determinación del HLA, ya que la biopsia mostró ausencia de lesión histológica duodenal. Al analizar la determinación de HLA, se observó que el 88,3% presentaba una combinación de alelos de riesgo para EC. Cuatro pacientes (4,3%) no presentaba ninguna combinación de estos alelos, y el diagnóstico se basó en la presencia de anticuerpos elevados para esta enfermedad, lesión histológica duodenal grado III-IV de MARSH y la mejoría serológica e histológica tras la retirada del gluten de la dieta. Las

características demográficas, clínicas, analíticas e histológicas al diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio se muestran en la tabla 3.

Al comparar los pacientes con diagnóstico previo de EC y aquellos con diagnóstico de *novo* observamos un predominio de mujeres en ambos grupos (65% y 72,4% respectivamente). La edad media al diagnóstico fue menor en la cohorte de celíacos a DSG  $\geq$  24 meses, ya que se incluyeron pacientes diagnosticados en la infancia, mientras que el grupo con diagnóstico de *novo*, engloba a los pacientes diagnosticados en consulta de adultos (mayores de 14 años). El motivo de consulta más frecuente en ambas cohortes, celíacos a DSG  $\geq$  24 meses y de *novo*, fue la presencia de síntomas, 83,3% y 72,4%, respectivamente. La diarrea fue el síntoma predominante en ambas cohortes (45,6% y 44%), sin embargo la dispepsia y la alteración analítica como motivo de diagnóstico fue más frecuente en los celíacos de *novo* que en los celíacos a DSG  $\geq$  24 meses (32% vs. 16%) y (20,7% vs. 10%) respectivamente. La presentación silente fue más frecuente en los celíacos de *novo* que en los celíacos a dieta sin gluten (14,3% vs. 7,8%), a diferencia de la presentación clásica, más frecuente en la cohorte de celíacos con diagnóstico previo a DSG  $\geq$  24 meses que en los celíacos de *novo* (40,4% vs. 14,3%, ) Del mismo modo el mayor daño histológico (lesión MARSH IV) se observa únicamente en la cohorte de pacientes celíacos con diagnóstico previo y a DSG, teniendo estos pacientes una mediana de edad inferior (17 años, rango 1-46) (Tabla 3).



Tabla 3. Características demográficas, clínicas, analíticas e histológicas al diagnóstico de la enfermedad celíaca en la población de estudio y según cohorte: celíacos a dieta sin gluten al menos 24 meses y celíacos de *novo* que inician DSG a la inclusión.

	TOTAL PACIENTES n=123	EC a DSG ≥ 24 meses n= 94	EC de Novo N= 29
Mujeres, n (%)	82(66,7%)	61 (64,9%)	21 (72,4%)
Edad media al diagnóstico (DE)	29,2 ± 19,2	25,98 ± 19,8	39,59 ± 11,9
Edad media a la inclusión (DE)	38,2 ± 15,8	37,7 ± 16,8	40,1 ± 11,9
<b>Motivo consulta n (%)</b>	<b>n=119</b>		
Síntomas	96 (80,7%)	75/90 (83,3%)	21/29 (72,4%)
Alteración analítica	15 (12,6%)	9/90 (10%)	6/29 (20,7%)
Presencia factores de riesgo	8 (6,7%)	6/90 (6,7%)	2/29 (6,9%)
<b>Factor de riesgo n (%)</b>	<b>n=19</b>		
Familiar primer grado	13 (68,5%)	7/12 (58,3%)	6/7 (85,7%)
Diabetes tipo 1	2 (10,5%)	2/12 (16,7%)	0 (0%)
Otras enfermedades autoinmunes	4 (21%)	3/12 (25%)	1 (14,3%)
<b>Forma de presentación, n (%)</b>	<b>n=117</b>		
Clásica	40 (34,2%)	36/89 (40,4%)	4/28 (14,3%)
No clásica	66 (56,4%)	46/89 (51,6%)	20 (71,4%)
Silente	11 (9,4%)	7/89 (7,8%)	4 (14,3%)
<b>Síntoma predominante, n (%)</b>	<b>n=106</b>		
Diarrea	48 (45,3%)	37/81 (45,6%)	11/25 (44%)
Dispepsia	21 (19,8%)	13/81 (16%)	8/25 (32%)
Dolor abdominal	16 (15,1%)	16/81 (19,7%)	0 (0%)
Retraso crecimiento	8 (7,5%)	7/81 (8,6%)	1/25 (4%)
Otros	13 (12,3%)	8/81 (9,8%)	5/25 (20%)
<b>HLA DQ2/DQ8, n (%)</b>	<b>n=94</b>		
Un alelo de riesgo	83 (88,3%)	60/70 (85,7%)	23/24 (95,8%)
Dos alelos de riesgo	7 (7,4%)	7/70 (10%)	0 (0%)
Ningún alelo de riesgo	4 (4,3%)	3/70 (4,3%)	1/24 (4,2%)
<b>Serología EC, n (%)</b>	<b>n=108</b>		
Positivos	95 (88%)	67/79 (84,8%)	28/29 (96,6%)
Negativo,	13 (12%)	12/79 (15,2%)	1/29 (3,4%)
<b>Lesión histológica, n (%)</b>	<b>n=109</b>		
MARSH 0	1 (0,9%)	1/81 (1,2%)	0 (0%)
MARSH I	12 (11%)	9/81 (11%)	3/28 (10,7%)
MARSH II	1 (0,9%)	0 (0%)	1/28 (3,6%)
MARSH III	86 (78,9%)	62/81 (76,5%)	24/28 (85,7%)
MARSH IV	9 (8,3%)	9/81 (11%)	0 (0%)
Abreviaturas: EC: enfermedad celíaca; DSG: dieta sin gluten.			

#### 4.1.2. Seguimiento en la cohorte de pacientes con diagnóstico previo de celiaquía a dieta sin gluten al menos 24 meses.

Como se muestra en la Figura 7 cuando se estudio la respuesta clínica como método de seguimiento de la adherencia la DSG el 75,5%, 84,5%, 79,7 y 72,6% de los pacientes informaron no haber experimentado síntomas a la inclusión a los 3, 6 y 12 meses de seguimiento, respectivamente. Tras una disminución inicial de los pacientes sintomáticos a la inclusión en el estudio, se observó un progresivo aumento de los mismos durante el seguimiento. En la revisión de los 12 meses se observó un incremento en el porcentaje de los sintomáticos respecto a la revisión de los 3 y 6 meses, incluso ligeramente superior al momento de la inclusión. Por otra parte, el porcentaje de pacientes asintomáticos fue muy similar en la inclusión en el estudio y a los 12 meses de realizarle la revisión.

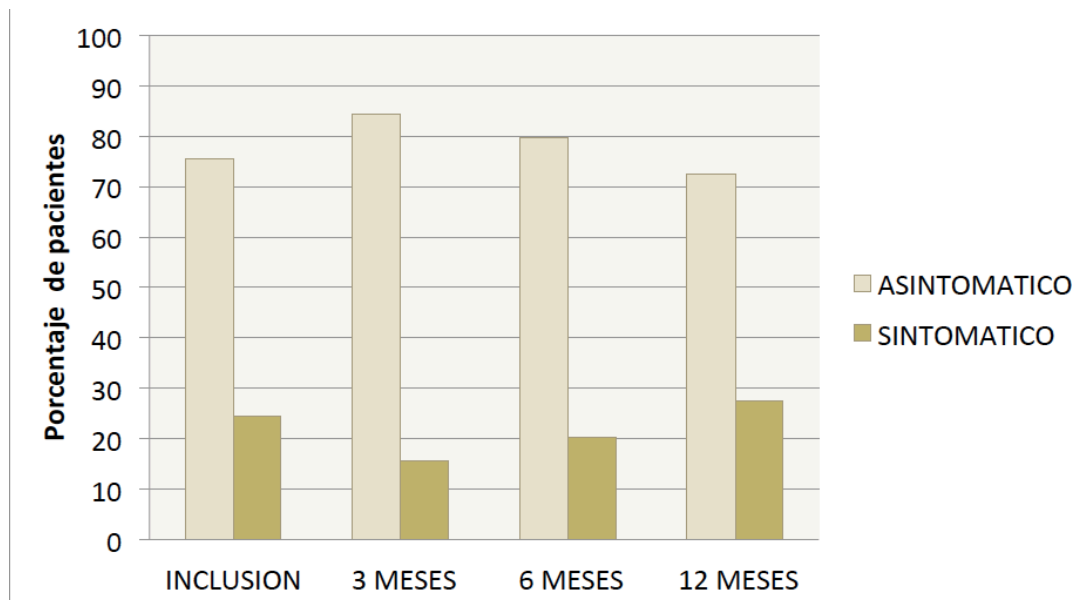


Figura 7. Evolución clínica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos asintomáticos o sintomáticos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses.

Respecto a la serología más del 90% de los pacientes tuvieron anticuerpos negativos para EC y menos del 10% presentaron serología positiva en las tres visitas realizadas (3, 6 y 12 meses) (Figura 8).

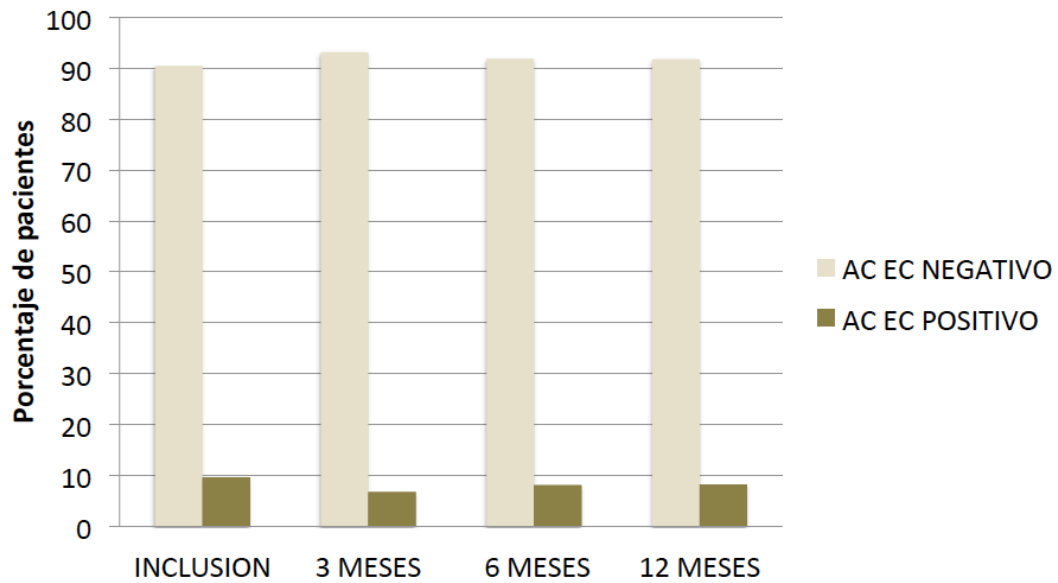


Figura 8. Evolución serológica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celíaca.

Al realizar el cuestionario CDAT de adherencia a la DSG aproximadamente el 80% de los pacientes se consideraban adherentes a la DSG a la inclusión y en las visitas realizadas a los 3 y 6 meses, pero a los 12 meses bajo al 75%. Respecto a los pacientes no adherentes se observó un ligero aumento desde su inclusión en el estudio y durante el seguimiento a los 3, 6 y 12 meses con un 2,2%, 3,8%, 4% y 5,3% respectivamente (Figura 9).

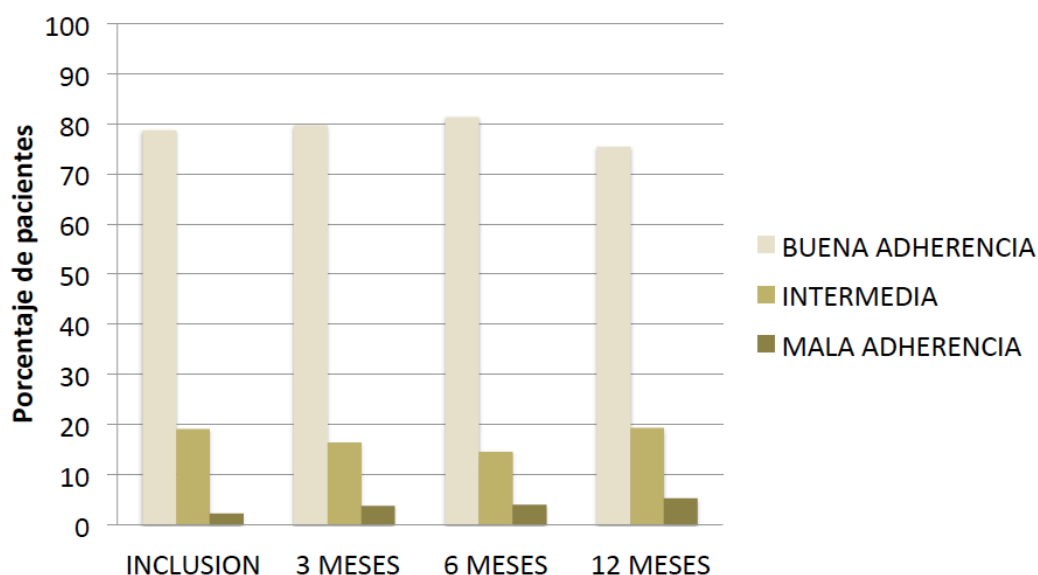


Figura 9. Evolución de la adherencia a la dieta sin gluten según cuestionario CDAT en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con una adherencia buena, intermedia o mala en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses

Se detectó la presencia de GIP en orina de tal manera que teniendo en cuenta la cinética de la eliminación de GIP, descrita por Moreno *et al.* (2017), en este estudio los pacientes fueron instruidos para la recogida de tres muestras de orina con una pauta específica: sábado, domingo y día de la visita médica. Los objetivos para realizar la recogida de las muestras en los

días descritos fueron dobles, en primer lugar, detectar el gluten consumido durante una semana y, en segundo lugar, incluir días en que se espera que las personas puedan transgredir con más frecuencia al consumir alimentos fuera de casa. Se consideró un paciente no cumplidor de la dieta si se detectaba GIP en al menos una de las tres muestras de orina recogidas. Como se observa en la Figura 10 se determinó que el 52%, 48%, 35% y 30% de los pacientes estuvieron expuestos al gluten a la inclusión, 3, 6 y 12 meses, respectivamente, con una disminución en la detección de transgresiones a lo largo del seguimiento (Figura 10). Hay que destacar que los pacientes en la inclusión llevaban al menos dos años a dieta sin gluten y tal como se observa en la figura más de la mitad de ellos seguían cometiendo transgresiones de forma voluntario o involuntaria

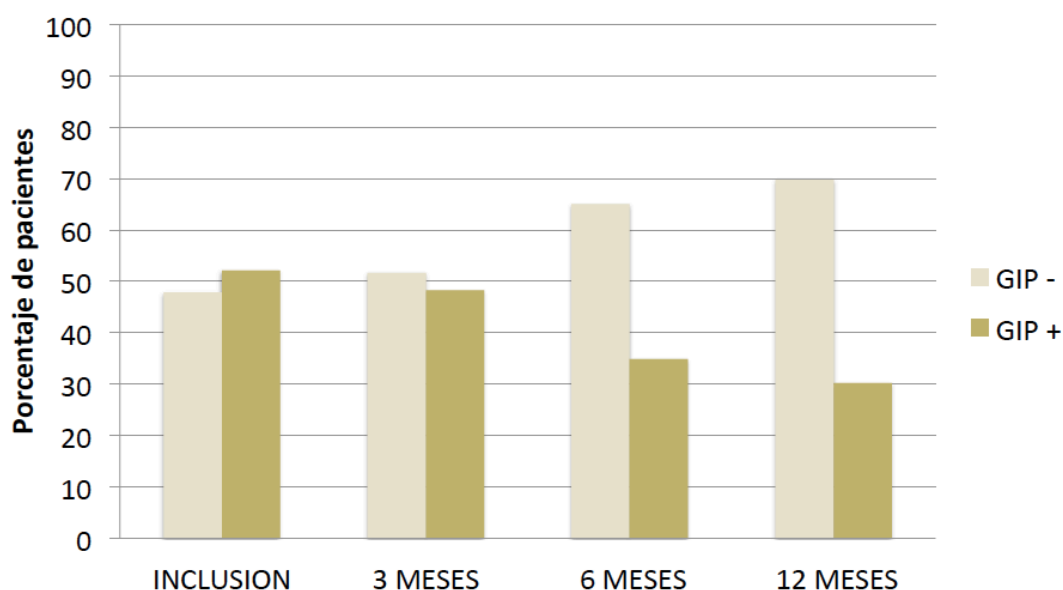


Figura 10. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones (GIP- ) o detección de GIP en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses (GIP +). GIP: Péptido inmunogénico del gluten.

En la Figura 11 se representa el porcentaje de pacientes que tuvieron la determinación de los GIP en orina cuantificables respecto a los que su detección fue visual es decir por debajo del límite de cuantificación de la técnica (< 6,25ng/ml). Como se observa en la figura predominó la detección de GIP visual en todas las revisiones, siendo llamativo el aumento de las detecciones de GIP cuantificables a lo largo del seguimiento que paso del 9,5% a la inclusión de los pacientes en el estudio a aproximadamente el 13% en las distintas visitas.

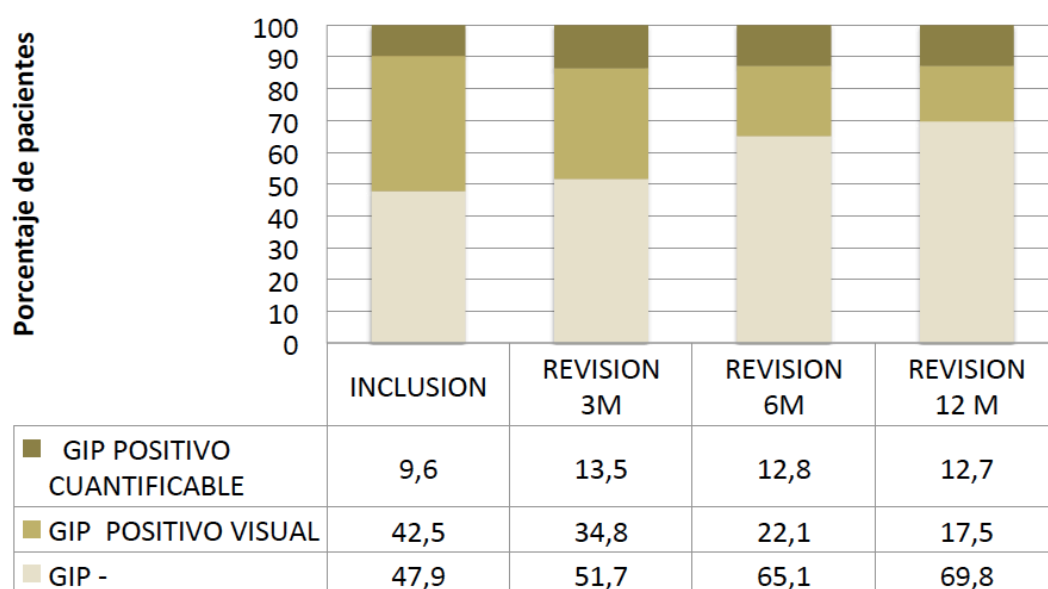


Figura 11. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos acorde a la ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones o la cuantificación de GIP según la detección se encontrara por debajo del límite de cuantificación de la técnica (LQT< 6,25 ng/ml) (GIP visual ) o por encima de este valor (GIP cuantificable) en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses.

En este estudio se determinó también el porcentaje de pacientes que presentaron lesión histológica a la inclusión y a los 12 meses y se comprobó que fue del 26% y del 13%, respectivamente. Como se puede observar el porcentaje de pacientes con lesión histológica disminuyó a lo largo del seguimiento (Figura 12).

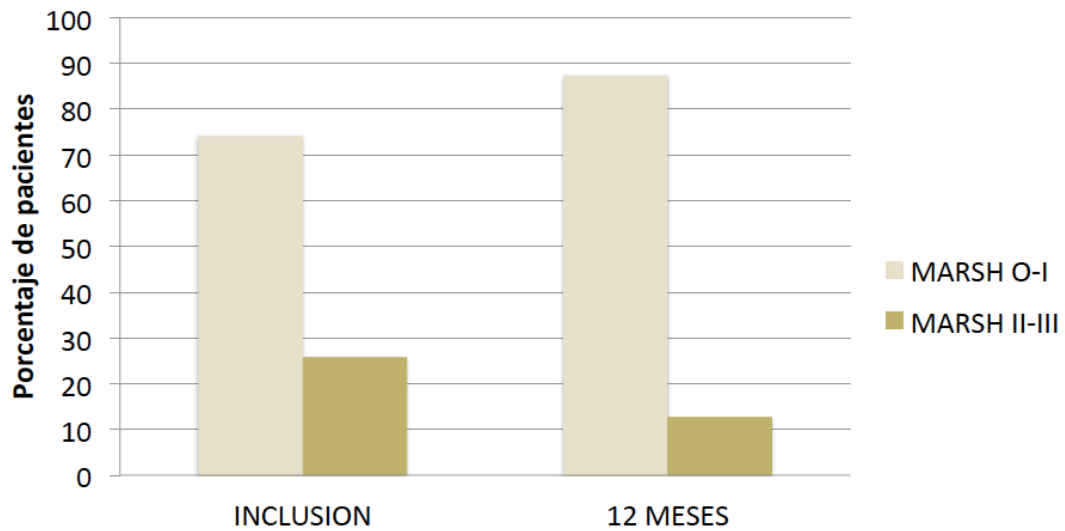


Figura 12. Evolución del grado de lesión histológica según la clasificación de MARSH en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de lesión histológica significativa (MARSH 0-I) y presencia de lesión histológica avanzada (MARSH II-III).

En la Tabla 4 se muestra un resumen de los resultados obtenidos en este apartado respecto a los parámetros clínicos y determinación de GIP en orina de pacientes celíacos que llevaban al menos 24 meses a dieta sin gluten, desde su inclusión en el estudio y las posteriores revisiones realizadas,

Tabla 4. Resultados de situación clínica, serología de enfermedad celiaca, determinación de GIP en orina, cuestionario de adherencia a la dieta sin gluten (CDAT) y lesión histológica en las distintas revisiones del estudio (basal a la inclusión, revisión a 3, 6 y 12 meses) en la cohorte de pacientes con diagnóstico previo de enfermedad celiaca a DSG al menos durante 24 meses.

<b>EC a DSG ≥ 24 MESES (N=94)</b>				
	<b>BASAL</b>	<b>3 MESES</b>	<b>6 MESES</b>	<b>12 MESES</b>
<b>CLINICA n (%)</b>				
Asintomático	71/94 (75,5%)	71/84 (84,5%)	63/79 (79,7%)	45/62 (72,6%)
Sintomático	23/94 (24,5%)	13/84 (15,5%)	16/79 (20,3%)	17/62 (27,4%)
<b>SEROLOGIA , n (%)</b>				
Negativo	85/94 (90,4%)	82/88 (93,2%)	79/86 (91,9%)	56/61 (91,8%)
Positivo	9/94 (9,6%)	6/88 (6,8%)	7/86 (8,1%)	5/61 (8,2%)
<b>GIP ORINA, n (%)</b>				
Negativo	45/94 (47,9%)	46/89 (51,7%)	56/86 (65,1%)	44/63 (69,8%)
Positivo	49/94 (52,1%)	43/89 (48,3%)	30/86 (34,9%)	19/63 (30,2%)
<b>CDAT, n (%)</b>				
Adherente	70/89 (78,7%)	63/79 (79,7%)	61/75 (81,3%)	43/57 (75,4%)
Indeterminado	17/89 (19,1%)	13/79 (16,4%)	11/75 (14,6%)	11/57 (19,3%)
No adherente	2/89 (2,2%)	3/79 (3,8%)	3/75 (4%)	5/57 (5,3%)
<b>LESION HISTOLOGICA, n (%)</b>				
MARSH 0-I	69/93 (74,2%)	--	--	55/63 (87,3%)
MARSH II-IV	24/93 (25,8%)	--	--	8/63 (12,7%)
Abreviaturas: GIP : péptido inmunogénico del gluten; CDAT: cuestionario adherencia a dieta sin gluten.				

Al analizar conjuntamente la evolución de los parámetros de control de adherencia a la DSG se observó que se producía una mejoría de la lesión histológica desde la inclusión a la revisión de los 12 meses. De igual manera, disminuía el porcentaje de detecciones de GIP en orina, si bien permanecía constante el número de pacientes con detección de anticuerpos para EC al igual que aquellos que se no consideraban adherente por CDAT a la DSG. En cuanto a la persistencia de síntomas, si bien había una mejoría inicial, al



final del seguimiento, aumentaba el porcentaje de pacientes con síntomas. Por lo tanto, según los resultados de determinación de GIP en la orina ni el hecho de que los pacientes tuvieran resultados serológicos positivos, ni que fueran sintomáticos, ni que refirieran tener una mala adherencia a la DSG mediante CDAT, implicaba que un porcentaje muy importante de ellos no hubieran consumido gluten y que no estaban expuestos, por lo tanto, a desarrollar lesiones histológicas y complicaciones a largo plazo (Figura 13).

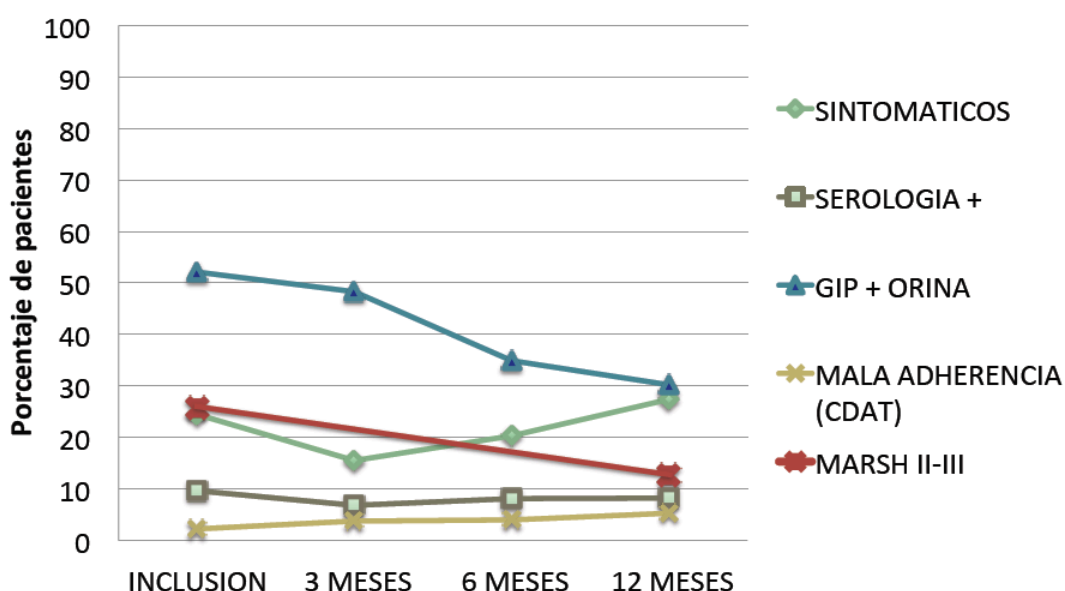


Figura 13. Evolución de los distintos parámetros de control de la adherencia a la dieta sin gluten y la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con persistencia de síntomas, presencia de anticuerpos de EC (serología +), detección de GIP en orina, mala adherencia por cuestionario CDAT y lesión histológica avanzada (MARSH II-III) en el momento de la inclusión y a la revisión a 3, 6 y 12 meses.

#### 4.1.3. Seguimiento de la cohorte de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión.

En la cohorte de pacientes que fueron diagnosticados de *novo* de EC y que iniciaron una DSG a la inclusión observamos una mejoría de la sintomatología a lo largo de las distintas visitas a los 3, 6 y 12 meses, aunque al final del seguimiento el 30% de estos pacientes presentaban persistencia de síntomas (Figura 14).

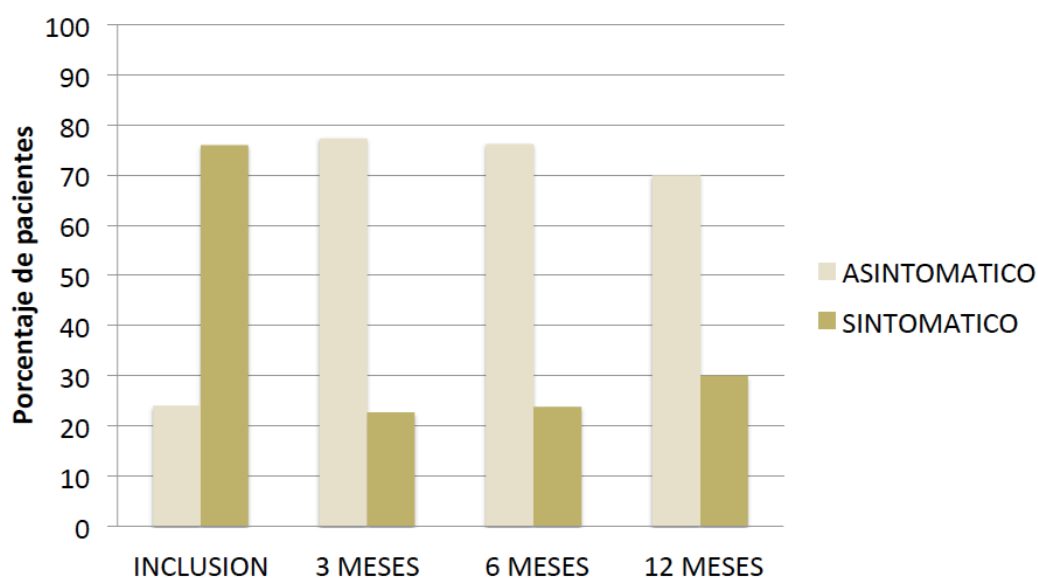


Figura 14. Evolución clínica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos asintomáticos o sintomáticos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses.

Respecto a la serología, tal como se puede apreciar en la Figura 15, hubo mejoría en los niveles de los anticuerpos con progresiva negativización de anticuerpos de enfermedad celiaca en el seguimiento con un 52% y un 71% a los 3 y 6 meses, respectivamente, siendo negativos al final del estudio en el 85% de los pacientes.

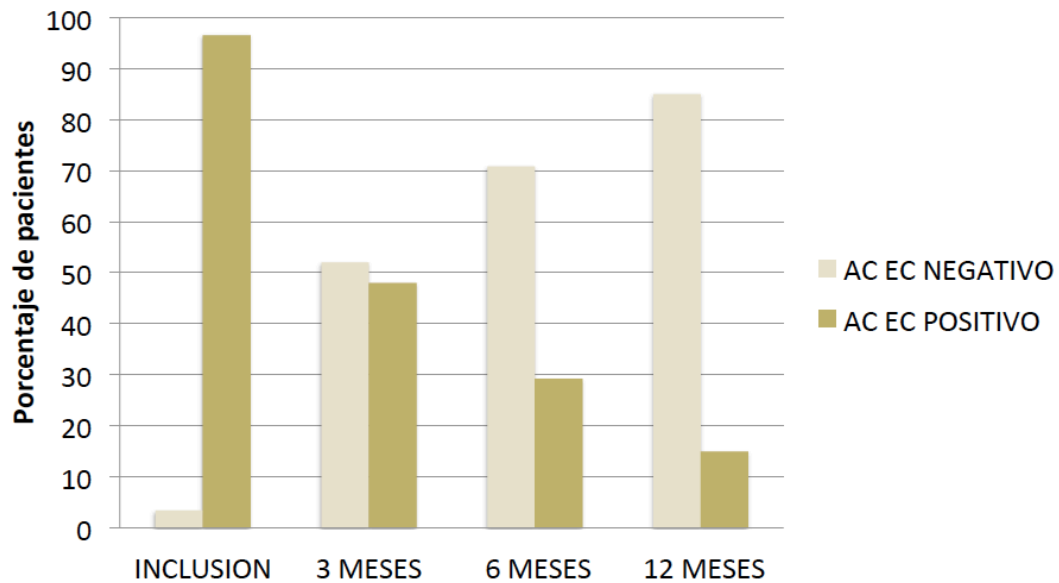


Figura 15. Evolución serológica en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca.

En la Figura 16 se muestran que el 50%, 77%, 64% y 60% de los pacientes referían una buena adherencia a la dieta sin gluten a la inclusión y a los 3, 6 y 12 meses de la revisión, respectivamente. Se observa un porcentaje alto de pacientes que se consideran adherentes desde el inicio de la DSG, aumentando a lo largo del seguimiento, si bien esta percepción de control de adherencia disminuye ligeramente al final de seguimiento. Destacar que en las visitas realizadas por los pacientes a los 6 y 12 meses ninguno de ellos declaró una mala adherencia a la dieta.

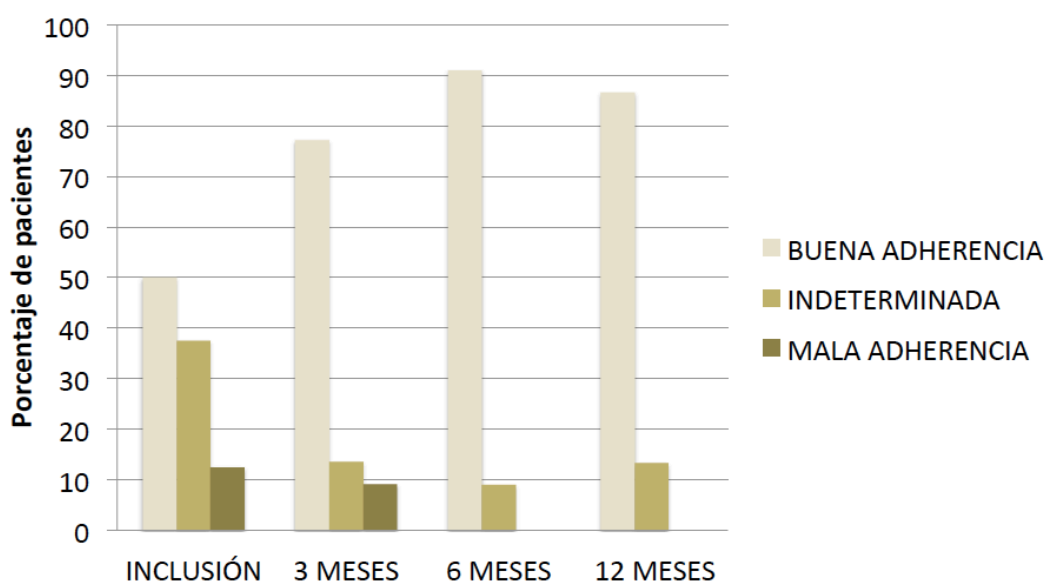


Figura 16. Evolución de la adherencia a la dieta sin gluten según cuestionario CDAT en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con una adherencia buena, intermedia o mala en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses.

Finalmente se evaluó el grado de cumplimiento de la DSG mediante 3 medidas de GIP en orina durante 7 días, incluyendo el fin de semana. Se detectó GIP en orina en el 96,6% (28/29) de los pacientes a la inclusión, momento en que se encontraban con gluten en la dieta. Sin embargo, se observó una disminución progresiva de la detección de GIP en el seguimiento del 52% al 36% a los 3 y 6 meses, respectivamente. En cambio, a los 12 meses en el 40% de los pacientes se detectó GIP en orina, lo que demuestra un ligero incremento en la transgresión de la dieta respecto a la visita a los 6 meses (Figura 17). Estos resultados demuestran que a pesar de que los pacientes llevaban más de un año a DSG aun siguen incumpléndola, de forma voluntaria o involuntaria, y pueden estar expuestos a desarrollar lesiones histológicas y complicaciones a largo plazo.

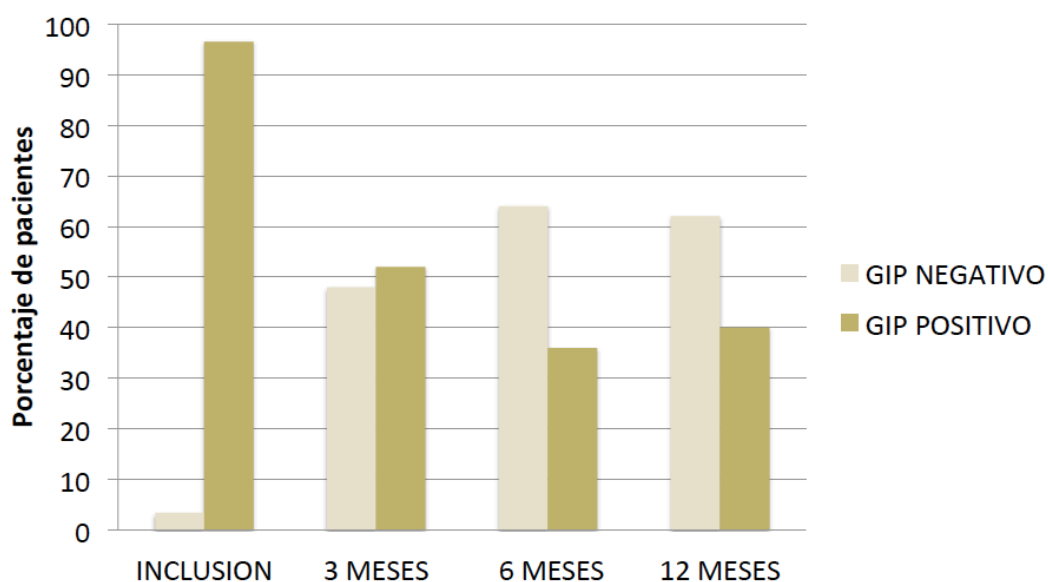


Figura 17. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones (GIP-) o detección de GIP en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses (GIP+). GIP: Péptido inmunogénico del gluten.

En esta cohorte, a diferencia de la de pacientes celíacos que llevaban al menos 24 meses a DSG, predominó la detección de GIP cuantificable (>6,25 ng/ml) en orina, respecto a los que fueron GIP positivos pero por debajo del límite de cuantificación de la técnica (<6,25ng/ml). Como se muestra en la Figura 18, el porcentaje de pacientes en los que la detección fue cuantificable a lo largo del seguimiento fue disminuyendo. En el momento de la inclusión la mayoría (82,7%) estaban consumiendo una cantidad de gluten que permitió la cuantificación de los GIP en sus orinas. Este resultado era esperable ya que el paciente estaba recién diagnosticado de EC y para que las técnicas diagnósticas de EC sean válidas, y no tener falsos negativos, es necesario que el paciente esté consumiendo gluten. En contraste, en las visitas a los 3 y 6 meses el porcentaje de pacientes con GIP cuantificable en orina fue disminuyendo al 32%, con el mismo porcentaje en ambas revisiones, y del 25% a los 12 meses.

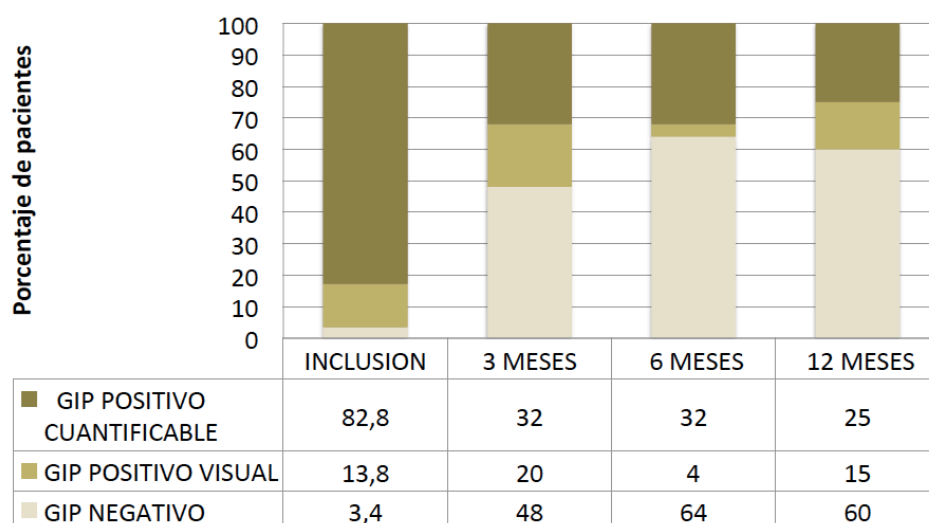


Figura 18. Evolución de la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos acorde a la ausencia de detección de GIP en todas las orinas de cada una de las revisiones (GIP negativo) o la cuantificación de GIP según la detección se encontrara por debajo del límite de cuantificación de la técnica (LQT < 6,25 ng/ml) (GIP visual) o por encima de este valor (GIP cuantificable) en algunas de las orinas en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses.

Respecto a la lesión histológica se observó mejoría de la misma, presentando atrofia vellositaria el 89,7% de los pacientes a la inclusión y el 45% a los 12 meses (Figura 19)

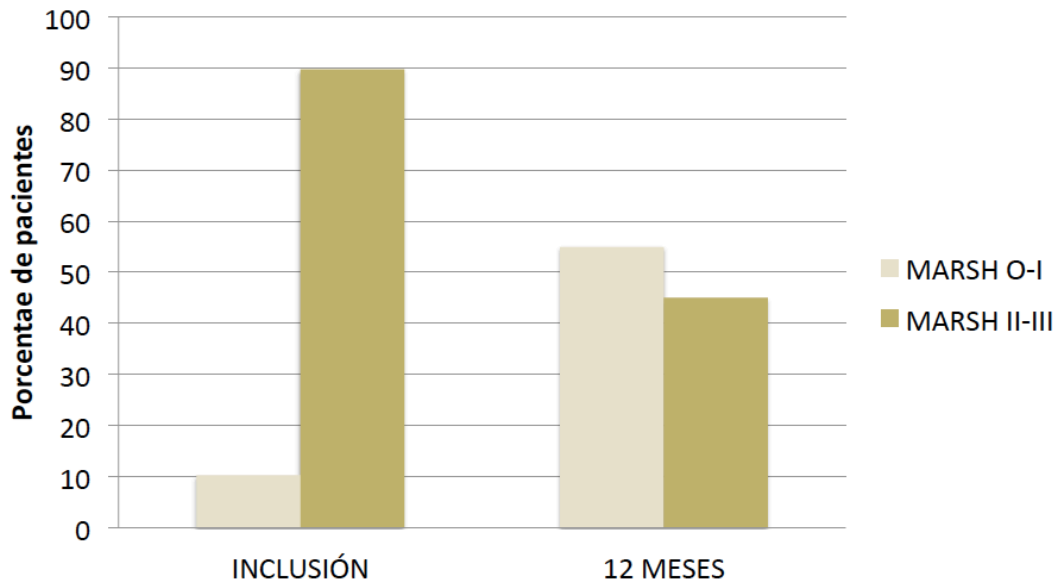


Figura 19. Evolución del grado de lesión histológica según la clasificación de MARSH en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con ausencia de lesión histológica significativa (MARSH 0-I) y presencia de lesión histológica avanzada (MARSH II-III).

En la Tabla 5 se muestra un resumen de los resultados obtenidos en este apartado respecto a los parámetros clínicos y determinación de GIP en orina de pacientes celíacos con diagnóstico de *novo* e inicio de DSG a la inclusión en las distintas revisiones del estudio.

Tabla 5. Resultados de situación clínica, serología de enfermedad celiaca, determinación de GIP en orina, cuestionario de adherencia a la dieta sin gluten (CDAT) y lesión histológica en las distintas revisiones del estudio (basal a la inclusión, revisión a los 3, 6 y 12 meses) en la cohorte de pacientes con diagnóstico de *novo* e inicio de DSG a la inclusión.

<b>EC DE NOVO (n=29)</b>				
	<b>BASAL</b>	<b>3 MESES</b>	<b>6 MESES</b>	<b>12 MESES</b>
<b>CLINICA, n (%)</b>				
Asintomático	7/29 (24%)	17/22 (77,3%)	16/21 (76,2%)	14/20 (70%)
Sintomático	22/29 (76%)	5/22 (22,7%)	5/21 (23,8%)	6/20 (30%)
<b>SEROLOGIA, n (%)</b>				
Negativo	1/29 (3,4%)	13/25 (52%)	17/24 (70,8%)	17/20 (85%)
Positivo	28/29 (96,6%)	12/25 (48%)	7/24 (29,2%)	3/20 (15%)
<b>GIP ORINA, n (%)</b>				
Negativo	1/29 (3,4%)	12/25 (48%)	16/25 (64%)	12/20 (60%)
Positivo	28/29 (96,6%)	13/25 (52%)	9/25 (36%)	8/20 (40%)
<b>CDAT, n (%)</b>				
Adherente	12/24 (50%)	17/22 (77,2%)	20/22 (91%)	13/15 (86,6%)
Indeterminado	9/24 (37,5%)	3/22 (13,6%)	2/22 (9%)	2/15 (13,4%)
No adherente	3/24 (12,5%)	2/22 (9,1%)	-	-
<b>LESION HISTOLOGICA, n (%)</b>				
MARSH 0-I	3/29 (10,3%)			11/20 (55%)
MARSH II-IV	26/29 (89,7%)			9/20(45%)
Abreviaturas: GIP : péptido inmunogénico del gluten; CDAT: cuestionario adherencia a dieta sin gluten.				

Al analizar conjuntamente la evolución de los distintos parámetros de control de adherencia a la DSG se observó una mejoría de la lesión histológica y una disminución de la detección de anticuerpos de enfermedad celiaca, siendo positivos sólo en el 15% de los pacientes al final del seguimiento. De igual manera hubo una disminución en la detección de GIP en orina, si bien al final del seguimiento continuó detectándose GIP en el 40% de los pacientes. El inicio de la DSG indujo una mejoría clínica con



disminución de los pacientes sintomáticos, observando a lo largo de la evolución, aunque un aumento del porcentaje de pacientes que presentaban síntomas respecto a revisiones previas (30% al final del seguimiento).

Por lo tanto, y según los resultados de determinación de GIP en la orina, ni el hecho de que los pacientes tuvieran resultados serológicos positivos, ni que fueran sintomáticos, ni que refirieran tener una mala adherencia a la DSG mediante CDAT, implicaba que un porcentaje muy importante de ellos no hubieran consumido gluten y que no presentaran lesiones histológicas (Figura 20). Resultados similares se han obtenido en los pacientes que llevaban al menos 24 meses a DSG.

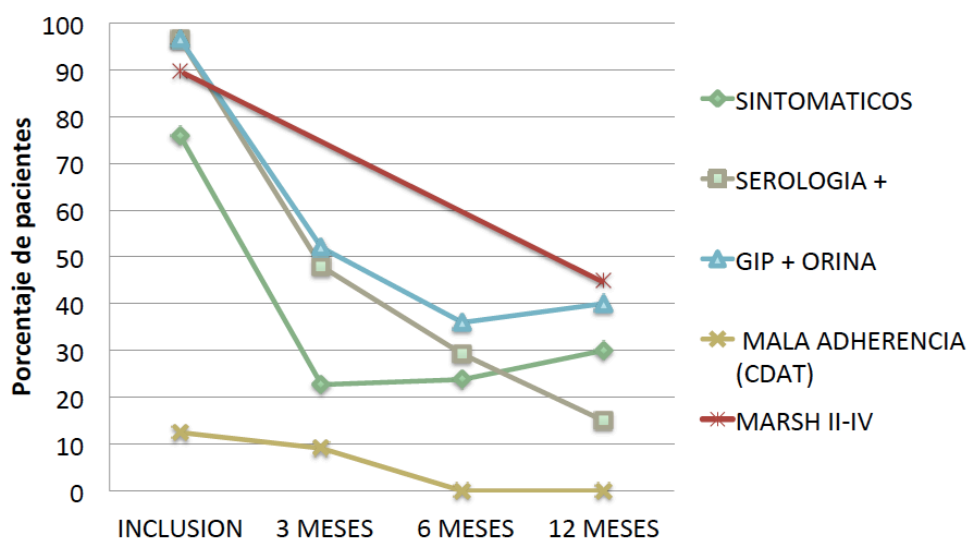


Figura 20. Evolución de los distintos parámetros de control de la adherencia a la dieta sin gluten y la determinación de GIP en orina en el seguimiento de pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con persistencia de síntomas, presencia de anticuerpos de EC (serología +), detección de GIP en orina, mala adherencia por cuestionario CDAT y lesión histológica avanzada (MARSH II-III) en el momento de la inclusión y a la revisión a 3, 6 y 12 meses.

## **4.2. Concordancia entre el grado de lesión histológica y la presencia de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celiaca en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo**

### **4.2.1. Concordancia entre el grado de lesión histológica y detección de GIP en la orina en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo**

Se estudió si existía concordancia entre la detección de GIP en orina y el grado de lesión histológica en la cohorte de pacientes durante al menos 24 meses a DSG desde la inclusión. Como se muestra en la Figura 21, se observó una disminución en las transgresiones, medidas en determinaciones de GIP en 3 orinas recogidas en una semana, en las distintas revisiones (52,7%, 43,4%, 32,7% y 23,4% a la inclusión, 3, 6 y 12 meses, respectivamente) en los pacientes con ausencia de atrofia vellositaria a los 12 meses desde el seguimiento. Por lo tanto, el análisis de GIP en orina es un método preciso que permite la detección de la exposición a cantidades muy pequeñas de gluten, las cuales, si no son muy frecuentes, probablemente no induzcan una lesión histológica en pacientes tratados. De esta forma, en aquellos pacientes con determinaciones negativas de GIP de forma reiterada en sus revisiones médicas, se podría considerar, con un alto grado de seguridad, que cumplen la dieta y, por consiguiente, que no presentan lesiones histológicas.

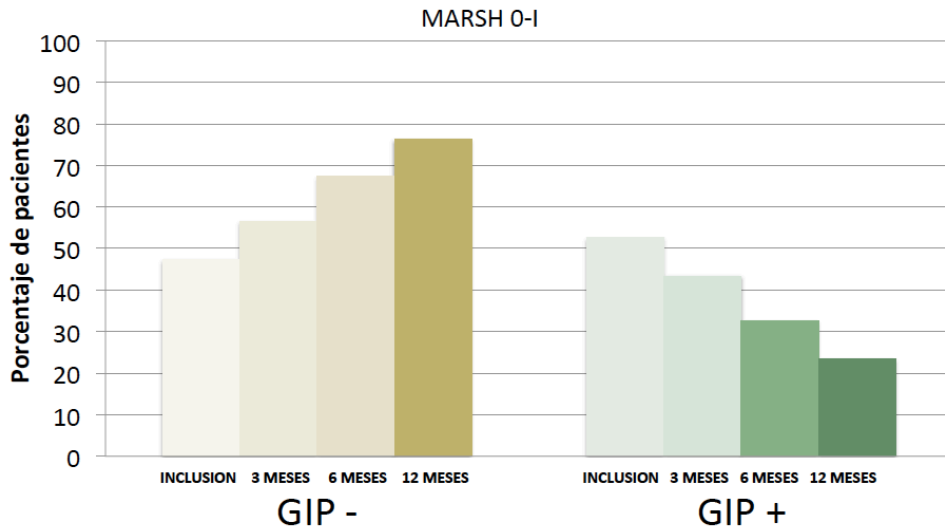


Figura 21. Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses.

Por otro lado, en aquellos que mantenían atrofia vellositaria a los 12 meses de la inclusión, las transgresiones se mantuvieron constante a lo largo del seguimiento (75% a la inclusión, 3 y 12 meses) (Figura 22).

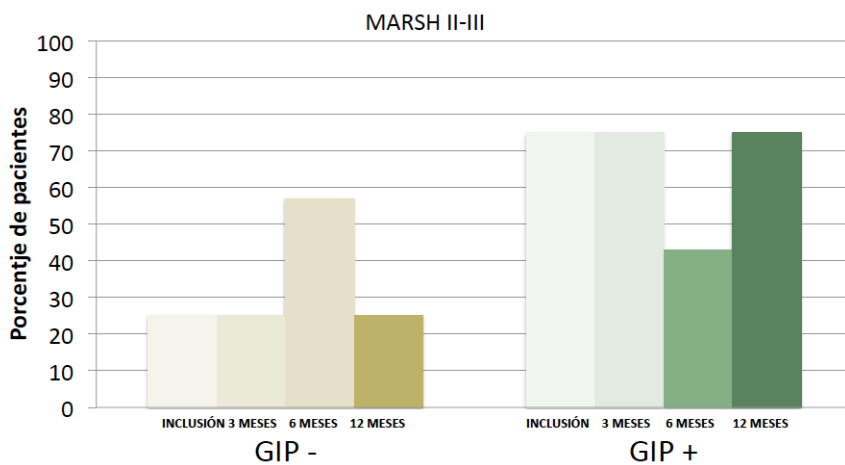


Figura 22. Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses.

En los pacientes celíacos de *novo* con ausencia de lesión histológica a los 12 meses de la inclusión, la detección de transgresiones en la dieta, medidas en determinaciones de GIP en 3 orinas recogidas en una semana, fue disminuyendo desde el 100% de detección a la inclusión, cuando mantenían consumo de gluten, a 54,5%, 36,4% y 27,3% a los 3, 6 y 12 meses, respectivamente) (Figura 23). Según los resultados obtenidos en las dos cohortes de pacientes del estudio clínico prospectivo realizado la medida de GIP en 3 muestras de orina durante 7 días, incluido el fin de semana, durante las visitas de revisión podría ser la mejor opción para confirmar la adherencia a la DSG y la ausencia de daño histológico.

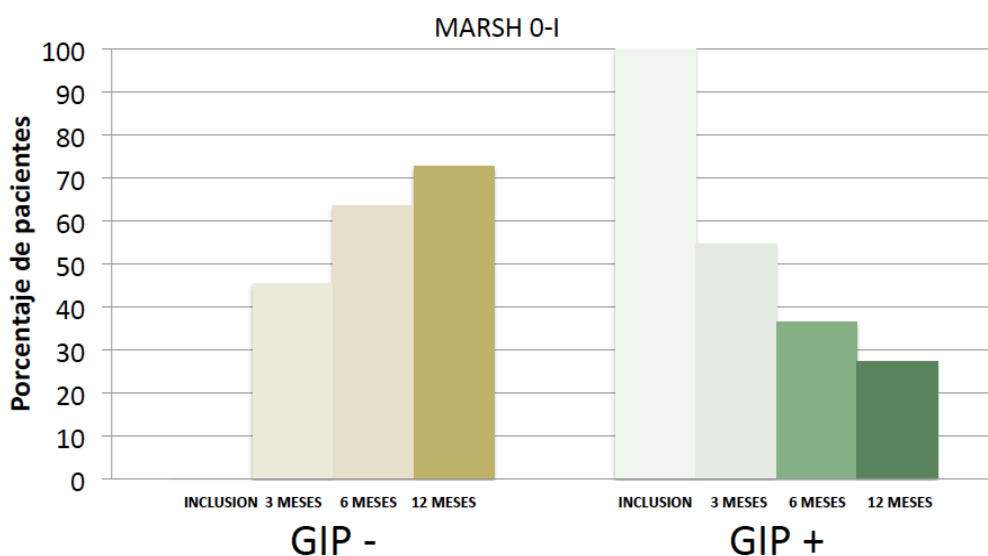


Figura 23 Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses.

En cambio, tal como se muestra en la Figura 24 en aquellos pacientes de esta cohorte que en la revisión histológica de los 12 meses mantenían atrofia vellositaria, la detección de transgresiones en la dieta, descendió de un 89% a la inclusión (momento en el que mantenían consumo de gluten en la dieta), para mantenerse estable en torno al 45-55% de transgresiones en las revisiones posteriores a los 3, 6 y 12 meses.

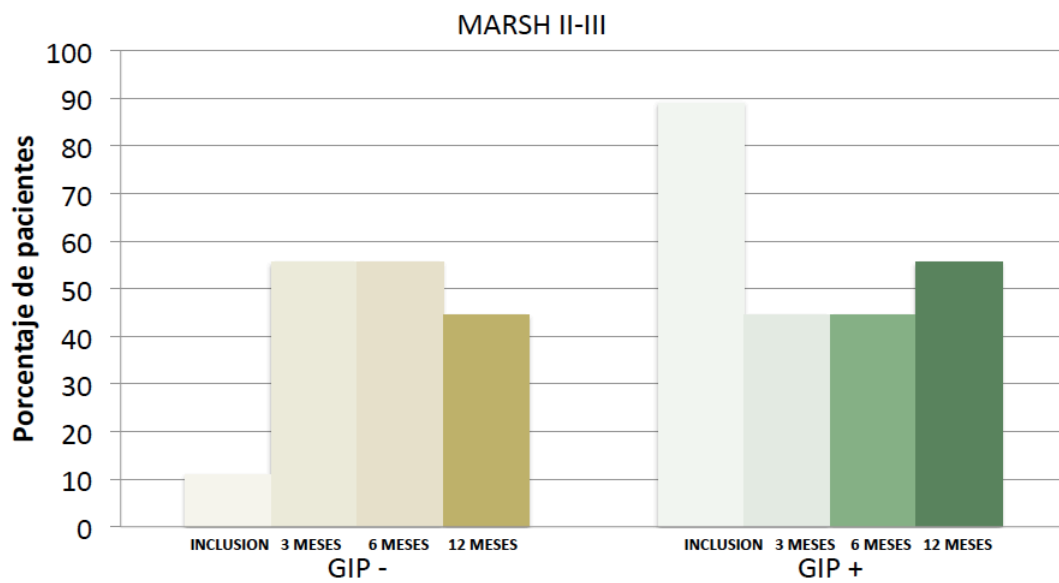


Figura 24. Evolución de las determinaciones de GIP en orina en los pacientes con diagnóstico de *novo* de celiaquía e inicio de dieta sin gluten a la inclusión y presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes con ausencia de detección de GIP en ninguna de las orinas recogidas (GIP -) y con detección de GIP en algunas de las orinas recogidas (GIP +) en el momento de la inclusión, a los 3, 6 y 12 meses.

#### 4.2.2. Concordancia entre el grado de lesión histológica y la presencia de anticuerpos de enfermedad celiaca en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo

Se correlacionó la presencia de anticuerpos de enfermedad celiaca en las distintas revisiones con el grado de lesión histológica a los 12 meses desde la inclusión en ambas cohortes. En la de pacientes celiacos durante al menos 24 meses con DSG y con ausencia de atrofia vellositaria a los 12 meses, en torno al 94% tuvieron anticuerpos antitransglutaminasa negativos, tanto en la inclusión como en las visitas de revisión a los 3, 6 y 12 meses (Figura 25). Respecto a los pacientes con atrofia vellositaria, los anticuerpos fueron negativos en el 75-85% de los pacientes en la inclusión y en las distintas visitas (Figura 26). Estos resultados demuestran la falta de eficacia de los anticuerpos como marcadores para monitorizar la DSG.

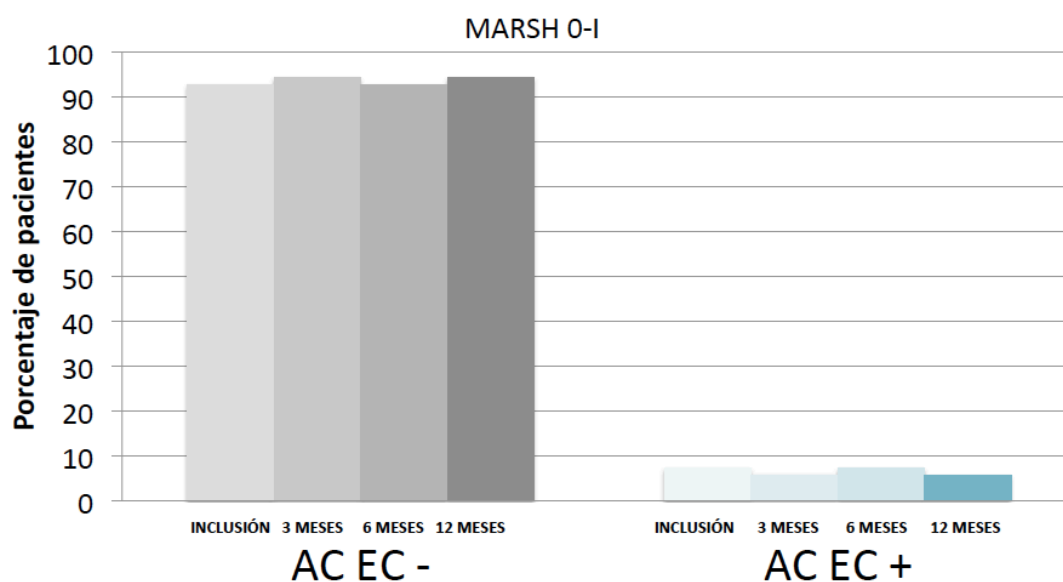


Figura 25. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celiaca en pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celiacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca.

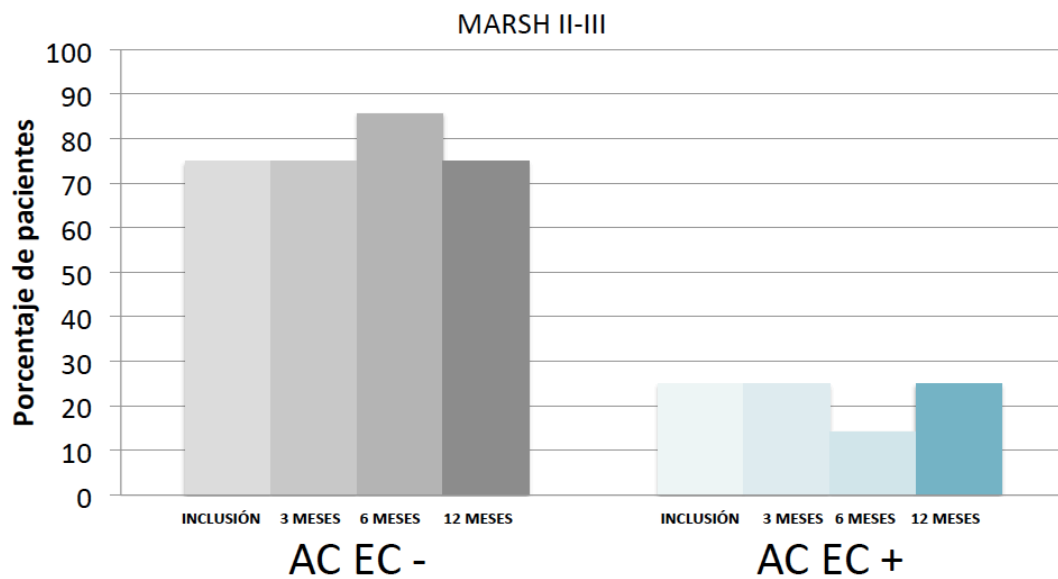


Figura 26. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celiaca en pacientes con diagnóstico previo de EC a dieta sin gluten durante al menos 24 meses y presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celíacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca.

En la cohorte de pacientes celíacos de *novo*, se observó que los que tenía ausencia de atrofia vellositaria a los 12 meses desde la inclusión, los anticuerpos pasaban de ser positivos en el 100% coincidiendo con el diagnóstico de la enfermedad a no detectarse en ningún paciente al final del seguimiento (Figura 27). Mientras que en la misma cohorte de pacientes, pero con persistencia de atrofia vellositaria a los 12 meses desde la inclusión, los anticuerpos de enfermedad celiaca persistían positivos en el 33% de los pacientes al final del seguimiento (Figura 28).

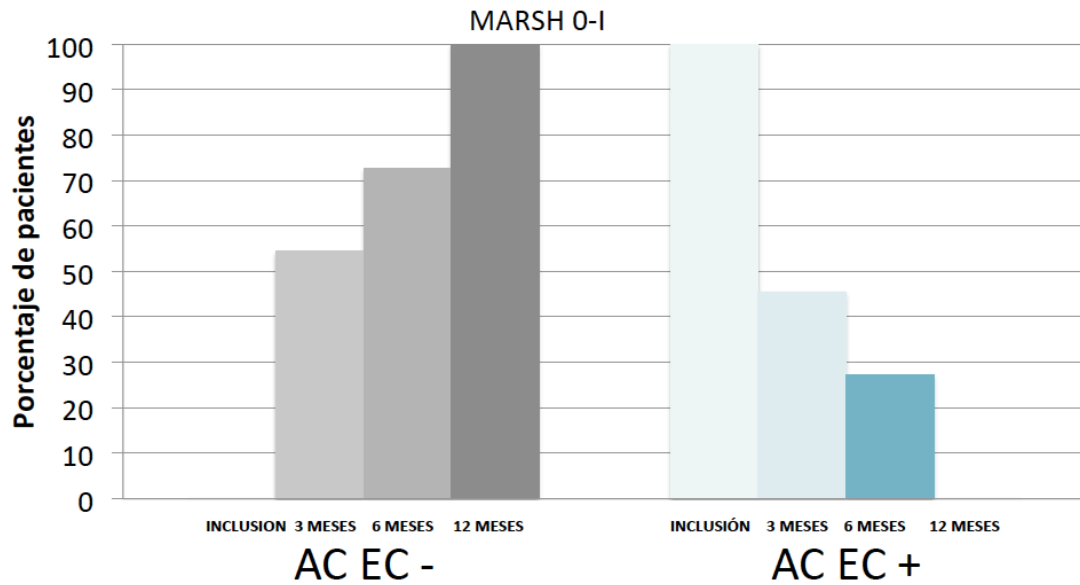


Figura 27. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celiaca en pacientes con diagnóstico de *novo* de celiacía, inicio de dieta sin gluten a la inclusión y ausencia de lesión histológica significativa MARSH 0-I a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celiacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca.

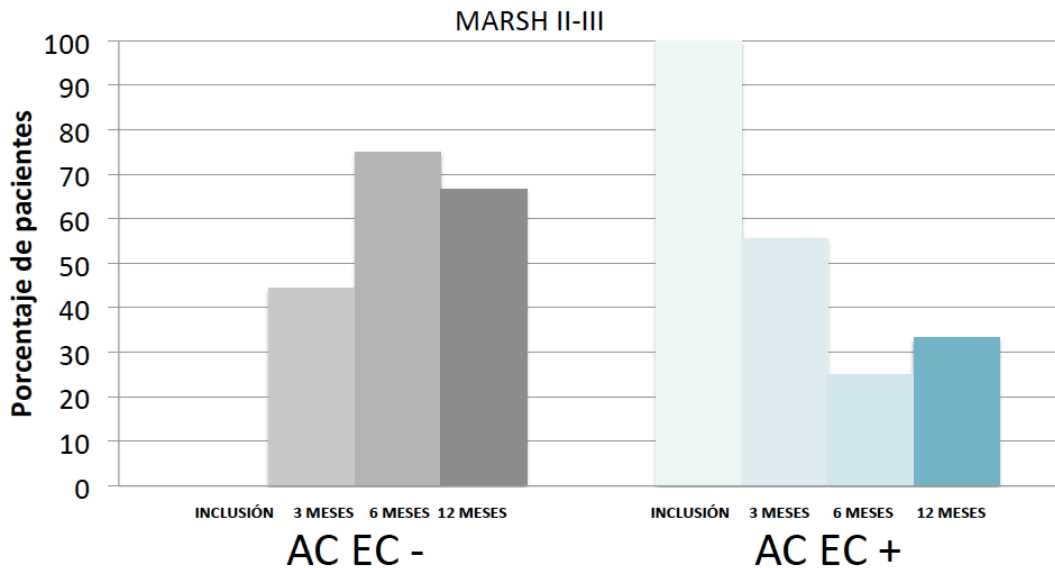


Figura 28. Evolución de las determinaciones de anticuerpos de enfermedad celiaca en pacientes con diagnóstico de *novo* de celiacía, inicio de dieta sin gluten a la inclusión con presencia de lesión histológica avanzada MARSH II-III a los 12 meses. Representación del porcentaje de pacientes celiacos con anticuerpos de EC positivos o negativos en el momento de la inclusión en el estudio y durante las revisiones a los 3, 6 y 12 meses. AC: anticuerpos, EC: Enfermedad celiaca



En la Tabla 6, se muestra un resumen de los resultados obtenidos en este apartado respecto a la relación entre el grado de lesión histológica y la detección de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celiaca positivos en las dos cohortes de pacientes. En aquellos que llevaban más de 24 meses a DSG y no tenían lesión histológica significativa, se detecto GIP en orina en menor porcentaje que aquellos que si tuvieron lesión duodenal avanzada, en ambos casos, la determinación de anticuerpos de enfermedad celiaca detecto un menor numero de transgresiones.

Tabla 6. Resultados del análisis de las determinaciones de GIP positivos y serología de enfermedad celiaca positiva según grado de lesión histológica en cada cohorte.

EC a DSG > 24m					
		INCLUSION	3 MESES	6 MESES	12 MESES
MARSH 0-I	GIP + n (%)	29/55 (42,7%)	23/53 (43,4%)	18/55 (32,7%)	13/55 (23,6%)
	AC EC + n (%)	4/55 (7,3%)	3/52 (5,8%)	4/55 (7,3%)	3/53 (5,7%)
MARSH II-III	GIP + n (%)	6/8 (75%)	6/8 (75%)	3/7 (42,9%)	6/8 (75%)
	AC EC + n (%)	2/8 (25%)	2/8 (25%)	1/7 (14,3%)	2/8 (25%)
EC DE NOVO					
MARSH 0-I	GIP + n (%)	11/11 (100%)	6/11 (54,5%)	4/11 (36,4%)	3/11 (27,3)
	AC EC + n (%)	11/11 (100%)	5/11 (45,5%)	3/11 (27,3%)	0/11 (0%)
MARSH II-III	GIP + n (%)	8/9 (88,9%)	4/9 (44,4%)	4/9 (44,4%)	5/9 (55,6%)
	AC EC + n (%)	9/9 (100%)	5/9 (55,6%)	2/8 (25%)	3/9 (33,3%)
Abreviaturas: EC: Enfermedad celiaca, AC: anticuerpo, GIP: péptido inmunogénico del gluten.					

### 4.3. Correlación de la persistencia de síntomas, la serología de la enfermedad celiaca y el cuestionario de adherencia a la DSG con la lesión histológica a los 12 meses del seguimiento en el global de la población a estudio.

Como se observa en la Tabla 7 cuando se estudio la correlación entre el grado de lesión histológica y la sintomatología del total de pacientes incluidos en el estudio, no se obtuvo relación estadísticamente significativa entre la persistencia de síntomas y de atrofia vellositaria en ninguna de las revisiones realizadas ( $p > 0,05$ ). Resultados similares se obtuvieron entre la presencia de una mala adherencia a la dieta según cuestionario CDAT y la persistencia de atrofia vellositaria ( $p > 0,05$  a la inclusión, 6 y 12 meses). (Tabla 8).

Tabla 7. Correlación de la persistencia de síntomas con el grado de lesión histológica a los 12 meses de la inclusión en el global de la población a estudio.

PERSISTENCIA DE SINTOMAS EN EL GOBLAL DE PACIENTES.					
VISITA	MARSH		P	RP	IC (95%)
	0-I	II-III			
INCLUSIÓN (n=83)	19 (28,8%)	8 (47,1%)	0,127	0,54	0,23-1,24
3 MESES (n=77)	10 (16,4%)	4 (25%)	0,472	0,66	0,25-1,76
6 MESES (n=77)	13 (20,6%)	4 (28,6%)	0,371	0,708	0,25-1,98
12 MESES (N=61)	18 (27,3%)	5 (31,2%)	0,76	0,85	0,33-2,19

Abreviatura: RP: Razón de probabilidades

**Tabla 8. Correlación de la adherencia a la dieta por cuestionario y el grado de lesión histológica en el global de la población a estudio.**

PRESENCIA DE MALA ADHERENCIA POR CDAT EN EL GLOBAL DE PACIENTES.			
VISITA	MARSH		P
	0-I	MARSH II-III	
INCLUSIÓN (n=79)	3 (4,8%)	0 (0%)	0,407
3 MESES (n=78)	1 (1,6%)	3 (17,6%)	0,037
6 MESES (n=77)	2 (3,3%)	0 (0%)	0,458
12 MESES (n=75)	1 (1,7%)	0 (0%)	0,146

Abreviaturas: CDAT: cuestionario de adherencia a DSG

Tal como se muestra en la Tabla 9 al analizar la correlación entre la presencia de anticuerpos elevados de enfermedad celiaca con la persistencia de atrofia vellositaria si se obtuvo diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) a la inclusión, 3 y 12 meses pero no a los 6 meses.

**Tabla 9. Correlación de la presencia de anticuerpos elevados de enfermedad celiaca y el grado de lesión histológica en el global de la población a estudio.**

PRESENCIA DE ANTICUERPOS ELEVADOS DE ENFERMEDAD CELIACA EN EL GLOBAL DE PACIENTES					
VISITA	MARSH		P	RP	IC (95%)
	0-I	MARSH II-III			
INCLUSIÓN (n=83)	15 (22,7%)	11 (64,7%)	0,002	4,02	1,66-9,69
3 MESES (n=80)	8 (12,7%)	7 (41,2%)	0,014	3,03	1,32-6,65
6 MESES (n=81)	7 (10,6%)	3 (20%)	0,31	1,77	0,61-5,21
12 MESES (n=81)	3 (4,7%)	5 (29,4%)	0,009	3,8	1,81-8,01

Abreviaturas: AC EC : anticuerpos de enfermedad celiaca, RP: Razón de probabilidades.

#### **4.4. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina con el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento en el global de pacientes y según cohorte.**

Se calculó el porcentaje de transgresiones por paciente como el número total de determinaciones de orina positivas para los GIP, entre el número total de determinaciones de orina realizadas por el paciente en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses). Como ya ha sido indicado los pacientes fueron instruidos para la recogida de tres muestras de orina con una pauta específica: sábado, domingo y día de la visita médica.

Conforme se muestra en la Figura 29 se correlacionó el porcentaje de transgresiones en el global de pacientes, con el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento. Se observó que el porcentaje medio de transgresiones ( $M \pm DE$ ) en los pacientes con atrofia vellositaria fue mayor que en los que no presentaban lesión histológica significativa  $40,2 \pm 30,1$  (IC95% 24,7-55,6) vs.  $21,6 \pm 18,4$  (IC95% 17,1-26,2) siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,002$ ).

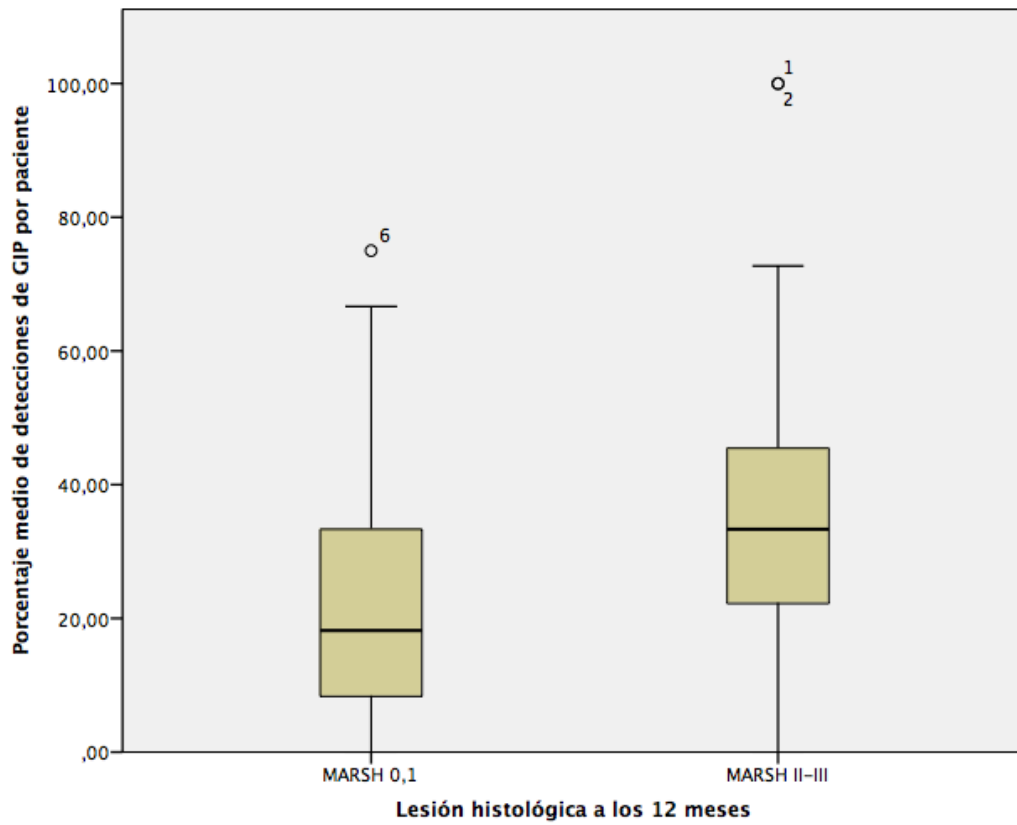


Figura 29. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en el global de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo.

Con el fin de comprobar si la visita de los 3 meses se podría obviar en el seguimiento del paciente celiaco, se estudió la relación entre el porcentaje de detecciones de GIP y el grado de lesión histológica, eliminando esta revisión. Como se puede comprobar en la Figura 30 los resultados fueron estadísticamente significativos,  $42,2 \pm 28,5$  vs.  $20,9 \pm 18,9$  ( $p=0,01$ ) y similares a los obtenidos en el caso que dicha visita sí estuviera incluida. Por lo tanto, dicha revisión se podría eliminar en el seguimiento de estos pacientes.

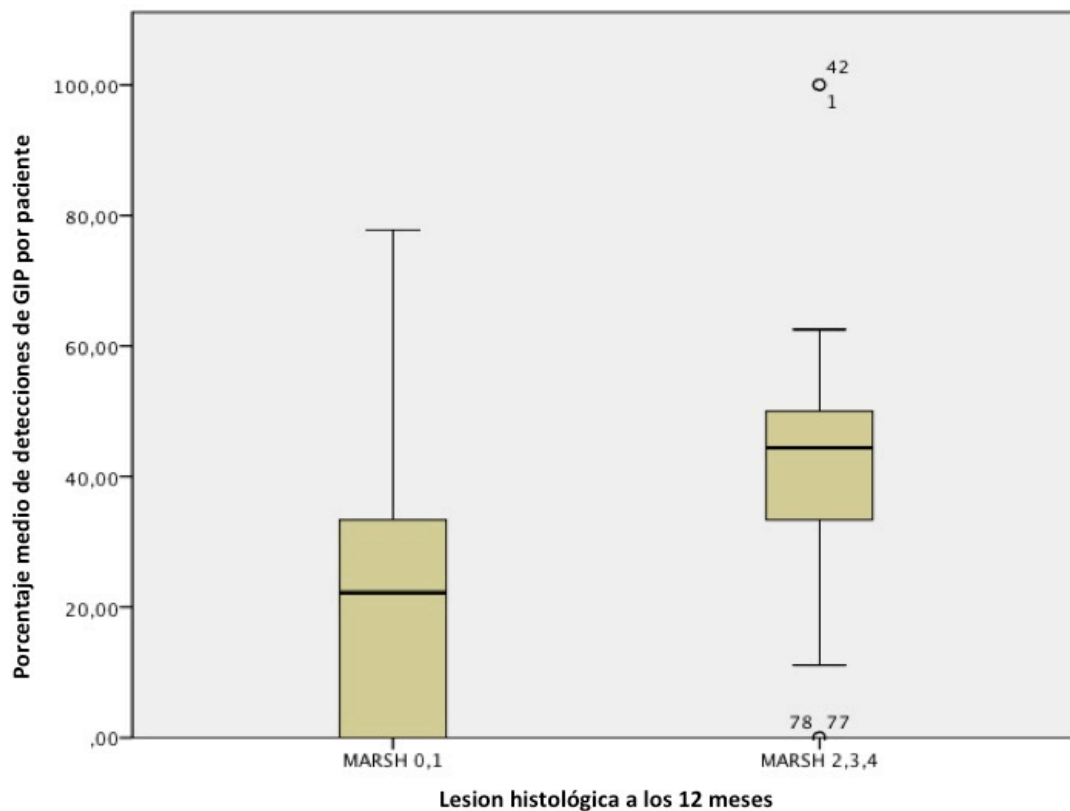


Figura 30. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en las visitas de inclusión, 6 y 12 meses y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en el global de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo.

En base a los resultados expuestos aquellos pacientes con determinaciones positivas de GIP de forma reiterada en sus revisiones médicas no cumplen la DSG, por consiguiente, con un alto grado de seguridad, pueden presentar lesiones histológicas.

Cuando se analizó esta correlación en cada una de las cohortes por separado se observó que en el grupo de pacientes a DSG al menos 24 meses, el porcentaje medio de transgresiones de todas las visitas fue mayor en los pacientes con atrofia vellositaria a los 12 meses de la inclusión que en los que no presentaban lesión histológica significativa,  $38,2 \pm 24,1$  (IC95%18-58,3) vs.  $17,8 \pm 17,1$  (IC95%13,2-22,4), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,004$ ) (Figura 31)

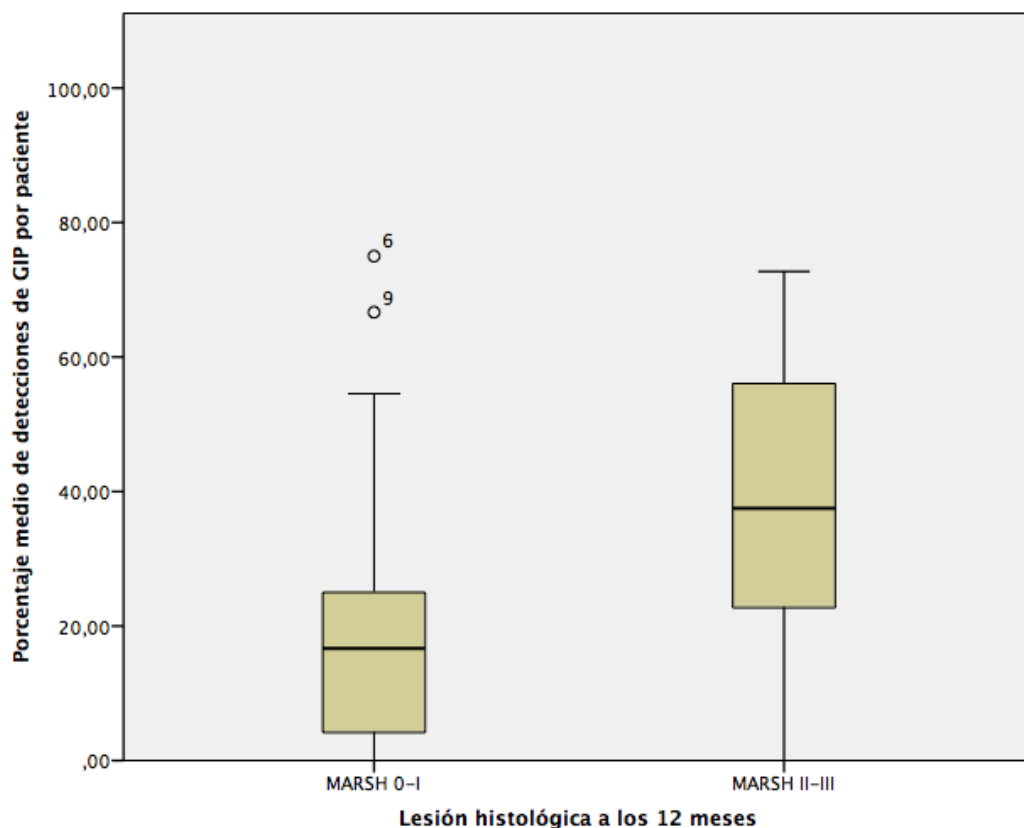


Figura 31. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en la cohorte de pacientes con diagnóstico previo de celiaquía y a DSG al menos 24 meses.



En cambio, y tal como se muestra en la Figura 32, en la cohorte de pacientes celíacos de *novo* el porcentaje medio de transgresiones, durante todas las visitas, en los pacientes con atrofia vellositaria al final del estudio fue  $42 \pm 35,9$  (IC95% 14,4-69,6) y en los que no presentaban lesión histológica significativa fue  $40,8 \pm 11,7$  (IC95% 32,9-48,7), no habiendo diferencia estadísticamente significativa entre el porcentaje medio de transgresiones y la lesión histológica en esta cohorte de pacientes ( $p=0,92$ ).

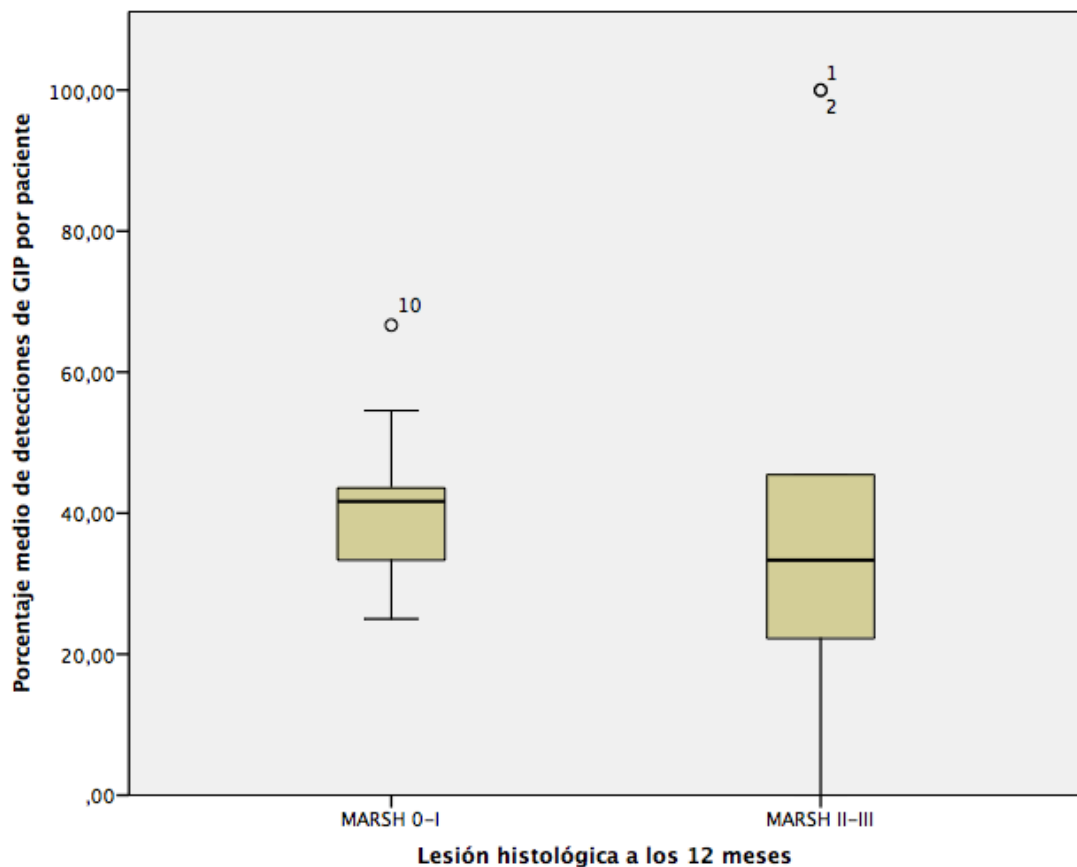


Figura 32. Correlación entre el porcentaje de detección de GIP en orina del total de orinas recogidas por paciente en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en la cohorte de pacientes celíacos de *novo* e inicio de DSG a la inclusión.

La diferencia observada entre ambas cohortes se debe a un mayor porcentaje de transgresiones a lo largo de las visitas en el primer año de adherencia a la dieta sin gluten y a un mayor porcentaje de atrofia vellositaria a los 12 meses de iniciar la dieta sin gluten, en la cohorte de celíacos de novo e inicio de DSG a la inclusión.

De igual manera el porcentaje medio de determinaciones de GIP negativas en orina, en las visitas médicas realizadas, fue mayor en pacientes con ausencia de lesión histológica que en aquellos con persistencia de atrofia vellositaria a los 12 meses de la inclusión  $78,3 \pm 18,4$  (IC 95% 73,8-82,9) vs.  $58,8 \pm 30,1$  (IC95% 44,3-75,2), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0,002$ ) (Figura 33). De esta forma, en aquellos pacientes con determinaciones negativas de GIP de forma reiterada en sus revisiones médicas, se podría considerar, con un alto grado de seguridad, que cumplen la dieta y, por consiguiente, que no presentan lesiones histológicas.

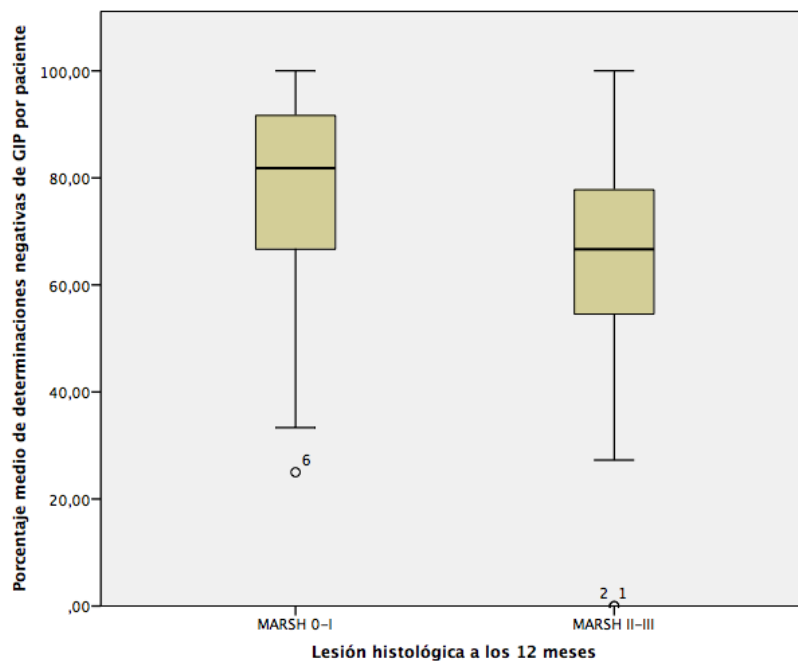


Figura 33. Correlación entre el porcentaje de determinaciones negativas de GIP en orina de las orinas recogidas en todas las visitas (inclusión, 3, 6 y 12 meses) y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento en el global de pacientes en el estudio clínico prospectivo.

## **4.5 Análisis de la utilidad de la determinación de GIP en orina frente a la determinación de anticuerpos de enfermedad celiaca y cuestionario de adherencia en el seguimiento de los pacientes celiacos.**

### **4.5.1 Análisis de utilidad de la determinación de GIP en orina frente a determinación de anticuerpos de enfermedad celiaca en los pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo.**

En todos los pacientes incluidos en el estudio se realizó un análisis comparativo de cada una de las determinaciones de GIP y anticuerpos de EC en cada una de las revisiones, valorando el porcentaje de determinaciones de GIP positivos frente a anticuerpos negativos. El objetivo era evaluar la utilidad de los GIP para detectar las transgresiones de la DSG de los pacientes que podrían haber pasado desapercibidos si se hubieran considerado solo los resultados de la serología. Tal como se muestra en la Figura 34, al inicio del estudio en el total de pacientes, de forma global, la determinación de GIP en orina fue útil para detectar transgresión en pacientes con anticuerpos negativos en el 34,4% de ellos (IC95%: 26,1-43,6%), y en el 41%, 27,3% y 27,2% a los 3, 6 y 12 meses, respectivamente. Este porcentaje fue mayor en los pacientes con persistencia de atrofia vellositaria que en los que no presentaban lesión histológica a los 6 y 12 meses de seguimiento (34% y 37,8% vs. 22,2 y 18,2% respectivamente).

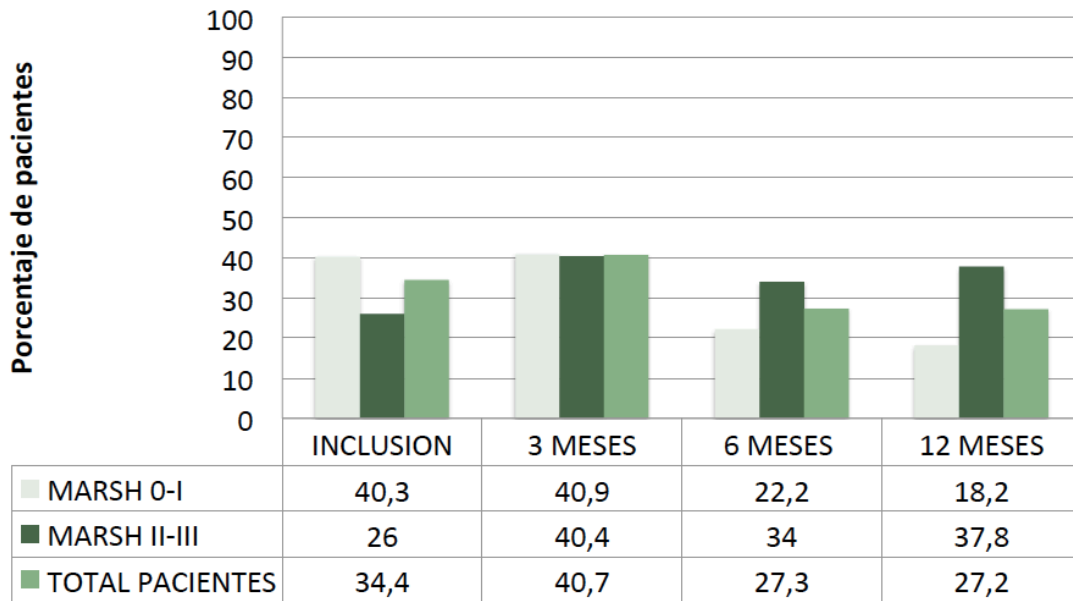


Figura 34. Porcentaje de determinaciones de GIP positivos en orina frente a anticuerpos negativos de EC en las distintas revisiones en el total de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo. Representación del porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celiaca negativos en el total de pacientes y según el grado de lesión histológica a la inclusión , 3, 6 y 12 meses.

Si analizamos de forma independiente las dos cohortes de pacientes, en los celíacos a DSG al menos 24 meses se observó que el 44%, al inicio del seguimiento, son negativos para los anticuerpos y estuvieron expuestos al gluten medido como GIP positivo en orina. Por lo tanto, la determinación de GIP hubiera sido útil frente a los anticuerpos para detectar a los pacientes transgresores. En los pacientes que a su inclusión presentaban ausencia de lesión histológica significativa, el porcentaje de pacientes con detección de GIP y anticuerpos negativos fueron de 40,6%, 42,2%, 23% y 18% a la inclusión, 3, 6 y 12 meses, respectivamente. En los pacientes con persistencia lesión histológica significativa a la inclusión la determinación del GIP fue útil para detectar transgresiones en el 54,2%, 54,2%, 45,8% y 44,4% a la inclusión y a los 3, 6 y 12 meses, respectivamente (Figura 35).

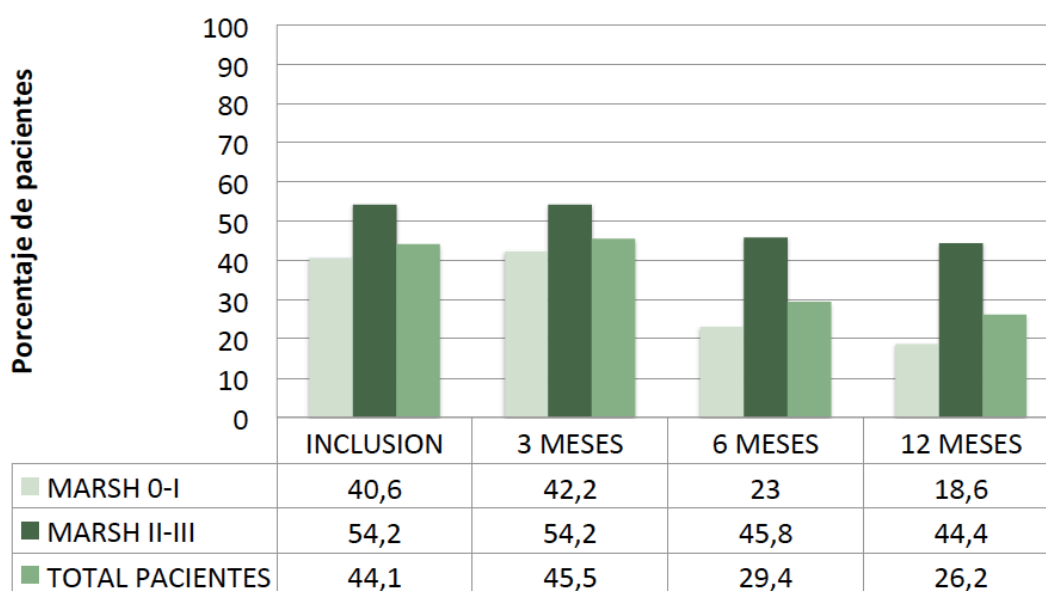


Figura 35. Porcentaje de determinaciones de GIP positivos en orina frente a anticuerpos negativos de EC en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celíaca negativos en el total de pacientes y según el grado de lesión histológica a la inclusión, 3, 6 y 12 meses.

Como se puede observar en la Figura 36, en los pacientes celíacos de *novo* e inicio de dieta sin gluten a la inclusión, en el global de pacientes a la inclusión, la determinación de GIP positivo frente a anticuerpos negativos, fue del 3,4%. Este porcentaje fue aumentando a lo largo de las revisiones, a medida que los anticuerpos se fueron negativizando siendo del 24%, 20% y 30% respectivamente a los 3, 6 y 12 meses. En el grupo de pacientes con presencia de lesión histológica significativa a la inclusión la determinación de GIP fue útil frente a los anticuerpos en el 26%, 21,7% y 31,6% a los 3, 6 y 12 meses respectivamente, conforme los anticuerpos normalizaron. La diferencia con los resultados obtenidos en la cohorte de pacientes a dieta sin gluten al menos 24 meses, se debe a la presencia de anticuerpos elevados en los primeros meses tras el inicio de la dieta sin gluten en esta cohorte de celíacos de *novo*, si bien la determinación de GIP en orina, permite detectar a los pacientes que no transgreden pero los anticuerpos son positivos porque aun no han normalizado según la evolución natural de la enfermedad.

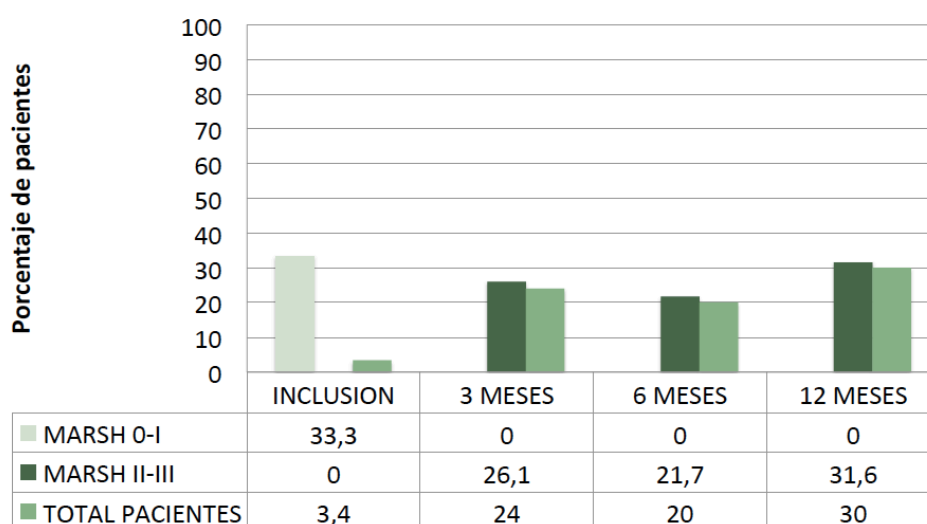


Figura 36. Porcentaje de determinaciones de GIP positivos en orina frente a anticuerpos negativos de EC en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos de *novo* e inicio de dieta sin gluten a la inclusión. Representación del porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina y anticuerpos de enfermedad celíaca negativos en el total de pacientes y según el grado de lesión histológica a la inclusión , 3, 6 y 12 meses.

#### **4.5.2 Análisis de utilidad clínica de la determinación de GIP en orina frente a los cuestionarios de adherencia a la dieta sin gluten en el total de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo.**

Se realizó un análisis comparativo de cada una de las determinaciones de GIP realizadas frente a la valoración de la adherencia a la DSG por cuestionario CDAT, valorando el porcentaje de determinaciones GIP positivas frente a buena adherencia (puntuación menor de 13) o adherencia intermedia (puntuación entre 13 y 17). El objetivo era evaluar la utilidad de los GIP para detectar las transgresiones de la DSG de los pacientes que podrían haber pasado desapercibidos si se hubieran considerado solo los resultados de la adherencia por cuestionario, y que hubieran determinado un cambio en el seguimiento del paciente.

Como se muestra en la Figura 37 las determinaciones de GIP en orina fueron útiles para detectar transgresión en pacientes con buena adherencia o adherencia intermedia según el cuestionario CDAT en el 58,9 (IC95% 49,2-68,1) del total de pacientes a la inclusión y en el 26% al final del seguimiento. Se observó que este porcentaje era más alto en pacientes con atrofia vellositaria que en aquellos sin lesión histológica a la inclusión (84%, 49%, 45%, 39% vs. 43%, 45%, 21%, 13% a la inclusión y a los 3, 6 y 12 meses respectivamente).

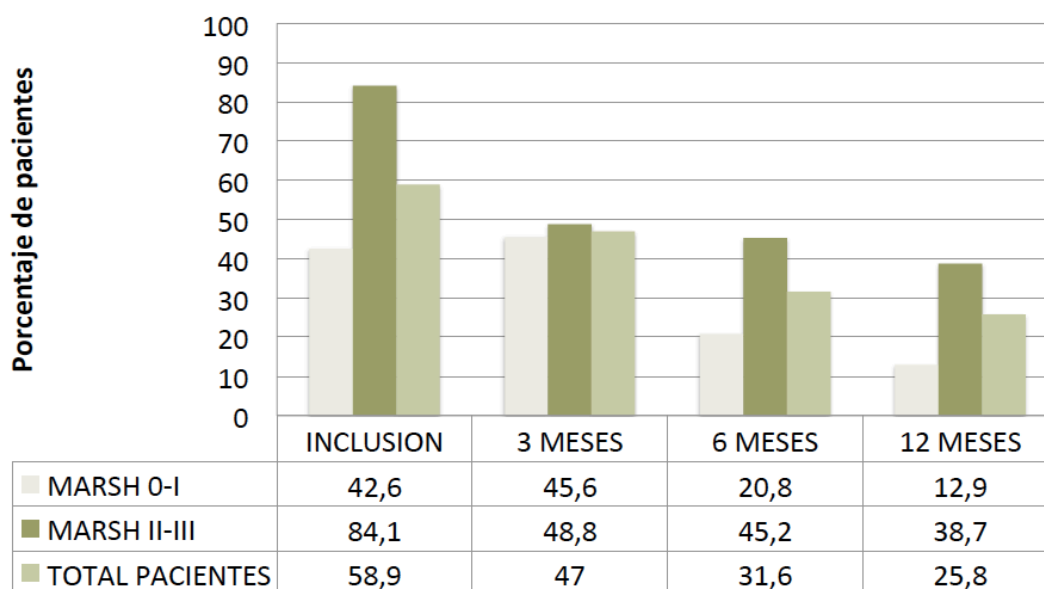


Figura 37. Porcentaje de determinaciones de GIP positivas frente a buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en las distintas revisiones en el total de pacientes incluidos en el estudio clínico prospectivo. Representación del porcentaje de pacientes con detecciones de GIP en orina y buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en el global de pacientes incluidos y según grado de lesión histológica a la inclusión, 3 , 6 y 12 meses.



En la cohorte de pacientes celíacos a DSG al menos 24 meses, la determinación de GIP detectó transgresión frente al cuestionario de adherencia CDAT en el 52,3% de los pacientes a la inclusión siendo más alto este porcentaje en aquellos con persistencia de atrofia vellositaria a la inclusión en el estudio que en los que no presentaban lesión histológica significativa (82%, 50%, 54,5% y 38,7% vs. 42%, 44%, 19% y 13% a la inclusión y a los 3, 6 y 12 meses, respectivamente). (Figura 38).

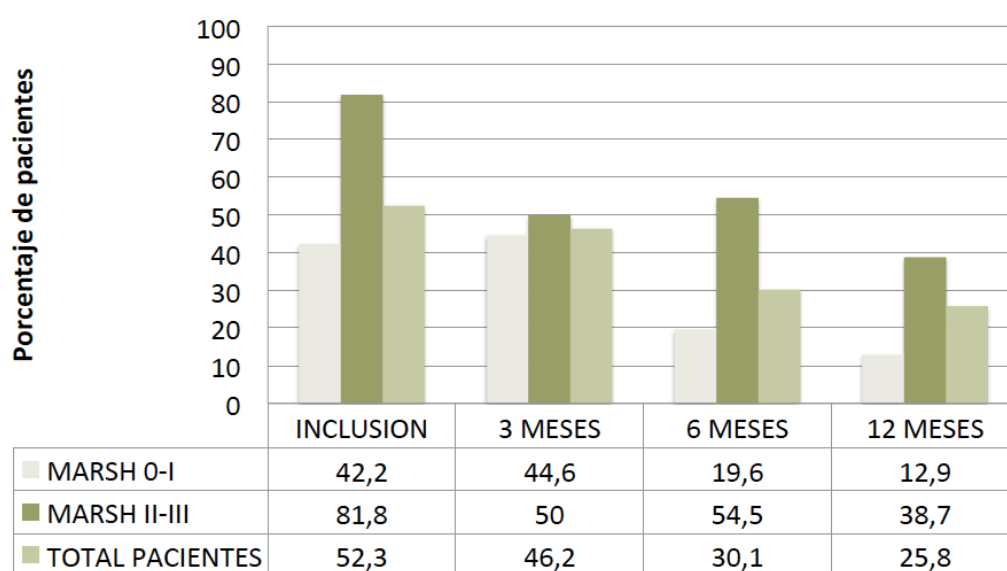


Figura 38. Porcentaje de determinaciones de GIP positivas frente a buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos a dieta sin gluten al menos 24 meses. Representación del porcentaje de pacientes con detecciones de GIP en orina y buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en el global de pacientes y según grado de lesión histológica a la inclusión, 3 , 6 y 12 meses.

Como se observa en la Figura 39 en la cohorte de pacientes celíacos de *novo*, la determinación de GIP detectó transgresión frente al cuestionario de adherencia CDAT en el 83% de los pacientes a la inclusión en el estudio, y en el 33% de los pacientes al final del seguimiento.

Estos resultados parecen demostrar, que al igual que otros métodos utilizados actualmente en la práctica clínica, este cuestionario detecta las consecuencias de una exposición mantenida al gluten, pero no la exposición en sí misma.

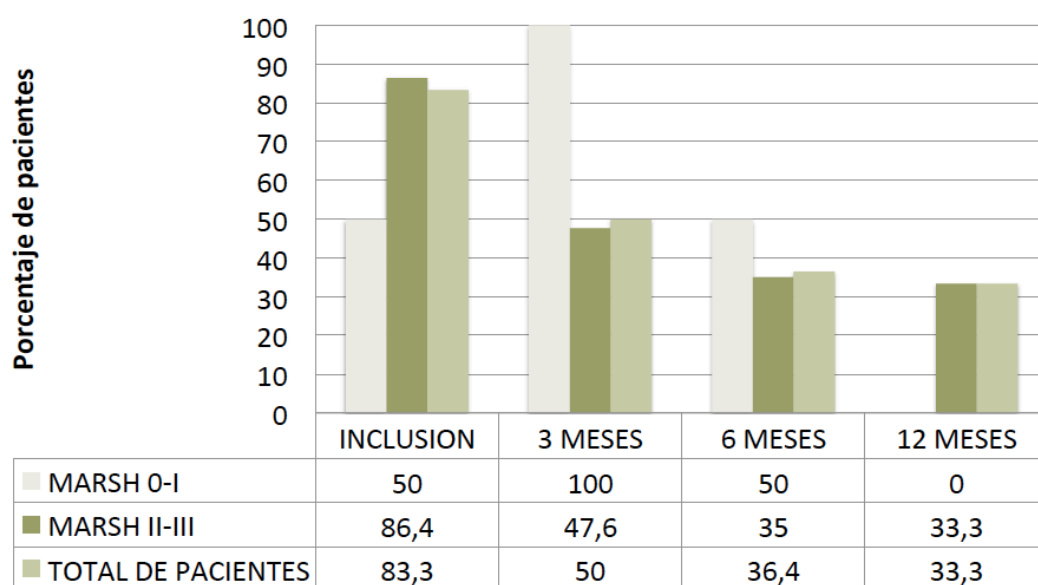


Figura 39. Porcentaje de determinaciones de GIP positivas frente a buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en las distintas revisiones en la cohorte de pacientes celíacos de *novo* e inicio de dieta sin gluten a la inclusión.. Representación del porcentaje de pacientes con detecciones de GIP en orina y buena adherencia o adherencia intermedia por cuestionario CDAT en el global de pacientes y según grado de lesión histológica a la inclusión, 3 , 6 y 12 meses.

## **DISCUSIÓN**

## 5. DISCUSIÓN

El estricto cumplimiento de la DSG conduce en la mayoría de los celíacos a la normalización de los síntomas y de los parámetros bioquímicos, a la remisión del daño intestinal y, lo más importante, a la disminución del riesgo de complicaciones más graves. Recientemente se han desarrollado nuevas metodologías no invasivas, precisas y fiables para controlar la exposición al gluten basada en la detección y cuantificación de GIP en muestras de orina y heces de pacientes celíacos. Con estos antecedentes, el objetivo general de esta Tesis Doctoral es analizar la eficacia de la determinación de GIP en orina para evaluar el grado de cumplimiento de la dieta sin gluten de los pacientes celíacos, y comparar dicho biomarcador con parámetros clínicos, serológicos e histológicos que actualmente son usados en la práctica clínica para el control de la enfermedad. Para ello, se realizó un estudio clínico prospectivo en colaboración con los hospitales universitarios Virgen del Rocío y Virgen Macarena de Sevilla en el que se incluyeron un total de 123 sujetos: celíacos de reciente diagnóstico, pacientes con más de 24 meses a DSG y sujetos sanos. Los parámetros clínicos de la EC a cada paciente se le realizó a la inclusión y en cada una de las visitas (3, 6 y 12 meses), y los histológicos a los 12 meses desde la inclusión. En este estudio los pacientes fueron instruidos para la recogida de tres muestras de orina con una pauta específica: sábado, domingo y día de la visita médica. Los objetivos para realizar la recogida de las muestras en los días descritos fueron dobles, en primer lugar, detectar el gluten consumido durante una semana y, en segundo lugar, incluir días en que se espera que las personas puedan transgredir con más frecuencia al consumir alimentos fuera de casa.

En nuestra población de estudio observamos un predominio de mujeres (67%), con un porcentaje similar al publicado previamente por otros autores <sup>1,4</sup>. Sin embargo, la edad media al diagnóstico (29 años) fue, inferior a otras series (edad media > 40 años) <sup>61,64</sup>, aunque dichas diferencias se pueden justificar porque en nuestro trabajo se incluyeron pacientes diagnosticados en la infancia. Nuestros resultados, en cuanto a la presentación clínica y serológica, es similar a lo recogido en la literatura. La presentación no clásica fue la forma de presentación más frecuente, cercana al 60%, siendo la diarrea el síntoma principal <sup>33 39</sup>. El 12% de los pacientes fueron seronegativos al diagnóstico, datos que se encuentran dentro de lo descrito por otros autores (5-16%) <sup>43</sup>. Cuatro pacientes (4,3%) fueron negativos para DQ2 y DQ8. La ausencia de estos heterodímeros del HLA ya se ha descrito en otros trabajos con una frecuencia del 6% <sup>32</sup>. La atrofia vellositaria (MARSH III-IV) fue la lesión histológica a la inclusión observada con mayor frecuencia (87%).

Al comparar las dos cohortes de pacientes, no hubo diferencia en la distribución por sexos con un predominio de mujeres. La edad media al diagnóstico fue superior en el grupo de pacientes celíacos de *novo*, datos parecidos a los observados en otras series <sup>63 66</sup> al incluir sólo pacientes atendidos en consultas de Gastroenterología de adultos (mayores de 14 años). La diarrea continuó siendo el síntoma más frecuente, si bien en los pacientes celíacos de *novo*, la dispepsia o la presencia de alteración analítica fue el motivo de inicio de estudio más frecuente que en la cohorte de pacientes con diagnóstico previo y a DSG más de 24 meses (32% vs. 16% y 20,7% vs. 10%, respectivamente). Estas diferencias pueden ser debidas a

una mayor sospecha clínica que implica un diagnóstico precoz y un cambio en el perfil clínico de los pacientes celíacos al diagnóstico <sup>39</sup>. Del mismo modo, la forma de presentación clásica con síntomas malabsortivos fue más frecuente en la cohorte de celíacos con diagnóstico previo que en los celíacos de *novo* (40,4% vs. 14,3%), dado que esta cohorte incluye individuos que fueron diagnosticados en la infancia donde es más frecuente esta forma de presentación <sup>33</sup>. El porcentaje de pacientes seronegativos fue inferior entre los pacientes celíacos de *novo* que en los pacientes a dieta sin gluten al menos 24 meses (3,4% vs. 15,2%) a pesar de ser pacientes diagnosticados en la edad adulta donde el porcentaje de seronegativos es frecuente, asociado a menor grado de lesión histológica <sup>5</sup>. Este resultado puede estar influenciado por el menor número de celíacos de *novo* incluidos. En ambas cohortes, la lesión histológica encontrada con más frecuencia fue la atrofia vellositaria. En cuanto al seguimiento, observamos diferencias en los parámetros de control de adherencia a la DGS entre ambas cohortes, motivadas por las modificaciones secundarias a la retirada del gluten al inicio del estudio en la cohorte de celíacos de *novo*.

### **5.1. Evolución clínica en el seguimiento de la cohorte de pacientes con diagnóstico previo de celiaquía y al menos 24 meses a dieta sin gluten.**

A lo largo del seguimiento menos del 27% permanecieron sintomáticos, la determinación de anticuerpos de enfermedad celiaca fue positiva en menos del 10%, y se observó que un 26% de pacientes mantenían daño histológico duodenal significativo (MARSCH II-III) a la inclusión, a pesar de estar a DSG durante al menos 24 meses. Estos resultados difieren con los recogidos en otros trabajos, donde más del 30% permanecen sintomáticos a la inclusión en los estudios<sup>63 64</sup>, en torno al 40% de los pacientes mantienen anticuerpos antitransglutaminasa elevados a pesar de DSG al menos 24 meses a la inclusión en el estudio<sup>63 64</sup> y entre el 36-55% de los pacientes no consiguen normalización mucosa a pesar de asegurar que sigue una dieta estricta sin gluten<sup>51</sup>. Esta diferencia con lo publicado en la literatura puede deberse a un mayor control de los pacientes en nuestras consultas de Gastroenterología, habiendo sido sometidos a endoscopias de revisión a lo largo del seguimiento, previo a su inclusión en el estudio, esto nos ha permitido identificar transgresiones en relación a la ausencia de normalización mucosa y reforzar la importancia de la adherencia a la DSG. Aun así, en el 52% de este grupo de pacientes detectamos GIP en orina a la inclusión con una disminución progresiva de la detección de las transgresiones, aunque seguimos detectando GIP en orina en el 30% al final del seguimiento, resultado acorde a la literatura que establece que entre un 16 y un 70% de los pacientes incumplen la dieta<sup>51 62 66</sup>. En el trabajo de Costa *et al.* se recoge una detección de GIP en el 25% de los pacientes en alguna de las determinaciones realizadas en orina y heces tras un intervalo

de 10 días <sup>63</sup>. En el trabajo de Porcelli *et al.* se detectó GIP en heces sólo en el 14,5% de los pacientes <sup>67</sup>. La mayor detección de transgresiones a la inclusión en nuestro trabajo, puede ser debida a una recogida más sistemática de orina (sábado, domingo y un día entre semana), en lugar de dos días aleatorios a intervalo de 10 días o una sola determinación de heces.

Al analizar la evolución de los distintos parámetros de adherencia a la dieta para el seguimiento de los pacientes, que se utiliza actualmente en la práctica clínica, se observó que los anticuerpos elevados de EC la persistencia de síntomas y la mala adherencia a la DSG por cuestionario CDAT se mantenía constante a lo largo del seguimiento. Sin embargo si hubo una mejoría histológica con un descenso de pacientes con lesión histológica significativa del 26% a la inclusión al 13% a los 12 meses, y de igual manera, hubo una disminución en la detección de GIP en orina a lo largo del seguimiento.

Por otro lado, cuando valoramos la evolución de las determinaciones de GIP en orina y la serología en función del grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento, en los pacientes sin lesión histológica significativa (MARSH 0-I), la detección de GIP en orina disminuyó progresivamente, a diferencia de los pacientes con lesión duodenal avanzada (MARSH II-III), en los que la detección de GIP en orina se mantuvo constante a lo largo del seguimiento. Por lo tanto, se comprobó que hubo un mayor porcentaje de detecciones de GIP en orina en los pacientes con lesión histológica avanzada que en los que no tenían lesión histológica, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, los anticuerpos permanecieron elevados en menos del 10% de los pacientes con ausencia de lesión



duodenal significativa al final del seguimiento y en el 15-25% en las distintas revisiones de aquellos con lesión histológica avanzada.

La determinación de GIP en orina permitió identificar transgresión a la inclusión en un 44% de pacientes que no fue identificada por los anticuerpos al ser negativos y en el 52% de los pacientes en los que se recogió buena adherencia a la dieta por el cuestionario de adherencia CDAT. El porcentaje de transgresores detectados con la determinación de GIP en orina frente a serología y cuestionario de adherencia fue superior al 25% y 26% respectivamente a lo largo de las revisiones, siendo estos porcentajes mayores en los pacientes con lesión histológica avanzada al inicio del seguimiento.

La mayoría de los estudios realizados para comparar las herramientas de control de adherencia a la DSG, se han realizado sólo con determinaciones de GIP en heces o en heces y orina, con diseños metodológicos distintos. Aun así en estos estudios se observa cómo de los pacientes con detección de GIP en heces más del 60% presentaban serología de EC negativa y entre el 25-70% eran considerados adherentes según distintos cuestionarios dietéticos<sup>63 64 66</sup>.

## 5.2. Evolución clínica en el seguimiento de la cohorte de celíacos de *novo*

El 76% de los pacientes que se encontraban sintomáticos a la inclusión, disminuyó al 30% al final del seguimiento a los 12 meses de la inclusión en el estudio. La determinación de anticuerpos de enfermedad celiaca fue positiva a la inclusión en el 97% de los pacientes con disminución progresiva en las sucesivas revisiones, de forma que sólo el 15% mantenía los anticuerpos elevados al final del seguimiento (12 meses). Hubo una mejoría histológica, observando lesión histológica significativa (MARSH II-III) en el 90% de los pacientes a la inclusión y en el 45% de los pacientes al final del seguimiento. Esta diferencia respecto a la cohorte de celíacos con diagnóstico previo se debe a la evolución natural de la enfermedad tras la retirada del gluten de la dieta con una mejoría progresiva clínica, serológica e histológica a lo largo del tiempo <sup>42 68</sup>, como se observa al analizar conjuntamente la evolución de los distintos parámetros de control de adherencia a la DSG. El porcentaje de pacientes que aun presentan lesión histológica avanzada al final del seguimiento puede deberse a un menor tiempo de evolución a DSG y no sólo a transgresiones, dado que la recuperación mucosa se consigue según la literatura a los 2 años en el 34% y a los 5 años en el 66% de los pacientes <sup>69</sup>. En este sentido se detectó GIP en orina en el 97% de los pacientes a la inclusión, cuando mantenían consumo de gluten en la dieta, con una disminución progresiva de la detección de las transgresiones a lo largo del seguimiento, pero que al final del seguimiento seguía siendo alta concretamente en el 40% de los pacientes.

El porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina fue alto desde su inclusión, al ser pacientes que mantenían el consumo de gluten en la dieta. Se observó una disminución de la detección de GIP a lo largo del seguimiento, aunque al final del mismo se continuó detectando GIP en orina, siendo el porcentaje de detección mayor en los pacientes con lesión histológica avanzada (MARSH II-III) que en aquellos sin lesión histológica significativa (55,6% vs. 27,3%). Resultados similares, se han descrito en trabajos previos aunque se realizaron en niños y con determinación de GIP en heces. En dicho estudio se observó detección de GIP en el 95% de los pacientes a la inclusión cuando aun no habían iniciado la DSG y un descenso en la detección a los 6 meses (<17%), con un aumento de la detección al final del estudio (27% a 12 meses y 25% a 24m) <sup>70</sup>. Posiblemente, pueda deberse a una relajación en la adherencia a la dieta, ya desde el primer año de tratamiento con DSG.

Todos los pacientes que al final del seguimiento tuvieron ausencia de lesión histológica significativa presentaron anticuerpos negativos, mientras que un tercio de los pacientes con lesión histológica avanzada al final del seguimiento mantenían los anticuerpos elevados. Este descenso progresivo de la determinación de anticuerpos ya ha sido descrito previamente, pasando de un 90% a la inclusión a un 18% a los 12 meses <sup>68 67</sup>.

En esta cohorte de pacientes, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre el porcentaje medio de detecciones de GIP en orina y el grado de lesión histológica a los 12 meses de seguimiento. Esto puede ser debido al menor tamaño de la muestra, o a las características particulares de este grupo de pacientes, con un mayor porcentaje de detecciones de GIP en

orina desde la inclusión, cuando inician la adherencia a la DSG y un menor control de la adherencia en el primer año a DSG. Por otro lado, hay un mayor porcentaje de pacientes con persistencia de lesión histológica significativa, que puede deberse, no tanto a las transgresiones, sino a la evolución natural del daño duodenal, que puede tardar hasta 2 años en la recuperación completa <sup>42</sup>. En esta cohorte de pacientes, el porcentaje de pacientes con detección de GIP en orina frente a anticuerpos negativos de EC fue del 4% al inicio del estudio y del 30% al final del seguimiento. Esta diferencia en el porcentaje de detecciones de GIP frente a anticuerpos negativos a lo largo del seguimiento, se debe a la presencia de anticuerpos elevados al diagnóstico e inicio de la dieta sin gluten. Si bien la determinación de GIP en orina, permite detectar a los pacientes que no transgreden, pero los anticuerpos son positivos porque aún no han normalizado según la evolución natural de la enfermedad.

### **5.3. Evolución clínica en el seguimiento en las dos cohortes de pacientes incluidas en el estudio clínico prospectivo**

Cuando analizamos en el total de pacientes estudiados, la correlación de los parámetros de monitorización de adherencia a la dieta sin gluten habitualmente usados (clínica, serología y cuestionarios de adherencia a la DSG) con el grado de lesión histológica que es el principal marcador de respuesta a la dieta, se observó que no existía relación entre la persistencia de síntomas y la adherencia por cuestionarios con el grado de lesión histológica en ninguna de las revisiones. Sí se obtuvo relación estadísticamente significativa entre la persistencia de anticuerpos elevados de enfermedad celiaca y la presencia de lesión histológica.

Se comprobó que las detecciones de GIP en orina permitieron detectar transgresiones en el 34% de los pacientes frente a los anticuerpos (IC 95% 26,1-43,6%), en los que la transgresión hubiera pasado inadvertida. Por lo tanto, la determinación de GIP hubiera permitido modificar los hábitos dietéticos de los pacientes y hacer un seguimiento más exhaustivo del control de adherencia a la DSG. Del mismo modo, se demuestra la mayor utilidad de la determinación de GIP en orina frente a los cuestionarios de adherencia CDAT para la detección de transgresiones en la monitorización de la adherencia a la dieta sin gluten.

Se obtuvo una relación estadísticamente significativa entre el porcentaje medio de detecciones de GIP en orina con el grado de lesión histológica. Hasta la fecha, solo se han publicado tres estudios que han correlacionado la detección de GIP con el grado de lesión histológica, observando la relación entre la exposición al gluten medida por la determinación de GIP en heces u orina con el grado de lesión histológica<sup>51 71</sup>  
70.

En nuestro conocimiento, este es el primer estudio que se realiza determinando todos los parámetros clínicos, histológicos y detección de GIP en orina de pacientes desde su inclusión en el estudio hasta la visita de los 12 meses, incluyendo dos revisiones de seguimiento a los 3 y 6 meses. Todo ello, ha permitido comparar las distintas herramientas de control de adherencia a la DSG y relacionarla con la lesión histológica duodenal durante el periodo de seguimiento del paciente, a los 3, 6 y 12 meses. Por otra parte, este estudio ofrece una visión más real de la exposición al gluten en los pacientes, su adherencia por tanto a la DSG y su implicación en la

persistencia de lesión histológica duodenal al realizar determinaciones seriadas de GIP en orina y no puntuales como en los trabajos previos. Además, la relación entre el porcentaje medio de transgresiones y el grado de lesión histológica se mantuvo al eliminar los valores de orina de la revisión de los 3 meses, lo que nos permite afirmar, que la evaluación semestral de los pacientes con 3 determinaciones de orina (durante 7 días, incluido el fin de semana) puede ser una herramienta útil en el control del daño histológico y por tanto de la adherencia a la DSG.

## **CONCLUSIONES**

## 6. CONCLUSIONES

1.- La disponibilidad de un método como la determinación de los GIP en orina para comprobar la ingesta de gluten, de forma directa, ha permitido demostrar que ni los síntomas, ni el cuestionario dietético, ni la serología eran capaces de identificar un porcentaje de pacientes celíacos que no tienen una adherencia estricta a la DSG.

2.- Existe concordancia entre la detección mantenida de GIP en orina durante el seguimiento del paciente celíaco (a los 3, 6 y 12 meses desde la inclusión en el estudio), y la persistencia de lesión histológica significativa a los 12 meses, demostrando que el daño mucoso duodenal en el seguimiento se debe a la no adherencia de la DSG.

3.- La ausencia repetida de GIP en orina en las distintas revisiones médicas del paciente celíaco (a los 3, 6 y 12 meses desde la inclusión en el estudio), se relaciona con ausencia de lesión histológica significativa, indicando así con una alta probabilidad, el cumplimiento de la dieta.

4.- Los datos clínicos y los cuestionarios dietéticos no mostraron concordancia significativa con el grado de lesión histológica, de forma que si solo se hubieran tenido en cuenta estos métodos los efectos adversos encontrados en estos pacientes no se hubieran atribuidos al consumo de gluten.



5.- A pesar de encontrar concordancia entre la serología y la lesión histológica, la determinación de GIP en orina permitió detectar un 54% más de transgresiones que los anticuerpos en pacientes que se encontraban a dieta sin gluten y con lesión histológica significativa. Este porcentaje de pacientes no adheridos a la dieta hubiera pasado desapercibido si sólo se hubiera usado la serología como herramienta de monitorización de la DSG.

6.- En los pacientes de reciente diagnóstico hubo una disminución de los niveles anticuerpos de EC, tras el inicio de la DSG, a pesar de ello se ha determinado que no existe concordancia con la adherencia a la dieta ya que estos permanecen elevados hasta su normalización.

7.- En base a estos resultados se propone que para la práctica clínica del seguimiento del paciente celíaco se realicen determinaciones de GIP en orina (3 muestras en 7 días, incluido el fin de semana) de forma semestral, con el fin de identificar a los pacientes que no son adherentes a la DSG beneficiándose de un control más estricto, evitando complicaciones a largo plazo.

-

## **BIBLIOGRAFÍA**

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, et al. European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United Eur Gastroenterol J*. 2019;7(5):583-613. doi:10.1177/2050640619844125
2. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*. 2013;62(1):43-52. doi:10.1136/gutjnl-2011-301346
3. Detalle de tesis. Accessed February 26, 2021. [http://www.doctorado.us.es/index.php?option=com\\_fabrik&tmpl=component&view=details&formid=2&listid=2&rowid=758&iframe=1&print=1](http://www.doctorado.us.es/index.php?option=com_fabrik&tmpl=component&view=details&formid=2&listid=2&rowid=758&iframe=1&print=1)
4. Singh P, Arora A, Strand TA, et al. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(6):823-836.e2. doi:10.1016/j.cgh.2017.06.037
5. Lebwohl B, Rubio-Tapia A. Epidemiology, Presentation, and Diagnosis of Celiac Disease. *Gastroenterology*. 2021;160(1):63-75. doi:10.1053/j.gastro.2020.06.098
6. Catassi C. El mapa mundial de la enfermedad celíaca. *Acta Gastroenterol Latinoam*. 2005;35(1):46-55. Accessed February 26, 2021. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15954735/>
7. Bai JC, Fried M, Corazza GR, et al. World gastroenterology organisation global guidelines on celiac disease. *J Clin Gastroenterol*. 2013;47(2):121-126. doi:10.1097/MCG.0b013e31827a6f83
8. Mooney PD, Hadjivassiliou M, Sanders DS. Coeliac disease. *BMJ*. 2014;348. doi:10.1136/bmj.g1561
9. Wieser H. 1 The precipitating factor in coeliac disease. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 1995;9(2):191-207. doi:10.1016/0950-3528(95)90027-6
10. Shewry PR, Halford NG. Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. In: *Journal of Experimental Botany*. Vol 53. Oxford University Press; 2002:947-958. doi:10.1093/jexbot/53.370.947
11. Las proteínas de los Cereales: Péptidos Inmunoestimuladores y tóxicos. En Arranz E, Fernandez -Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos - Buscar con Google. Accessed February 26, 2021. <https://www.google.es/search?hl=es&q=Las+proteínas+de+los+Cereales:+Péptidos+Inmunoestimuladores+y+tóxicos.+En+Arranz+E,+Fernandez+-Bañares+F,+Rosell+CM,+Rodrigo+L,+Peña+AS,+editores:+Avances+en+el+Conocimiento+de+las+Patologías+Relacionadas+con+el+Gluten+y+Evolución+de+los+Alimentos>
12. Morón B, Bethune MT, Comino I, et al. Toward the assessment of food toxicity for celiac patients: Characterization of monoclonal antibodies to a main immunogenic gluten peptide. *PLoS One*. 2008;3(5). doi:10.1371/journal.pone.0002294
13. ArentzHansen H, McAdam SN, Molberg Ø, et al. Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline

- residues. *Gastroenterology*. 2002;123(3):803-809. doi:10.1053/gast.2002.35381
14. Vader W, Kooy Y, Van Veelen P, et al. The Gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology*. 2002;122(7):1729-1737. doi:10.1053/gast.2002.33606
  15. Hüe S, Mention JJ, Monteiro RC, et al. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity*. 2004;21(3):367-377. doi:10.1016/j.immuni.2004.06.018
  16. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, et al. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet*. 2003;362(9377):30-37. doi:10.1016/S0140-6736(03)13803-2
  17. Jabri B, Sollid LM. Mechanisms of disease: Immunopathogenesis of celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2006;3(9):516-525. doi:10.1038/ncpgasthep0582
  18. Molberg Ø, Mcadam SN, Körner R, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med*. 1998;4(6):713-717. doi:10.1038/nm0698-713
  19. van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, et al. Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. *J Immunol*. 1998;161(4):1585-1588. Accessed February 26, 2021. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9712018>
  20. Howdle PD, Corazza GR, Bullen AW, Losowsky MS. Gluten sensitivity of small intestinal mucosa in vitro: Quantitative assessment of histologic change. *Gastroenterology*. 1981;80(3):442-450. doi:10.1016/0016-5085(81)90004-4
  21. Meresse B, Curran SA, Ciszewski C, et al. Reprogramming of CTLs into natural killer-like cells in celiac disease. *J Exp Med*. 2006;203(5):1343-1355. doi:10.1084/jem.20060028
  22. Koning F, Gilissen L, Wijmenga C. Gluten: A two-edged sword. Immunopathogenesis of celiac disease. *Springer Semin Immunopathol*. 2005;27(2):217-232. doi:10.1007/s00281-005-0203-9
  23. Brandtzaeg P. The changing immunological paradigm in coeliac disease. *Immunol Lett*. 2006;105(2):127-139. doi:10.1016/j.imlet.2006.03.004
  24. Heyman M, Abed J, Lebreton C, Cerf-Bensussan N. Intestinal permeability in coeliac disease: Insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. *Gut*. 2012;61(9):1355-1364. doi:10.1136/gutjnl-2011-300327
  25. Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell C, Rodrigo L. Advances in the understanding of gluten related pathology and the evolution of gluten-free foods. Published online 2015. Accessed February 27, 2021. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=HLIACgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=advances+in+understanding+of+gluten+related+pathology+and+the+evolution+of+gluten-free+foods&ots=RFz-TMP5pz&sig=BkxD07\\_pikn7Mx9eZ90TA7Paje8](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=HLIACgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=advances+in+understanding+of+gluten+related+pathology+and+the+evolution+of+gluten-free+foods&ots=RFz-TMP5pz&sig=BkxD07_pikn7Mx9eZ90TA7Paje8)
  26. Ráki M, Tollefsen S, Molberg Ø, Lundin KEA, Sollid LM, Jahnsen FL. A Unique Dendritic Cell Subset Accumulates in the Celiac Lesion and Efficiently Activates Gluten-Reactive T Cells. *Gastroenterology*. 2006;131(2):428-438. doi:10.1053/j.gastro.2006.06.002
  27. Nilsen EM, Lundin KEA, Krajci P, Scott H, Sollid LM, Brandtzaeg P. Gluten

- specific, HLA-DQ restricted T cells from coeliac mucosa produce cytokines with Th1 or Th0 profile dominated by interferon  $\gamma$ . *Gut*. 1995;37(6):766-776. doi:10.1136/gut.37.6.766
28. Di Sabatino A, Pickard KM, Gordon JN, et al. Evidence for the Role of Interferon- $\alpha$  Production by Dendritic Cells in the Th1 Response in Celiac Disease. *Gastroenterology*. 2007;133(4):1175-1187. doi:10.1053/j.gastro.2007.08.018
  29. Terrazzano G, Sica M, Gianfrani C, et al. Gliadin Regulates the NK-Dendritic Cell Cross-Talk by HLA-E Surface Stabilization. *J Immunol*. 2007;179(1):372-381. doi:10.4049/jimmunol.179.1.372
  30. Abadie V, Jabri B. IL-15: A central regulator of celiac disease immunopathology. *Immunol Rev*. 2014;260(1):221-234. doi:10.1111/imr.12191
  31. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:493-525. doi:10.1146/annurev-immunol-040210-092915
  32. Karelk K, Louka AS, Moodie SJ, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1 \*05-DQB1 \*02 (DQ2) heterodimer: Results from the European genetics cluster on celiac disease. *Hum Immunol*. 2003;64(4):469-477. doi:10.1016/S0198-8859(03)00027-2
  33. Polanco I, Montoro M, Fernández F, Arranz E. Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca. Gobierno de Canaria, España: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS); 2018 - Buscar con Google. Accessed February 26, 2021. [https://www.google.es/search?hl=es&biw=754&bih=731&ei=bMg4YI3iD5X2xgPQw7rgAQ&q=Polanco+I%2C+Montoro+M%2C+Fernández+F%2C+Arranz+E.+Protocolo+para+el+diagnóstico+precoz+de+la+enfermedad+ce+liaca.+Gobierno+de+Canaria%2C+España%3A+Ministerio+de+Sanidad%2C+Servicios+Social+e+Igualdad%2C+Servicio+de+Evaluación+del+Servicio+Canario+de+la+Salud+%28SESCS%29%3B+2018&oq=Polanco+I%2C+Montoro+M%2C+Fernández+F%2C+Arranz+E.+Protocolo+para+el+diag+nóstico+precoz+de+la+enfermedad+celiaca.+Gobierno+de+Canaria%2C+España%3A+Ministerio+de+Sanidad%2C+Servicios+Social+e+Igualdad%2C+Servicio+de+Evaluación+del+Servicio+Canario+de+la+Salud+%28SESCS%29%3B+2018&gs\\_lcp=Cgdnd3Mtd2l6EANQv5I1WKKnNWDErjVoAnAAeACAAQCIAQCQAQCYAQGgAQKqAQdnd3Mtd2l6sAEAwAEB&sclien+t=gws-wiz&ved=0ahUKEwiNyNeBp4fvAhUVu3EKHdChDhw4ChDh1QMIDQ&uact=5](https://www.google.es/search?hl=es&biw=754&bih=731&ei=bMg4YI3iD5X2xgPQw7rgAQ&q=Polanco+I%2C+Montoro+M%2C+Fernández+F%2C+Arranz+E.+Protocolo+para+el+diagnóstico+precoz+de+la+enfermedad+ce+liaca.+Gobierno+de+Canaria%2C+España%3A+Ministerio+de+Sanidad%2C+Servicios+Social+e+Igualdad%2C+Servicio+de+Evaluación+del+Servicio+Canario+de+la+Salud+%28SESCS%29%3B+2018&oq=Polanco+I%2C+Montoro+M%2C+Fernández+F%2C+Arranz+E.+Protocolo+para+el+diag+nóstico+precoz+de+la+enfermedad+celiaca.+Gobierno+de+Canaria%2C+España%3A+Ministerio+de+Sanidad%2C+Servicios+Social+e+Igualdad%2C+Servicio+de+Evaluación+del+Servicio+Canario+de+la+Salud+%28SESCS%29%3B+2018&gs_lcp=Cgdnd3Mtd2l6EANQv5I1WKKnNWDErjVoAnAAeACAAQCIAQCQAQCYAQGgAQKqAQdnd3Mtd2l6sAEAwAEB&sclien+t=gws-wiz&ved=0ahUKEwiNyNeBp4fvAhUVu3EKHdChDhw4ChDh1QMIDQ&uact=5)
  34. Bouziat R, Hinterleitner R, Brown JJ, et al. Reovirus infection triggers inflammatory responses to dietary antigens and development of celiac disease. *Science (80- )*. 2017;356(6333):44-50. doi:10.1126/science.aah5298
  35. Canova C, Zabeo V, Pitter G, et al. Association of maternal education, early infections, and antibiotic use with celiac disease: A population-based birth cohort study in northeastern Italy. *Am J Epidemiol*. 2014;180(1):76-85. doi:10.1093/aje/kwu101

36. Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y. Intestinal microbiota and celiac disease: Cause, consequence or co-evolution? *Nutrients*. 2015;7(8):6900-6923. doi:10.3390/nu7085314
37. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. *J Clin Pathol*. 2009;62(3):264-269. doi:10.1136/jcp.2008.061366
38. Coeliac Disease: Recognition, Assessment and Management - PubMed. Accessed February 26, 2021. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26468560/>
39. Hujoel IA, Reilly NR, Rubio-Tapia A. Celiac Disease: Clinical Features and Diagnosis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2019;48(1):19-37. doi:10.1016/j.gtc.2018.09.001
40. Moscoso J. F, Quera P. R. Enfermedad celíaca. revisión. *Rev Med Chil*. 2016;144(2):211-221. doi:10.4067/S0034-98872016000200010
41. 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):1185-1194. doi:10.1097/00042737-199910000-00019
42. Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca - Luis Rodrigo, Amado Salvador Peña - Google Libros. Accessed February 26, 2021. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=nECaAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA10&dq=Diagnóstico+y+respuesta.+En+Rodrigo+L+y+Peña+AS,+editor+es.+Enfermedad+clíaca+y+sensibilidad+al+gluten+no+celiaca.+Barcelona,+España:+OmniaScience%3B+2013.p.+285-298&ots=9FsgJYEanw&sig=mo36OI0MiAPox-lnmXNQgm\\_3z-8#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=nECaAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA10&dq=Diagnóstico+y+respuesta.+En+Rodrigo+L+y+Peña+AS,+editor+es.+Enfermedad+clíaca+y+sensibilidad+al+gluten+no+celiaca.+Barcelona,+España:+OmniaScience%3B+2013.p.+285-298&ots=9FsgJYEanw&sig=mo36OI0MiAPox-lnmXNQgm_3z-8#v=onepage&q&f=false)
43. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. ACG clinical guidelines: Diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(5):656-676. doi:10.1038/ajg.2013.79
44. Husby S, Murray JA, Katzka DA. AGA Clinical Practice Update on Diagnosis and Monitoring of Celiac Disease—Changing Utility of Serology and Histologic Measures: Expert Review. *Gastroenterology*. 2019;156(4):885-889. doi:10.1053/j.gastro.2018.12.010
45. 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(1):73-81. doi:10.1111/j.1365-2036.2009.04110.x
46. Hadithi M, Von Blomberg BME, Crusius JBA, et al. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Ann Intern Med*. 2007;147(5):294-302. doi:10.7326/0003-4819-147-5-200709040-00003
47. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, et al. European society for pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(1):136-160. doi:10.1097/MPG.0b013e31821a23d0
48. Reilly NR, Husby S, Sanders DS, Green PHR. Coeliac disease: To biopsy or not? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(1):60-66. doi:10.1038/nrgastro.2017.121
49. Hischenhuber C, Crevel R, Jarry B, et al. Review article: Safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease. *Aliment*

- Pharmacol Ther.* 2006;23(5):559-575. doi:10.1111/j.1365-2036.2006.02768.x
50. Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: Tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;27(11):1044-1052. doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03669.x
  51. Moreno MDL, Cebolla Á, Muñoz-Suano A, et al. Detection of gluten immunogenic peptides in the urine of patients with coeliac disease reveals transgressions in the gluten-free diet and incomplete mucosal healing. *Gut.* 2017;66(2):250-257. doi:10.1136/gutjnl-2015-310148
  52. Husby S, Bai JC. Follow-up of Celiac Disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2019;48(1):127-136. doi:10.1016/j.gtc.2018.09.009
  53. Mahadev S, Murray JA, Wu TT, et al. Factors associated with villus atrophy in symptomatic coeliac disease patients on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45(8):1084-1093. doi:10.1111/apt.13988
  54. Carroccio A, Ambrosiano G, Di Prima L, et al. Clinical symptoms in celiac patients on a gluten-free diet. *Scand J Gastroenterol.* 2008;43(11):1315-1321. doi:10.1080/00365520802200044
  55. Pekki H, Kurppa K, Mäki M, et al. Predictors and significance of incomplete mucosal recovery in celiac disease after 1 year on a gluten-free diet. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(7):1078-1085. doi:10.1038/ajg.2015.155
  56. Sharkey LM, Corbett G, Currie E, Lee J, Sweeney N, Woodward JM. Optimising delivery of care in coeliac disease - Comparison of the benefits of repeat biopsy and serological follow-up. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38(10):1278-1291. doi:10.1111/apt.12510
  57. Hall NJ, Rubin GP, Charnock A. Intentional and inadvertent non-adherence in adult coeliac disease. A cross-sectional survey. *Appetite.* 2013;68:56-62. doi:10.1016/j.appet.2013.04.016
  58. Lanzini A, Lanzarotto F, Villanacci V, et al. Complete recovery of intestinal mucosa occurs very rarely in adult coeliac patients despite adherence to gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29(12):1299-1308. doi:10.1111/j.1365-2036.2009.03992.x
  59. Silvester JA, Kurada S, Szwajcer A, Kelly CP, Leffler DA, Duerksen DR. Tests for Serum Transglutaminase and Endomysial Antibodies Do Not Detect Most Patients With Celiac Disease and Persistent Villous Atrophy on Gluten-free Diets: a Meta-analysis. *Gastroenterology.* 2017;153(3):689-701.e1. doi:10.1053/j.gastro.2017.05.015
  60. Shan L, Molberg Ø, Parrot I, et al. Structural basis for gluten intolerance in Celiac Sprue. *Science (80- ).* 2002;297(5590):2275-2279. doi:10.1126/science.1074129
  61. Morón B, Cebolla Á, Manyani H, et al. Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(2):405-414. doi:10.1093/ajcn/87.2.405
  62. Comino I, Real A, Vivas S, et al. Monitoring of gluten-free diet compliance in celiac patients by assessment of gliadin 33-mer equivalent epitopes in feces. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(3):670-677. doi:10.3945/ajcn.111.026708
  63. Costa AF, Sugai E, De La Paz Temprano M, et al. Gluten immunogenic peptide excretion detects dietary transgressions in treated celiac disease patients. *World J Gastroenterol.* 2019;25(11):1409-1420.

- doi:10.3748/wjg.v25.i11.1409
64. Stefanolo JP, Tálamo M, Dodds S, et al. Real-World Gluten Exposure in Patients With Celiac Disease on Gluten-Free Diets, Determined From Gliadin Immunogenic Peptides in Urine and Fecal Samples. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021;19(3). doi:10.1016/j.cgh.2020.03.038
  65. Fueyo-Díaz R, Gascón-Santos S, Asensio-Martínez Á, Sánchez-Calavera MA, Magallón-Botaya R. Transcultural adaptation and validation of the Celiac Dietary Adherence Test. A simple questionnaire to measure adherence to a gluten-free diet. *Rev Esp Enferm Dig*. 2016;108(3):138-144. doi:10.17235/reed.2016.4033/2015
  66. Silvester JA, Comino I, Rigaux LN, et al. Exposure sources, amounts and time course of gluten ingestion and excretion in patients with coeliac disease on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;52(9):1469-1479. doi:10.1111/apt.16075
  67. Porcelli B, Ferretti F, Biviano I, et al. Testing for fecal gluten immunogenic peptides: A useful tool to evaluate compliance with gluten-free diet by celiacs. *Ann Gastroenterol*. 2020;33(6):631-637. doi:10.20524/aog.2020.0530
  68. Vivas S, Ruiz De Morales JM, Fernandez M, et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(9):2360-2365. doi:10.1111/j.1572-0241.2008.01977.x
  69. Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca - Luis Rodrigo, Amado Salvador Peña - Google Libros. Accessed February 26, 2021. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=nECaAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA10&dq=+Rodrigo+L+y+Peña+AS,+editores.+Enfermedad+celiaca+y+sensibilidad+al+gluten+no+celiaca.+Barcelona,+España:++OmniaScience%3B2013.+P.+37-387&ots=9FsgJYEeor&sig=b-aR8ZHvRi2YGhMms8DtX51LJc8#v=onepage&q&f=false>
  70. Silvester JA, Comino I, Kelly CP, et al. Most Patients With Celiac Disease on Gluten-Free Diets Consume Measurable Amounts of Gluten. *Gastroenterology*. 2020;158(5):1497-1499.e1. doi:10.1053/j.gastro.2019.12.016
  71. Ruiz-Carnicer A, Garzon-Benavides M, Fombuena B, et al. Negative predictive value of the repeated absence of gluten immunogenic peptides in the urine of treated celiac patients in predicting mucosal healing: New proposals for follow-up in celiac disease. *Am J Clin Nutr*. 2020;112(5):1240-1251. doi:10.1093/ajcn/nqaa188



# **ANEXO**

# ANEXO

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES  
Dirección General de Calidad, Investigación, Desarrollo e Innovación  
Comité Coordinador de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía

## DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D/D<sup>a</sup>: Jose Salas Turrents como secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocío

### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta de (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: CONTROL DE LA ADHERENCIA A LA DIETA SIN GLUTEN MEDIANTE LA DETECCIÓN DE PÉPTIDOS INMUNOGENICOS DE GLUTEN (GIP) EN ORINA: CORRELACIÓN CON EL DAÑO HISTOLÓGICO EN MUCOSA DUODENAL DE PACIENTES CON ENFERMEDAD CELIACA ,( GIP(CEL))

Protocolo, Versión: 01/2016

HIP, Versión: 01/2016

CI, Versión: 01/2016

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en SEVILLA a 20/11/2016

D/D<sup>a</sup>: Jose Salas Turrents, como Secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocío



Código Seguro De Verificación:	689a2e950e9e2dd347e9804f9346312f22cc7f22	Fecha	20/11/2016
Normativa	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Jose Salas Turrents		
Url De Verificación	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/689a2e950e9e2dd347e9804f9346312f22cc7f22">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/689a2e950e9e2dd347e9804f9346312f22cc7f22</a>	Página	1/2



## CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 27/10/2016 y recogida en acta 11/2016 la propuesta del/de la Promotor/a (No hay promotor/a asociado/a), para realizar el estudio de investigación titulado:

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** CONTROL DE LA ADHERENCIA A LA DIETA SIN GLUTEN MEDIANTE LA DETECCIÓN DE PÉPTIDOS INMUNOGÉNICOS DE GLUTEN (GIP) EN ORINA: CORRELACIÓN CON EL DAÑO HISTOLÓGICO EN MUCOSA DUODENAL DE PACIENTES CON ENFERMEDAD CELIACA , ( GIP(CEL))

**Protocolo, Versión:** 01/2016  
**HIP, Versión:** 01/2016  
**CI, Versión:** 01/2016

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

**Presidente/a**

D/D<sup>a</sup>. Víctor Sánchez Margalet

**Vicepresidente/a**

D/D<sup>a</sup>. Dolores Jiménez Hernández

**Secretario/a**

D/D<sup>a</sup>. Jose Salas Turrents

**Vocales**

D/D<sup>a</sup>. Enrique Calderón Sandubete  
D/D<sup>a</sup>. Francisco Javier Bautista Paloma  
D/D<sup>a</sup>. Gabriel Ramírez Soto  
D/D<sup>a</sup>. Carlos García Pérez  
D/D<sup>a</sup>. Joaquín Quiralte Enriquez  
D/D<sup>a</sup>. M Isabel Alvarez Leiva  
D/D<sup>a</sup>. Cristina Pichardo Guerrero  
D/D<sup>a</sup>. Javier Vitorica Fernandez  
D/D<sup>a</sup>. Juan Carlos Gomez Rosado  
D/D<sup>a</sup>. CRISTOBAL MORALES PORTILLO  
D/D<sup>a</sup>. Elisa Torres Butron  
D/D<sup>a</sup>. Luis Lopez Rodriguez  
D/D<sup>a</sup>. Enrique de Álava Casado  
D/D<sup>a</sup>. EVA MARIA DELGADO CUESTA  
D/D<sup>a</sup>. Amancio Carnero Moya  
D/D<sup>a</sup>. Manuel Ortega Calvo  
D/D<sup>a</sup>. ANTONIO PÉREZ PÉREZ  
D/D<sup>a</sup>. María Pilar Guadix

Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.



Lo que firmo en SEVILLA a 20/11/2016

<b>Código Seguro De Verificación:</b>	689a2e950e9e2dd347e9804f9346312f22cc7f22	<b>Fecha</b>	20/11/2016	
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.			
<b>Firmado Por</b>	Jose Salas Turrents			
<b>Url De Verificación</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/689a2e950e9e2dd347e9804f9346312f22cc7f22">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/689a2e950e9e2dd347e9804f9346312f22cc7f22</a>	<b>Página</b>	2/2	

